

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES, CRESCIMENTO DA
PLANTA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Hyptis marruboides* Epl., LAMIACEAE**

JULIANA DE FÁTIMA SALES

2006

JULIANA DE FÁTIMA SALES

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES, CRESCIMENTO DA PLANTA E
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Hyptis*
marruboides Epl., LAMIACEAE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

José Eduardo Brasil Pereira Pinto

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006**

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

Sales, Juliana de Fátima

Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae / Juliana de Fátima Sales. – Lavras : UFLA, 2006.

80 p. : il.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Hyptis marruboides*. 2. Hortelã-do-campo. 3. Germinação. 4. Planta medicinal. 5. Luz. 6. Adubação. 7. Terpenos. 8. Óleos essenciais. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.88

JULIANA DE FÁTIMA SALES

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES, CRESCIMENTO DA PLANTA E
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Hyptis
marruboides* Epl., LAMIACEAE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 05 de maio de 2006

Prof. Dr. Antônio Rodrigues Vieira - EPAMIG

Prof. Dr. João Almir de Oliveira - UFLA

Prof. Dra. Janice Guedes de Carvalho - UFLA

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz – UFU

**Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto
UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por todas as bênçãos que me concede a cada momento.

Aos meus pais, Moacir Pereira Sales e Maria Aparecida Sales, exemplos de amor, pelo incentivo de sempre continuar os estudos e pelo apoio em todos os momentos, o meu grande reconhecimento e agradecimentos.

Ao Fabiano pelo companheirismo, paciência e ajuda em todos os momentos, sem os quais seria tudo muito difícil.

Ao Professor José Eduardo Brasil Pereira Pinto pela orientação, confiança, amizade e boa convivência durante todo o tempo.

Ao Professor Pedro Henrique Ferri (Instituto de Química da UFG) pela co-orientação, pela grande ajuda no desenvolvimento deste trabalho e por sua amizade e apoio.

Ao Professor João Almir Oliveira (UFLA), exemplo de profissionalismo, pela enorme ajuda, desde o mestrado, pela grande amizade e pela participação nas bancas.

Aos professores Janice Guedes de Carvalho (UFLA), Antônio Rodrigues Vieira (EPAMIG) e José Magno Queiroz Luz (UFU) pela participação na banca.

Aos professores do Depto. de Agricultura/UFLA pelos conhecimentos transmitidos, pelos ensinamentos e pela amizade, em especial aos professores do Setor de Sementes, Renato, Édila, Maria Laene e João Almir, e do Depto. de Biologia/UFLA, Evaristo Mauro Castro e Manuel Losada Gavilanes.

A Priscila Pereira Botrel pela grande ajuda no decorrer de todo este trabalho e pela grande amizade.

Aos servidores técnicos do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais, Evaldo Arantes de Souza, e do Horto de Plantas Medicinais, Engenheiro Agrônomo Sr. Geraldo Luiz da Silva e Sr. Luiz Gonzaga do Carmo, pela colaboração na condução dos experimentos.

Ao Ricardo Monteiro Corrêa pelo auxílio nas análises estatísticas e pela amizade.

A todos os colegas do Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais da UFLA pela amizade.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura pela oportunidade de realização do Curso.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE HORTELÃ-DO-CAMPO (<i>Hyptis marruboides</i> Epl.) EM FUNÇÃO DA LUZ, TEMPERATURA, ESTÁDIO FISIOLÓGICO NA COLHEITA E ARMAZENAMENTO	1
RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO.....	4
MATERIAL E MÉTODOS	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
CONCLUSÃO.....	14
AGRADECIMENTOS.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CRESCIMENTO, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL EM HORTELÃ-DO-CAMPO (<i>Hyptis marruboides</i> EPL.) EM FUNÇÃO DO NÍVEL DE IRRADIÂNCIA.....	18
RESUMO.....	18
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÃO.....	34
AGRADECIMENTOS	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

ACÚMULO DE FITOMASSA, TEOR FOLIAR DE NUTRIENTES E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ-DO-CAMPO (<i>Hypsis marruboides</i> EPL.) CULTIVADA SOB DIFERENTES ADUBAÇÕES ORGÂNICA E QUÍMICA	40
RESUMO	40
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS	46
RESULTADOS.....	49
DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÃO	60
AGRADECIMENTOS	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

COMPOSITION AND CHEMICAL VARIABILITY IN THE ESSENTIAL OIL OF <i>Hypsis marruboides</i> EPL.....	63
ABSTRACT	64
INTRODUCTION	65
EXPERIMENTAL.....	66
RESULTS AND DISCUSSION.....	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

RESUMO GERAL

SALES, Juliana de Fátima. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae.** 2006. 80p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.¹

Foram conduzidos 4 experimentos, entre os quais o primeiro teve o objetivo de avaliar diferentes estádios fisiológicos de coleta das sementes, temperatura e tempos de armazenamento na germinação de *H. marrubioides*. O segundo, de avaliar a influência da luz no crescimento e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides*; o terceiro, de avaliar fontes e doses de adubação no crescimento e composição química do óleo essencial; e o quarto de avaliar a variabilidade química do óleo essencial de hortelã-do-campo. No experimento de sementes, foi verificado que o fator luz não influenciou a germinação. Por outro lado, temperatura de 20 °C retardou a germinação, apesar de não ter influenciado a porcentagem de germinação. O armazenamento e os diferentes estádios de coleta das sementes influenciaram o IVG e a porcentagem de germinação. Sementes coletadas no estágio mais maduro demonstraram serem apropriadas para o armazenamento por até 18 meses. Constatou-se que em pleno sol as plantas apresentaram menor altura, se comparado aos tratamentos sombreados. A relação ramo/folha foi maior em menor nível de irradiância. O número de ramos e o acúmulo de fitomassa foram maiores no maior nível de irradiância. O teor de óleo essencial demonstrou ser insensível à irradiância. Quanto ao rendimento de óleo essencial, este foi maximizado em 100% de irradiância. A composição química do óleo essencial de *H. marrubioides* demonstrou ser insensível ao nível de irradiância, exceto para o *iso*-3-tujanol e δ -cadineno. No experimento de adubação foi verificado que para obtenção de um maior rendimento de óleo essencial, o solo utilizado no cultivo não dispensou a calagem e a adubação orgânica foi superior à química. Com relação à variabilidade química do óleo, os resultados permitiram distinguir três grupos de óleos essenciais com relação ao local de amostragem e processo pós-colheita: agrupamento I (folhas frescas e caules frescos ou secos de Lavras), com alta porcentagem de caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol (16.7%) e eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol (12.8%); agrupamento II (folhas secas e caules de Tiradentes), com óleo rico *epi*-longipinanol (16.2%); e agrupamento III (folhas secas de Lavras), contendo alto teor de (E)-caryophyllene (17.4%) e α -copaene (10.1%).

¹ Comitê Orientador: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA (Orientador), Dr. Pedro Henrique Ferri – UFG (Co-orientador).

GENERAL ABSTRACT

SALES, Juliana de Fátima. **Seeds germination, plant growth and chemical composition of essential oil of *Hyptis marruboides* Epl. Lamiaceae.** 2006. 80p. Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.¹

Four experiments had been carried out. The first was in order to evaluate different physiological stages of harvesting, temperature and times of storage in the germination of *H. marruboides* seeds. The second aimed to evaluate the influence of light in the growth and chemical composition of the essential oil of *Hyptis marruboides*. The third, was in order to evaluate sources and doses of fertilization in the growth and chemical composition of the essential oil. The last one evaluated the chemical variability of the essential oil of “hortelã-do-campo”. In the experiment of seeds, it was verified that lightness did not have influence on germination. On the other hand, the temperature of 20 °C retarded germination, although it did not affect the percentage of germination. The storage and different stages of harvesting influenced the GVI (germination velocity index) and percentage of germination. Seeds collected in a more mature stage demonstrated to be more appropriate to storage for up to 18 months. It was evidenced that in full sun the plants had presented minor height, comparative to the treatments shadings. The relation stems /leaf was bigger in lesser level of irradiance. The number of branches and the accumulation of biomass had been bigger in the highest level of irradiance. The essential oil text demonstrated to be insensitive to the irradiance. In relation to the essential oil income, this was maximized in 100% of irradiance. The chemical composition of the essential oil of *H. marruboides* demonstrated to be insensitive to the irradiance level, except for iso-3-tujanol and δ -cadineno. In the fertilization experiment it was verified that to obtain a higher yield of the essential oil, the soil used in cultivation did not need the limestone application, and the organic fertilization was superior to the chemical one. With relation to the chemical variability of the oil, the results which allowed three groups of essential oils to be distinguished with respect to sampling site and post-harvested process: cluster I (fresh leaves and fresh or dried stems from Lavras county) with high percentage of caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol (16.7%) and eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol (12.8%); cluster II (dried leaves and stems from Tiradentes county) with *epi*-longipinanol

¹ Guidance Committee: Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA (Major Professor), Dr. Pedro Henrique Ferri – UFG (Co-Major Professor)

(16.2%) rich oil, and cluster III (dried leaves from Lavras) containing a high content of (E)-caryophyllene (17.4%) and α -copaene (10.1%).

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE HORTELÃ-DO-CAMPO (*Hyptis marrubioides* Epl.) EM FUNÇÃO DA LUZ, TEMPERATURA, ESTÁDIO FISIOLÓGICO NA COLHEITA E ARMAZENAMENTO

(Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira do Armazenamento)

JULIANA F. SALES^{1;2}; JOSÉ EDUARDO. B. P. PINTO²; JOÃO ALMIR DE OLIVEIRA²; PRISCILA PEREIRA BOTREL²; FABIANO G. SILVA³; RICARDO MONTEIRO CORRÊA².

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a influência da luz, da temperatura, do estágio fisiológico da colheita e do armazenamento na germinação das sementes de *Hyptis marrubioides*. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro implantado logo após a colheita das sementes, constituído por um fatorial 2x3x3, com 2 ambientes (luz e escuro) x 3 temperaturas (20, 30 e 20/30°C) x 3 estádios de coleta das sementes (sementes com coloração verde, coloração marrom claro e coloração marrom escuro). O segundo experimento, em presença de luz e à temperatura de 30 °C, foi constituído por um esquema fatorial 4x3, sendo 4 tempos de armazenamento (0, 6, 12 e 18 meses) e 3 três estádios fisiológicos de coleta mencionados no experimento anterior.

Ambos os experimentos foram implantados no delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições de 100 sementes. Foi verificado que o fator luz não influenciou a germinação. Por outro lado, a temperatura de 20 °C retardou a

¹ Faculdade de Biologia - Universidade de Rio Verde (FESURV). Cx Postal 104, 75901-970 Rio Verde, GO. jfsales@fesurv.br ² Departamento de Agricultura/Universidade Federal de Lavras (UFLA), Bolsista do CNPq. Lavras, MG. jeduardo@ufla.br ³ Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde (CEFET – RV) – Rod. Sul Goiana, km 01. C. Postal 66, CEP 75.900-000. Rio Verde – GO.

germinação, apesar de não influenciar a sua porcentagem. O armazenamento e os diferentes estádios fisiológicos de coheita das sementes influenciaram o IVG e a porcentagem de germinação. Sementes coletadas no estágio mais maduro demonstraram serem apropriadas para o armazenamento por até 18 meses.

PALAVRAS-CHAVE: *Hyptis marruboides*, Planta medicinal, Sementes.

SEEDS GERMINATION OF HORTELÃ-DO-CAMPO (*Hyptis marruboides* Epl.) IN FUNCTION OF THE LIGHT, TEMPERATURE, PHYSIOLOGICAL STADIUM IN THE HARVEST AND STORAGE

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the influence of light, temperature, physiologic stage of harvesting and storage on germination of *Hyptis marruboides* seeds. Two experiments were carried out. The first was applied immediately after the seeds harvesting, constituted by a factorial design 2 environments (light and darkness) x 3 temperatures (20, 30 and 20/30 °C) x 3 times of harvesting of seeds (seeds with green coloration, light brown coloration and dark brown coloration). The second experiment, in presence of light and under temperature of 30 °C was constituted by a 4x3 factorial design, being 4 times of storage (0, 6, 12 and 18 months) x 3 (three physiologic stages of harvesting mentioned in the first experiment). Both experiments were applied in a randomized blocks design with four replicates of 100 seeds each. Lightness did not have influence on germination. On the other hand, the temperature of 20 °C retarded germination, although it did not have affected the percentage of germination. The storage and different physiologic stages of harvesting influenced the GVI and percentage of germination. Seeds collected in a more mature stage demonstrated be more appropriated to storage for up to 18 months.

KEY WORDS: *Hyptis marruboides*, medicinal plant, seeds.

INTRODUÇÃO

O gênero *Hyptis* (Família Lamiaceae), com bem mais de 300 espécies, exibe a maior diversidade morfológica na região do Cerrado Brasileiro (Harley, 1988). Estas espécies são bastante aromáticas e são freqüentemente usadas no tratamento de infecções gastrointestinais, câimbras e dores, bem como no tratamento de infecções de pele (Corrêa, 1931).

A utilização indiscriminada de espécies medicinais pela medicina popular, e também pela indústria farmacêutica, tem ocasionado uma redução considerável na densidade populacional de algumas destas plantas em áreas onde elas ocorrem naturalmente, sendo importante o desenvolvimento de protocolos efetivos que viabilizem a produção destas espécies em escala comercial (Nadeem et al., 2000). Uma das primeiras ações neste sentido é conhecer a produção, a qualidade e o armazenamento das sementes. A propagação do hortelã-do-campo pode ser realizada tanto por estaquia como por sementes.

A germinação da semente é uma consequência ordenada de atividades metabólicas divididas em fases, que resulta na formação de uma plântula. Essa é uma etapa crítica do biociclo vegetal, devido a esse processo estar associado a vários fatores de natureza extrínseca (fatores do ambiente físico) e intrínseca, ou seja, a processos fisio-metabólicos (Bewley & Black, 1994; Popinigis, 1985).

O momento mais adequado para a colheita das sementes é o mais próximo possível do ponto de maturidade fisiológica. As sementes, quando atingem a maturidade fisiológica, apresentam-se com o máximo

peso de matéria seca, sendo um referencial importante da independência da semente em relação à planta mãe. O atraso na colheita das sementes maduras contribui consideravelmente para a sua deterioração, uma vez que, permanecendo "armazenadas" no campo, estão sujeitas a condições altamente desfavoráveis, como intempéries, ataque de insetos e microrganismos. Sendo assim, a colheita deve ser efetuada no momento adequado, com o intuito de reduzir ao máximo as possíveis perdas qualitativas e quantitativas (Von Pinho, 1997).

Segundo Barbedo & Cícero (2000), a identificação do estágio de maturidade fisiológica das sementes e, conseqüentemente, o momento ideal para a colheita, são condições essenciais para a conservação da viabilidade durante o armazenamento. Neste sentido, a antecipação da colheita torna-se relevante para preservar uma boa qualidade fisiológica, evitando-se uma rápida deterioração das sementes no campo e, posteriormente, no armazenamento (Carvalho & Nakagawa, 2000).

A deterioração de sementes é um processo degenerativo contínuo que se inicia no estágio após a maturidade fisiológica e continua até a perda da viabilidade e a morte da semente. Dependendo das condições ambientais e de manejo, pode haver, a seguir, a redução da qualidade fisiológica das sementes pela intensificação do fenômeno da deterioração (Marcos Filho, 2005).

As condições de armazenamento definem a preservação da qualidade das sementes. Estas apresentam melhor qualidade por ocasião da maturação fisiológica. A partir deste ponto, o poder germinativo e o vigor declinam em intensidade variável, dependendo das condições a que ficam sujeitas (Pelegrini, 1982). Fatores como longevidade das sementes,

qualidade inicial, estágio de maturação, grau de umidade, condições físicas da semente, condições ambientais de armazenamento, tratamento fitossanitário e tipo de embalagem, que afetam a qualidade das sementes armazenadas, deverão ser manejados de maneira a bloquear os mecanismos de envelhecimento (Carvalho & Nakagawa, 2000; Pelegrini, 1982).

A luz é um dos mais importantes fatores ambientais responsáveis pela superação da dormência de sementes de muitas espécies. A ativação das sementes pela luz está ligada a um sistema de pigmentos denominado fitocromo. Esse pigmento se encontra em todas as plantas superiores, as quais, ao absorverem luz num determinado comprimento de onda, mudam de estrutura bioquímica e permitem, ou não, a resposta fotomorfo genética (Borges & Reno, 1993). Aparentemente, o fitocromo está sempre associado ao funcionamento das membranas biológicas, regulando, provavelmente, sua permeabilidade e controlando, dessa maneira, o fluxo de inúmeras substâncias dentro das células e entre elas (Taiz & Zeiger, 1991).

A temperatura é um fator ecológico de grande influência no processo de germinação de sementes, determinando seus limites e a taxa de sua ocorrência, agindo também na quebra e indução de dormência (Bewley & Black, 1994). Neste sentido, Arnold et al. (1990) relatam que é essencial a quantificação do efeito da temperatura alternada em populações de sementes com diferentes níveis de dormência para se conhecer a época de interrupção da mesma no campo. Algumas das interações de temperaturas com luz podem ser relevantes para o comportamento das sementes em seu ambiente natural (Mayer &

Poljakoff-Mayber, 1989). Grande número de espécies possui uma reação germinativa favorável a uma alternância de temperatura, devido à semelhança do que acontece ao natural, quando as temperaturas diurnas são mais altas que as temperaturas noturnas (Carvalho & Nakagawa, 2000; Popinigis, 1985).

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência da luz e temperatura na germinação, bem como o estágio fisiológico da colheita e armazenamento na qualidade das sementes de hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides*).

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram colhidas na Fazenda Três Barras, Município de Lavras, MG, oriundas de plantas nativas, cuja exsicata foi identificada e está depositada no herbário da Universidade Federal de Lavras “ESAL 13955”. 100 sementes de hortelã-do-campo apresentam um peso de 0,0174 g. Adotaram-se três estágios fisiológicos de coleta: sementes totalmente formadas e com coloração verde (coleta 1); 2 semanas após, com coloração marrom-claro (coleta 2); e 10 dias, após quando estas já se encontravam em início de dispersão, coloração marrom-escuro (coleta 3). Após a coleta das plantas estas foram secas à sombra, as sementes foram debulhadas manualmente e as impurezas, separadas em soprador tipo South Dakota.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes e no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. As sementes foram semeadas em caixas acrílicas do tipo “gerbox”, com

papel absorvente umedecido com 2,5 vezes o peso do papel. No primeiro ensaio, as sementes foram acondicionadas em câmara de incubação tipo BOD em diferentes temperaturas, 20, 30 e alternado (20/30 °C), em regime alternados de luz e escuro por 12 horas; para simular o escuro, os “gerbox” foram envolvidos em papel alumínio. As avaliações foram realizadas por meio de contagens diárias, computando-se o número de sementes que apresentavam início de protrusão da radícula para a determinação do Índice de velocidade de germinação (IVG), calculado segundo a fórmula de Maguirre (1962).

A porcentagem de germinação foi obtida aos 10 dias após a semeadura, quando estas já se encontravam estabilizadas, computando-se o número de plântulas normais obtidas, segundo as regras para análise de sementes.

No segundo ensaio, as sementes foram armazenadas em câmara fria com temperatura de 10 °C e 50% de UR, em saco de papel, por até 18 meses, sendo que as avaliações foram realizadas de 6 em 6 meses. Utilizou-se, para o teste de germinação, a mesma metodologia utilizada para o ensaio 1, com temperatura de 30°C e presença de luz, sendo este definido como melhor resultado no ensaio 1.

Ambos os experimentos foram constituídos por fatorial. O primeiro ensaio constou de fatorial 2x3x3, sendo luz e escuro x 3 temperaturas x 3 épocas de coletas. O segundo ensaio constou de um fatorial 4x3, sendo 4 tempos de armazenamento x 3 épocas de coleta. O delineamento experimental empregado nos dois ensaios foi em blocos ao acaso, com 100 sementes/gerbox em 4 repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio 1

Sementes de *Hyptis marrubioides* demonstraram ser insensíveis à luz, por germinarem tanto na presença como na ausência de luz. Na temperatura mais alta (30 °C), houve maior velocidade de germinação quando na presença da luz, embora não tenha diferido da temperatura de 20x30 °C, exceção feita à época 2 (Tabela 1). Resultados semelhantes também foram obtidos, como ocorrido em sementes de sálvia (*Salvia splendens* Sellow), Lamiaceae, por Vasquez-Yanes & Orosco-Segovia (1993), e malva (*Malva sylvestris* L.), Malvaceae, por Figueiredo & Popinigis (1980).

Com relação às temperaturas observa-se, pelos resultados da Tabela 1, que a 30 °C e alternada (20/30 °C) houve, em geral, maiores velocidades de germinação quando comparadas à menor temperatura (20 °C), tanto em presença como na ausência de luz. Esses resultados são explicados pelo fato de baixas temperaturas reduzirem as taxas metabólicas (Carvalho & Nakagawa, 2000 e Hendricks & Taylorson, 1976).

Pelos resultados do IVG da Tabela 1, referente aos estádios fisiológicos das sementes, observa-se, de maneira geral, que houve diferenças na qualidade na época 2 a 20°C na presença de luz, seguida das épocas 1 e 3, também na presença de luz, e das épocas 1, 2 e 3, em ausência de luz, que tiveram menores IVG em relação aos demais.

Tabela 1: Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Hyptis marrubioides* coletadas em diferentes estádios fisiológicos, sob diferentes temperaturas em presença e ausência de luz, UFLA, Lavras-MG, 2006.

T°C	Com luz			Sem luz		
	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3
20	12,87 B a	09,92 C a	12,35 B a	13,60 B a	16,27 B a	15,03 B a
30	23,86 A a	22,45 A a	24,82 A a	24,34 A a	24,04 A a	23,87 A a
20-30	21,57 Aab	17,94 B b	22,13 A a	22,66 A a	21,80 A a	22,21 A a

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada modalidade de luz não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Foi constatada elevada porcentagem de germinação, independentemente da presença ou ausência de luz, do estágio fisiológico e da temperatura, não ocorrendo diferenças entre os fatores avaliados. Exceção ocorreu em sementes coletadas no estágio 2 em presença de luz a 20 °C e em sementes coletadas no estágio 1 e colocadas para germinar em ausência de luz a 20°C, resultado inferior aos demais tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2: Germinação de sementes de *Hyptis marrubioides* coletadas em diferentes estádios fisiológicos, sob diferentes temperaturas em presença e ausência de luz, UFLA, Lavras-MG, 2006.

T°C	Com luz			Sem luz		
	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3
20	86,25 Aa	78,75 Ba	87,50 Aa	75,50 Ba	90,00 Aa	90,50 Aa
30	97,50 Aa	98,50 Aa	100,0 Aa	98,50 Aa	99,25 Aa	96,75 Aa
20-30	98,25 Aa	97,75 Aa	99,75 Aa	97,25 Aa	98,75 Aa	99,25 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada modalidade de luz não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em sálvia (*Salvia splendens* Sellow), Lamiaceae, foi constatado que temperaturas de 15, 20 e 25°C afetaram a velocidade de germinação das sementes, sendo que 15 °C retardaram o processo germinativo pelo fato de baixas temperaturas reduzirem as taxas metabólicas (Menezes et al., 2004). Da mesma forma, a germinação de sementes de erva-de-touro (*T. procumbens* L.), Asteraceae, foi maior nas temperaturas de 25, 30 e 35 °C, atingindo valores superiores a 90%, sendo mais rápida a 30°C e mais bem distribuída no tempo a 35°C. Nas temperaturas de 15, 20 e 40 °C a germinação foi inferior a 6%, com perda de até 80% na viabilidade das sementes a 40 °C (Guimarães et al., 2000).

Ensaio 2

Pelos resultados da Figura 1, referente ao IVG das sementes de *Hyptis marrubioides* coletadas nos diferentes estádios fisiológicos e armazenadas por diferentes períodos, observa-se que houve diferenças na qualidade ao longo do armazenamento. Sementes coletadas com coloração verde (coleta 1), antes do armazenamento (época zero), não diferiram quanto ao IVG das demais, no entanto houve redução acentuada já nos primeiros meses de armazenamento, demonstrando que sementes coletadas neste estágio provavelmente ainda não tinham atingido totalmente a maturidade. Já as sementes coletadas no estágio marrom-claro (coleta 2) apresentaram pequeno incremento no IVG nos primeiros meses de armazenamento, e a partir dos 7,7 meses, constatou-se queda de IVG.

Guimarães et al. (2004) verificaram que quando sujeitas às variações de temperatura, ambiente e umidade relativa do ar no

armazenamento, as sementes de erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.), Asteraceae, sofrem grande redução de viabilidade no período de um ano.

Por outro lado, sementes coletadas no estágio marrom escuro (coleta 3) apresentaram incremento do IVG ao longo do armazenamento, provavelmente devido à superação da dormência, demonstrando que este tipo de semente pode ser armazenada sem acarretar redução no tempo de germinação.

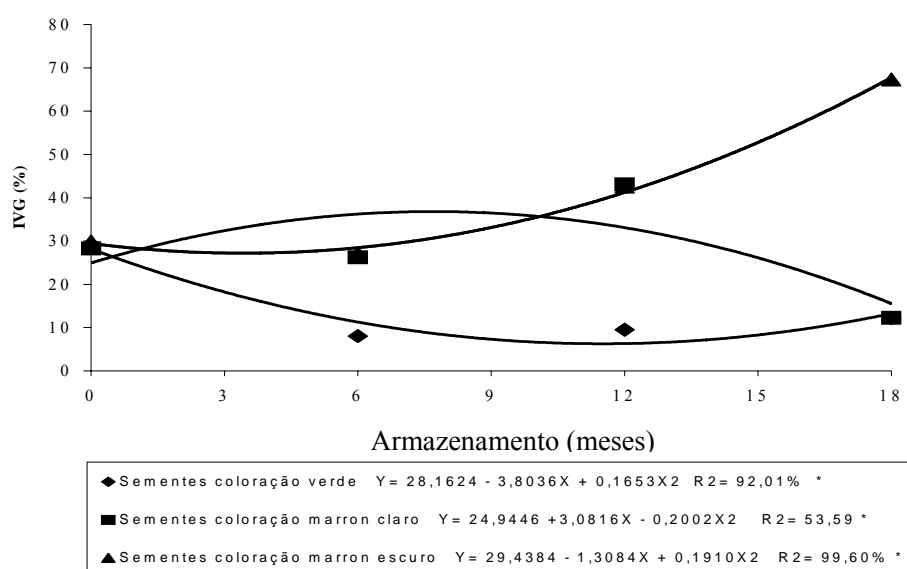


Figura 1: Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Hyptis*, em função do estágio de colheita e período armazenamento (0, 6, 12 e 18 meses). UFLA, Lavras-MG, 2006.

Oliveira et al. (2003), objetivando avaliar a influência do período de armazenamento na precocidade de germinação de sementes de

mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), Apocynaceae, verificaram que os melhores resultados, tanto para porcentagem de germinação como para IVG, ocorreram no tempo de armazenamento de 0 dia (82% e 0,293).

Quanto à porcentagem de germinação (Figura 2), verifica-se que os resultados foram semelhantes aos resultados do IVG. As sementes coletadas com coloração verde (coleta 1) apresentaram redução acentuada já nos primeiros meses, enquanto sementes coletadas no segundo estágio mantiveram a germinação até próximo de seis meses, com redução a partir deste período. Já as sementes que foram coletadas mais maduras (coleta 3) apresentaram os melhores resultados tanto no início como ao longo do armazenamento, permanecendo ainda com aproximadamente 70% de germinação após 18 meses.

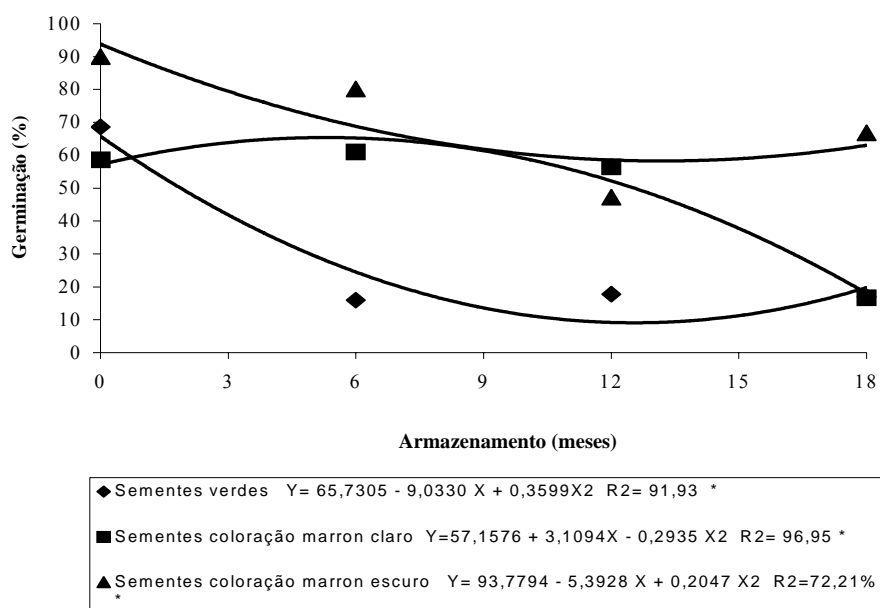


Figura 2: Germinação de sementes de *Hyptis*, em função do estágio de colheita e período armazenamento (0, 6, 12 e 18 meses). UFLA, Lavras-MG, 2006.

*Significativo ao nível de 5% pelo teste de F. Dados transformados para Arcoseno \sqrt{X} .

Cabral et al. (2003) não encontraram diferença significativa quanto ao tempo de armazenamento (60, 90 e 120 dias) em relação à porcentagem de germinação das sementes de caraibeira (*Tabebuia aurea* Manso D.C.), Bignoniaceae, as quais mantiveram a viabilidade por até 120 dias, com altos percentuais de germinação, variando de 88 a 97%.

CONCLUSÃO

-A luz não influencia na porcentagem e na velocidade de germinação das sementes de *Hyptis marruboides* recém coletadas;

-As temperaturas de 30°C e alternada de 20-30°C são favoráveis para germinação de sementes de *Hyptis marruboides*;

-Sementes de *Hyptis marruboides* coletadas na coloração marrom escuro mantêm a qualidade por um maior período de tempo de armazenamento.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq pelo apoio financeiro, pelas bolsas de Iniciação Científica e de produtividade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNOLD, R. L. B.; GHERSA, C. M.; SCHANCHEZ, R. A.; INSAUSTI, P. Temperature effects on dormancy release and germination rate in *Sorghum haelpense* (L.) Pers. Seeds: a quantitative analysis. **Weed Research**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 81-89, Apr. 1990.

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. . Effects of initial quality, low temperature and ABA on the storage of seeds of *Inga uruguensis*, a tropical species with recalcitrant seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 793-808, 2000.

BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A S. **Seed quality**: basic mechanisms and agriculture implications. New York: Food Products Press, 1995. p. 144.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. New York: London Plenum Press, 1994. 445 p.

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p. 83-135.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: DNPV-DISEM, 1992. 365 p.

CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (manso) Benth & Hook. f. ex. S. Moore. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 27, n. 4, out./dez. 2003.

CARVALHO, N. M.; NACAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1931.

FIGUEIREDO, F. J. C.; POPINIGIS, F. Temperatura de germinação para sementes de malva. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 9-22, 1980.

GUIMARÃES, S. C.; SOUZA, I. F.; VON PINHO, E. V. R. Efeito de temperaturas sobre a germinação de sementes de erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.). **Planta Daninha**, Viçosa-MG. v. 18, n. 3. p. 457-464, set./dez. 2000.

GUIMARÃES, S. C.; SOUZA, I. F.; VON PINHO, E. V. R. Viabilidade de sementes de erva-de-touro, sob condições de armazenamento. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 2, p. 231-238, maio/ago. 2004.

HARLEY, R. M. Evolution and distribution of Eriope (Labiatae) and its relatives in Brasil. In: WORKSHOP ON NEOTROPICAL DISTRIBUTION PATTERNS, 1988, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988. p. 71-80.

HENDRICKS, S. B.; TAYLORSON, R. B. Variation in the germination and amino acid leakage of seeds with temperature relate to membrane phase change. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 58, n. 1, p. 7-11, Jan. 1976.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pegamon-Press, 1989. 210 p.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 12, 495 p.

MENEZES, N. L.; FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T.; NUNES, E. P. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 32-37, 2004.

NADEEM, M.; PALNI, L. M. S.; PUROHIT, A. N.; PANDEI, H.; NANDI, S. K. Propagation and conservatiion of *Podophyllum hexandrum* Royle: na important medicinal herb. **Biological Conservation**, Oxford, v. 92, n. 1, p. 121-129, Jan. 2000.

OLIVEIRA, I. V. M.; ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G. Influência do armazenamento na precocidade de germinação de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL, 49., 2003, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza, 2003. p. 107.

PELEGRINI, M. F. Armazenamento de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 91, p. 56-60, jul. 1982.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: Cummings, 1991. 565 p.

VAZQUEZ-YANES, C.; OROSCO-SEGOVIA, A. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 69-87, 1993.

VON PINHO, E. V. de R. **Tecnologia e produção de sementes**: curso de especialização pós-graduação “Latu Sensu”. Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. 75 p.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 2, p. 223-244, June 1998.

Crescimento, produção e composição química do óleo essencial em hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* Epl.) em função do nível de irradiância

(Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais)

Juliana F. Sales^{1,2}; José Eduardo B. P. Pinto²; Pedro Henrique Ferri³; Fabiano G. Silva⁴; Carolina Brom Aki de Oliveira³; Priscila P. Botrel².

¹Faculdade de Biologia - Universidade de Rio Verde (FESURV). Cx Postal 104, 75901-970 Rio Verde, GO. jfsales@fesurv.br. ²Departamento de Agricultura – UFLA, Bolsista do CNPq; ³Instituto de Química, Laboratório de Bioatividade Molecular - UFG. Cx. Postal 131, 740001-970 Goiânia, GO. ⁴Laboratório de Cultura de Tecidos - CEFET. 75900-000 Rio Verde, GO.

RESUMO: Com o objetivo de avaliar o nível de irradiância sobre o crescimento, o teor e a composição do óleo essencial de hortelã-do-campo, foi implantado o presente trabalho, avaliando-se 3 níveis de irradiância: 20, 60 e 100% de luz natural. O experimento foi implantado no delineamento inteiramente casualizado, com vinte e cinco plantas por tratamento. Após 132 dias de cultivo foram analisados a área foliar, o comprimento da parte aérea, o número de ramos na altura do colo e o acúmulo de fitomassa de folhas e ramos, a relação ramos/folhas, além do teor e da

composição do óleo essencial. Constatou-se que em pleno sol as plantas apresentaram menor altura, se comparado aos tratamentos sombreados. A relação ramo/folha foi maior em menor nível de irradiância. O número de ramos e o acúmulo de fitomassa foram maiores no maior nível de irradiância. O teor de óleo essencial demonstrou ser insensível à irradiância. Quanto ao rendimento de óleo essencial, este foi maximizado em 100% de irradiância. A composição química do óleo essencial de *H. marruboides* demonstrou ser insensível ao nível de irradiância, exceto para o *iso*-3-tujanol e δ -cadineno.

Palavras-chave: *Hyptis marruboides*, planta medicinal, óleo essencial.

Growth, production and chemical composition of the essential oil in hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* Epl.) in function of the irradiance level

ABSTRACT: This work aims to evaluate the level of irradiance under the growth, content and composition of the essential oil of “hortelã do campo”. Three levels of irradiance were evaluated: 20, 60 and 100%. A completely randomized design was used with twenty-five plants per treatment. Leaf area, length of aerial part, number of branches in the high of the stem base and biomass accumulation of leaves and branches, leaves/branches ratio, besides the content and composition of the essential oil, were evaluated 132 days after cultivation. Plants in full sun showed to be smaller compared to shaded treatments. The leaf/branch ratio was higher in the lowest level of irradiance. The content of essential oil showed to be insensible to irradiance. The income of the essential oil was maximized in 100% of irradiance. The chemical composition of the essential oil of *H. marrubioides* was

insensible to the level of irradiance, except for *iso*-3-tujanol and δ -cadineno.

KEY WORDS: *Hyptis marrubioides*, medicinal plant, essential oil.

INTRODUÇÃO

O gênero *Hyptis* Jacq (Lamiaceae) inclui cerca de 300 espécies, de ampla ocorrência na América tropical (Willis, 1973; Harley, 1988). Este gênero apresenta uma grande importância como fonte de constituintes bioativos, possuindo importantes efeitos biológicos, como atividades antimicrobianas, citotóxicas e inseticidas (Kuhnt, et al., 1995).

A luz influencia diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas, causando alterações morfofisiológicas em plantas cultivadas sob diferentes níveis de luz, e tem demonstrado influenciar indiretamente o teor e a composição dos metabólitos especiais. A radiação, dentre outros fatores, desempenha um papel relevante no controle dos processos associados ao acúmulo de fitomassa e é um dos fatores responsáveis pela produção vegetal (Vilela e Ravetta, 2000; Valio, 2001).

Vários trabalhos têm sido realizados com diferentes espécies medicinais com a finalidade de determinar a condição de luz satisfatória para maximizar o rendimento de óleo essencial. O

tomilho (*Thymus vulgaris* L.), Lamiaceae, por exemplo, cultivado em diferentes níveis de irradiância, ocorreu em maior nível, menor altura, brotos eretos com mais perfilhos, ramos e folhas mais grossos, maior área foliar, além de fitomassa seca da parte aérea e raízes. Por outro lado, plantas cultivadas em menor intensidade de luz tiveram um tipo de crescimento prostrado, com folhas menos espessas, mais largas e coloração verde levemente pálida (Letchamo et al., 1994; Letchamo e Gosselin, 1995; Letchamo e Gosselin, 1996).

Souza (1998) verificou que a produção de fitomassa em tanchagem (*Plantago major* L.), Plantaginaceae, apresentou efeito significativo da irradiação. O acúmulo de fitomassa seca e fresca de folhas, o sistema radicular, a área foliar e a altura foram influenciados pelo nível de irradiância, sendo mais expressivos em maior nível.

Ventrella e Ming (2000) verificaram, em erva-cidreira (*Lippia alba* Brown et H.B.K.), Verbenaceae, maiores produções de fitomassa e teor de óleo essencial em maiores irradiâncias.

O presente trabalho foi implantado com o objetivo de avaliar os níveis de irradiância sobre o crescimento, a produção e a composição química do óleo essencial de *H. marruboides*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e condições de cultivo

O material vegetal utilizado foram plantas propagadas por estaquia para evitar a variabilidade genética dentro da espécie, coletadas no município de Tiradentes, MG. A exsicata está depositada no herbário da Universidade Federal de Lavras, sob o código ESAL 13955.

O plantio das estacas foi realizado em setembro de 2003, em potes plásticos contendo substrato plantmax[®]. As estacas já enraizadas, com aproximadamente 20 cm, foram transplantadas no Horto de Plantas Medicinais/DAG/UFLA, em espaçamento de 1x1 m. As plantas foram cultivadas por quatro meses, sob três tipos de ambiente, caracterizados pela disponibilidade de radiação solar incidente, que foi controlada por meio de tela refletora comercialmente denominada Aluminet[®] com especificação comercial 80 e 40% de interceptação da radiação solar. Em 0% de

interceptação da radiação solar as plantas foram cultivadas a pleno sol.

As condições climáticas foram obtidas na Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA, locada a cerca de 200 metros do local de experimentação, e estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Valores mensais de temperatura máxima e mínima e média de temperaturas diárias, precipitação e umidade relativa do ar durante o período de realização do experimento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Mês	T° Máxima (°C)	T° Média (°C)	T° Mínima (°C)	Precipitação (mm)	Umidade relativa (%)
Setembro/2003	28,31	20,48	14,87	13,7	64,20
Outubro/2003	28,63	21,61	16,13	64,9	62,35
Novembro/2003	28,19	21,75	12,25	154,5	73,30
Dezembro/2003	28,84	23,05	18,57	238,8	77,32
Janeiro/2004	28,24	22,01	17,67	190,5	75,52

Manejo pós-colheita

Após a colheita, as folhas foram desidratadas em ausência de luz com auxílio de um desumidificador Arsec 160[®], durante sete dias, a temperatura ambiente média máxima de 28,4 °C, média mínima de 15,9 °C e temperatura média de 22 °C. No momento da

extração do óleo essencial as folhas foram submetidas à moagem em moinho Marconi® Tipo Ili (MA 680) com peneira de 10 mesh.

Extração, teor e composição química do óleo essencial

Amostras compostas de 50 g de fitomassa seca foram submetidas a hidrodestilação em 500 mL de água destilada em aparelho de Clevenger modificado. O hidrolato coletado foi extraído com diclorometano, na proporção de $\frac{1}{4}$ do total obtido, dividido em três vezes. Como dessecante, foi adicionado sulfato de magnésio anidro durante 24 horas. Após esse período a solução foi filtrada e levada ao evaporador rotatório. Após evaporação do solvente à temperatura de 35 °C, o material foi transferido para um frasco de vidro envolvido com papel alumínio, que foi deixado em capela em temperatura ambiente para evaporação do diclorometano até peso constante, determinando-se o teor de óleo essencial.

A partir do acúmulo de fitomassa seca de folhas e do teor de óleo essencial, calculou-se o rendimento médio de óleo essencial por planta.

As análises químicas foram realizadas em um aparelho de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro quadrupolar de massas (CG-EM), Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão), nas seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida, modelo CBP-5 (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura do filme em 5% de fenilmetilpolisiloxano) (Shimadzu, Japão), com fluxo de 1 ml.min⁻¹ de Hélio como gás de arraste; aquecimento com temperatura programada (60°C com um gradiente de 3°C.min⁻¹ até 240°C e, em seguida, com um gradiente de 10°C.min⁻¹ até 270°C, mantendo-se uma isoterma de 7 min, com um tempo total de corrida de 70 min). A energia de ionização do detector foi de 70 e V, sendo o volume de injeção da amostra de 0,5 µl diluídas em diclorometano (grau ultra-resíduo, Baker, EUA) e uma razão de injeção de 1:20. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220 °C e 240 °C, respectivamente. A análise foi conduzida no modo varredura, a uma velocidade de 1,0 varredura.s⁻¹, com um intervalo de massas de 40-400 *m/z*. A análise quantitativa foi obtida pela integração do cromatograma

total de íons (TIC). A identificação dos constituintes foi realizada por comparação, automática e manual, dos espectros de massas com os das bibliotecas NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e Índices de Retenção (IR) com os da literatura (Adams, 2001) e co-injeção com padrões autênticos. Os Índices de Retenção foram calculados através da co-injeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C₈–C₃₂ (Sigma, EUA), e com aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963).

Análises de crescimento

Foram avaliadas as características de área foliar; comprimento da parte aérea (m), medido com régua desde o colo até o ápice do ramo; número de ramos na altura do colo; acúmulo de fitomassa seca de folhas (g) e ramos (g) e relação ramos/folha. Para a área foliar, foram retiradas folhas do 5^o par (do ápice para a base) de cinco plantas por tratamento. Foi utilizado o método da fotocópia.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 25 repetições por tratamento (análises de crescimento) e 4 repetições (análises do óleo essencial).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados de área foliar, altura, número de ramos, fitomassa seca de folhas, fitomassa seca de ramos, relação ramo/folha, teor e rendimento de óleo essencial de *H. marruboides*.

Verifica-se que em 20% de irradiância a área foliar mostrou-se 59% a mais do que em pleno sol. Este aumento é devido à necessidade da planta realizar maior captação dos raios solares em ambientes menos irradiados.

Plantas de *H. marruboides* apresentaram menor altura quando cultivadas em maior nível de irradiância (100%), devido ao maior investimento fotossintético da planta na produção de ramos. Os níveis de 20 e 60% de irradiância não diferiram entre si. Silva et al. (2006) verificaram, em carqueja [*Baccharis trimera* (Less)

DC], Asteraceae, cultivada nos níveis de irradiância 100, 60, 50 e 20%, reduções significativas na altura das plantas à medida que aumentaram os níveis de irradiância.

Maiores números de ramos foram verificados em pleno sol, comparado aos tratamentos sombreados. Letchamo e Gosselin (1996), trabalhando com tomilho (*T. vulgaris* L.), Lamiaceae, encontraram maior número de brotos em plantas cultivadas sob maior nível de irradiância.

O diâmetro do caule foi menor no ambiente com menor irradiância (20%). Segundo Naves (1993), o diâmetro do caule pode ser um bom indicador da capacidade assimilatória líquida da planta. Resultados semelhantes foram encontrados por Auken e Bush (1990) para *Baccharis neglecta* Britt, Asteraceae. Castro, Alvarenga e Gomide (1996), trabalhando com calabura (*Muntingia calabura* L.), Muntingiaceae, observaram que quanto maior o nível de irradiância, maior o diâmetro das plantas.

Maiores acúmulos de fitomassa seca de folhas e ramos ocorreram em 100% de irradiância, seguidos por 60 e 20%, respectivamente. A relação ramo/folha foi maior em menor

disponibilidade de luz (20%), comparada a 60 e 100%. Isto reflete um maior investimento em área foliar para suprir a menor disponibilidade de luz em níveis mais sombreados. Ao contrário, em maior disponibilidade de luz, com menor área foliar, as plantas acumularam maior fitomassa em ramos.

Auken e Bush (1990), estudando *B. neglecta*, verificaram que conforme se elevou o nível de irradiância, houve aumento significativo do número de folhas e da produção de fitomassa aérea, radicular e total. Já Scalon e Alvarenga (1993), pesquisando pau-pereira (*Platycyamus regnelli* Benth), Fabaceae, verificaram que o cultivo de plantas submetidas a diferentes níveis de irradiância não afetou o diâmetro do caule, a fitomassa seca, a área foliar e a altura, embora tenha havido uma ligeira tendência de maior crescimento naquelas que se encontravam sombreadas.

Em tanchagem (*P. major*), o acúmulo de fitomassa de folhas e a altura das plantas foram maiores em níveis mais elevados de irradiância (Souza, 1998).

No presente trabalho, o teor de óleo essencial não diferiu entre os níveis de irradiância. Em erva-cidreira (*L. alba*) foram

constatados maiores acúmulos de fitomassa e teor de óleo essencial em níveis mais elevados de irradiância, 30 a 100% (Ventrela e Ming, 2000).

Plantas de sambacaita [*Hyptis pectinata* (L.) Poit.], manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e sálvia (*Salvia officinalis* L.), pertencentes à família Lamiaceae, cultivadas em diferentes níveis de irradiância, apresentaram acúmulos mais elevados de fitomassa seca de folhas e açúcares solúveis quando cultivadas em maiores níveis (Castrillo et al., 2005).

Com relação ao rendimento do óleo essencial, a luz exerceu influência, sendo maior em nível de irradiância mais elevado (100%).

Na Tabela 3 são apresentados os resultados da composição química do óleo essencial de *H. marruboides*.

Constatou-se que o componente majoritário do óleo essencial de *H. marruboides*, independentemente da irradiância, foi o monoterpene oxigenado *cis*-tujona (31,87%), seguido pelos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (E)-cariofileno (14,93%), α -

copaeno (11,03%) e σ -muuroleno (9,60%). Entre os sesquiterpenos oxigenados não houve diferenças.

Foi verificado que a luz não exerceu influência sobre a composição química do óleo essencial. Exceção ocorreu para os compostos *iso*-3-tujanol, com teores inferiores nas plantas cultivadas a 100% de irradiância, e para o composto δ -cadineno, que apresentou menores teores em plantas cultivadas a 60% de irradiância.

Peer, Briggs e Langenheim (1999), estudando erva boa [*Satureja douglasii* (Benth.) Briq.], Lamiaceae, verificaram a presença de muitos monoterpenos em folhas e que estes apresentaram diferenças em sua composição em decorrência dos níveis de irradiação, como, por exemplo, a isomentona.

Em tomilho (*T. vulgaris*) foi verificado que a composição do óleo essencial foi afetada significativamente por níveis de irradiação. Houve mudanças no conteúdo de fenóis e, em particular, no conteúdo de hidrocarbonetos monoterpênicos do óleo essencial, devido às diferenças em intensidades luminosas.

O maior nível de timol foi obtido em maior intensidade luminosa (Letchamo et al., 1994; Letchamo e Gosselin, 1995).

CONCLUSÃO

- A luz influencia o crescimento das plantas de *H. marruboides*. Maior intensidade de luz proporciona maior número de ramos, maior acúmulo de fitomassa seca de folhas e ramos e menor crescimento das plantas.
- O teor de óleo essencial não foi afetado pelos níveis de irradiância e o rendimento do óleo essencial foi maior em nível mais elevado.
- A composição química do óleo essencial é insensível à luz, exceto para os componentes *iso*-3-tujanol e δ -cadineno.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq pelo apoio financeiro, pelas bolsas de Iniciação Científica e de produtividade.

bTTabela 2: Crescimento de plantas de hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides*) cultivados em diferentes níveis de irradiância. U FLA, Lavras, MG. 2006

Irradiância (%)	Medidas de crescimento								
	Área foliar (dm ²)	Altura (m)	Nº de ramos	Diâmetro do colo (cm)	F. S. folhas (g)	F. S. ramos (g)	Relação ramo/folha	Teor de óleo essencial (%)	Rendimento do óleo essencial (g/planta)
20	7,3 A ⁴	1,75 A	2,0 B	1,7 B	60 C	70 C	1,3 A	0,33 A	0,2 B
60	6,2 A	1,76 A	2,9 B	2,4 A	240 B	190 B	0,9 B	0,36 A	0,8 AB
100	4,6 A	1,45 B	4,2 A	2,4 A	350 A	310 A	0,9 B	0,40 A	1,4 A

⁴Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

F. S. = Fitomassa seca

Tabela 3: Composição química (%) do óleo essencial de plantas de hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides*) cultivadas em diferentes níveis de irradiância. UFLA, Lavras, MG. 2006.

Irradiância (%)	Monoterpenos oxigenados								Total
	<i>cis</i> -tujona	<i>trans</i> -tujona	<i>cis</i> -pinocanfona	<i>neo</i> -3-tujanol	terpinen-4-ol	α -terpineol	<i>iso</i> -3-tujanol	1,8-cineol	
20	32,03 A	5,28 A	4,46 A	1,67 A	0,78 A	0,61 A	0,63 A	0,24 A	45,7 A
60	32,11 A	5,48 A	4,63 A	1,72 A	0,85 A	0,77 A	0,60 A	0,32 A	46,5 A
100	31,19 A	5,03 A	3,90 A	1,27 A	0,51 A	0,51 A	0,21 B	0,43 A	42,9 A
	Hidrocarbonetos sesquiterpenos								Total
	(E)-cariofileno	α -copaenol	σ -muuroleno	δ -cadineno	α -humuleno	β -bourboneno	σ -selineno	germacreno D	
20	14,22 A	12,02 A	9,34 A	1,95 A	1,22 A	0,78 A	0,49 A	0,19 A	40,2 A
60	14,61 A	10,02 A	9,31 A	1,67 B	1,21 A	0,89 A	0,29 A	0,27 A	38,3 A
100	15,97 A	11,05 A	10,17 A	1,96 A	1,31 A	1,17 A	0,01 A	0,01 A	41,6 A
	Sesquiterpenos oxigenados						Total		
	<i>epi</i> -longipinanol	eudesma-4(15),7-dien-1- β -ol	óxido de cariofileno	epóxi- <i>a/</i> aloaromadendreno	desconhecido				
20	6,49 A	2,82 A	1,94 A	1,17 A	0,73 A	12,4 A			
60	6,91 A	3,08 A	2,21 A	1,46 A	0,80 A	13,7 A			
100	6,12 A	2,88 A	2,24 A	1,62 A	0,97 A	12,9 A			

^zMédias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Allured, Illinois, 2001. 456 p.

AUKEN, O. W. V.; BUSH, J. K. Influence of light levels, soil nutrients, and competition on seedling growth of *Baccharis neglecta* (Asteraceae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v. 117, n. 4, p. 438-444, Oct./Dec. 1990.

CASTRILLO, M.; VIZCAINO, D.; MORENO, E.; LATORRACA, Z. Specific leaf mass, fresh:dry weight ratio, sugar and protein contents in species of Lamiaceae from different light environments. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 53, n. 1/2, p. 23-28, mar./jun. 2005.

CASTRO, E. M.; ALVARENGA, A. A.; GOMIDE, M. B. Crescimento e distribuição de matéria seca de mudas de calabura (*Muntingia calabura* L.) submetidas a três níveis de irradiância. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 357-365, jul./set. 1996.

HARLEY, R. M. Evolution and distribution of *Eriope* (Labiatae) and its relatives in Brasil. In: WORKSHOP ON NEOTROPICAL DISTRIBUTION PATTERNS, 1988, RIO DE JANEIRO. **Proceedings..** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988. p. 71-80.

KUHNT, M.; PROBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. **Planta medica**, Stuttgart, v. 61, n. 3, p. 227-232, June 1995.

LETCHAMO, W.; GOSSELIN, A. Effects of supplemental lighting and soil water levels on growth, essential oil content and composition of two thyme (*Thymus vulgaris* L) clonal selections. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 75, n. 1, p. 231-238, Jan. 1995.

LETCHAMO, W.; GOSSELIN, A. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced

by light intensity and water supply. **Journal of Horticultural Science**, Kent, v. 71, n. 1, p. 123-134, Jan. 1996.

LETCHAMO, W.; MARQUARD, R.; HOLZL, J.; GOSSELIN, A. Effects of supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. **Angewandte Botanik**, Berlin, v. 68, n. 3/4, p. 83-88, Oct. 1994.

NAVES, V. L. **Crescimento, distribuição de matéria seca, concentração de clorofilas e comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas a diferentes níveis de radiação fotossinteticamente ativa**. 1993. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEER, W. A.; BRIGGS, W. R.; LANGENHEIM, J. H. Shade-avoidance responses in two common coastal redwood forest species, *Sequoia sempervirens* (Taxodiaceae) and *Satureja douglisii* (Lamiaceae), occurring in various light quality environments. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 86, n. 5, p. 640-645, May 1999.

SCALON, S. P. Q.; ALVARENGA, A. A. Efeito do sombreamento sobre a formação de mudas de pau-pereira (*Platygyamus regnelli* Benth). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 265-270, set./dez. 1993.

SILVA, F. G.; PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, M. G.; NASCIMENTO, E. A.; NELSON, D. L.; SALES, J. F.; MOL, D. J. S. Influence of radiation level on plant growth, yield and quality of essential oil in [*Baccharis trimera* (Less.) D. C.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 52-57, jan./fev. 2006.

SOUZA, M. M. **Crescimento e metabolismo secundário em duas condições de luminosidade e cultura in vitro de *Plantago major* L.** 1998. 106 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

VALIO, I. F. M. Effects of Shading and removal of plant parts on Growth of *Trema micrantha* Seedlings. **Tree Physiology**, Victoria, v. 21, n. 1, p. 65-70, Jan. 2001.

VAN DEN DOOL, D. H.; KRATZ, P. D. J. A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-

liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

VENTELA, M. C.; MING, L. C. Produção de matéria seca e óleo essencial em folhas de erva-cidreira sob diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 972-974, 2000. Suplemento.

VILELA, A. E.; RAVETTA, D. A. The effect of radiation on seedling growth and physiology in four Species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). **Journal of Arid Environments**, London, v. 44, n. 4, p. 415-423, Apr. 2000.

WILLIS, J. C. **Dictionary of flowering plants and ferns**. London: Columbia University Press, 1973.

ACÚMULO DE FITOMASSA, TEOR FOLIAR DE NUTRIENTES E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ-DO-CAMPO (*Hyptis marruboides* EPL.) CULTIVADA SOB DIFERENTES ADUBAÇÕES ORGÂNICA E QUÍMICA

(Preparado de acordo com as normas do Periódico Bioscience Journal)

Juliana Fátima SALES^{1,2}, José Eduardo B. P. PINTO¹, Priscila Pereira BOTREL¹, Fabiano Guimarães SILVA³, Ricardo Monteiro CORRÊA¹, Janice Guedes de CARVALHO⁴.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de doses e fontes de adubação em plantas de *Hyptis marruboides* cultivadas em casa-de-vegetação sobre o crescimento da planta, o teor foliar de nutrientes e o rendimento do óleo essencial. Os tratamentos foram 5 doses de esterco de curral (0, 3, 6, 9 e 12 kg.m⁻²) e 1 dose de adubo químico (0,333 g.dm⁻³ uréia; 1,0 g.dm⁻³ cloreto de K; 3,33 g.dm⁻³ super fosfato

¹ UFLA/DAG - Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais. Cx Postal 37, CEP 37.200-000, Lavras – MG. Bolsista do CNPq.

² Universidade de Rio Verde (FESURV) - Faculdade de Ciências Biológicas. Fazenda Fontes do Saber, Cx Postal 104, CEP 75.901-970. Rio Verde – GO. jfsales@fesurv.br

³ CEFET – Rod. Sul Goiana, km 01. C. Postal 66. CEP: 75.900-000. Rio Verde – GO.

⁴ UFLA/Departamento de Solos. Cx Postal 37, CEP 37.200-000, Lavras – MG. Bolsista do CNPq.

simples; 5,0 mg.dm⁻³ sulfato de Zinco; 1,0 mg.dm⁻³ ácido bórico) e o controle foi constituído apenas pelo solo coletado em local de população nativa e expressiva de *H. marrubioides*. Estes tratamentos foram combinados com ausência e presença de 1,8 t.ha⁻¹ de calagem (calcário dolomítico). Foi verificado que para obtenção de um maior rendimento de óleo essencial, o solo utilizado no cultivo não dispensou a calagem e a adubação orgânica foi superior à química.

PALAVRAS-CHAVE: *Hyptis marrubioides*, Lamiaceae, Planta medicinal.

**BIOMASS ACCUMULATION, LEAF NUTRIENTS CONTENT
AND ESSENTIAL OIL YIELD OF “HORTELÃ DO CAMPO”
(*Hyptis marrubioides* EPL.) CULTIVATED UNDER DIFFERENT
MANURE AND CHEMICAL FERTILIZER**

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate doses and sources of fertilizers in *Hyptis marrubioides* cultivated under greenhouse conditions, in growth, chemical leaf composition and essential oil yield. The treatments were: 5 doses of cattle manure (0, 3, 6, 9 and 12 kg.m⁻²) and 1 dose of chemical fertilizer (0,333 g.dm⁻³ urea; 1,0 g.dm⁻³ K chloride; 3,33 g.dm⁻³ simple super phosphate; 5,0 mg.dm⁻³ Zinc sulphate; 1,0 mg.dm⁻³ boric acid) and the control was constituted only by the soil collected in a site of native and expressive population of *H. marrubioides*. These treatments were combined with and without 1,8 t.ha⁻¹ of limestone (dolomitic limestone). Was verified that to obtain a higher yield of the essential oil, the soil used in cultivation did not need the limestone application, and the organic fertilization was superior to the chemical one.

KEYWORDS: *Hyptis marrubioides*, Lamiaceae, medicinal plant.

INTRODUÇÃO

As Lamiaceae compreendem uma família pertencente à Ordem Tubiflorae (Lamiales), abrangendo cerca de 200 gêneros e, aproximadamente, 3.200 espécies, distribuídas em todo o mundo. *Menta* é o nome comum de aproximadamente 25 espécies perenes do gênero *Mentha*, que se desenvolve melhor em regiões de clima temperado. O nome é bem mais usado para se referir a algum membro das Lamiaceae, freqüentemente chamado de “família das mentas”, pelo fato de as plantas dessa família serem caracterizadas por suas folhagens aromáticas. São cultivadas como ervas, cujas folhas podem ser secas e usadas como flavorizantes, e seu óleo essencial é usado como aromatizante pelas indústrias farmacêuticas em fragrâncias, na medicina e como condimento alimentar (Joly, 1983).

O gênero *Hyptis* apresenta uma grande diversidade morfológica, principalmente na região do Cerrado Brasileiro, com cerca de 300 a 400 espécies (Harley, 1988). Suas plantas apresentam um aroma característico e são usadas no tratamento de infecções gastrointestinais, câimbras e dores e no tratamento de infecções de pele (Corrêa, 1931). Atualmente foram também verificados efeitos

biológicos importantes no gênero *Hyptis*, como atividades antimicrobianas e inseticidas (Kunbnt et al., 1995).

O conteúdo e a composição do óleo essencial das plantas aromáticas depende de diferentes fatores, tais como condições de cultivo, clima, origem geográfica, tempo de colheita, uso de fertilizantes e nutrição mineral das plantas, que pode afetar a produção e a qualidade do óleo. A adição de fertilizantes é dependente do tipo de solo e da sua fertilidade.

O alto rendimento de óleo em tomilho (*Thymus vulgaris* L.), Lamiaceae, foi alcançado com a fertilização, no entanto o teor do óleo essencial não foi influenciado por estes tratamentos (Shalaby & Razin, 1992).

Barauskiene et al. (2003) pesquisando diferentes fertilizantes em tomilho (*T. vulgaris* L.), Lamiaceae, verificaram aumento na colheita, mas não foram encontradas diferenças no rendimento de óleo essencial.

Em menta (*Mentha piperita* L.), Lamiaceae, a adubação nitrogenada aumentou significativamente a produção de biomassa e do óleo essencial (Mitchell & Farris, 1996).

Em estudo sobre o efeito do nitrogênio e do esterco de curral sobre a produção de biomassa e óleos essenciais em davana (*Artemisia*

pallens L.), Asteraceae, verificou-se que o nitrogênio aumentou significativamente a produção de biomassa e do óleo essencial. A cultura respondeu positivamente à aplicação de esterco de curral (Rao *et al.*, 1997).

Em tomilho (*T. vulgaris* L.), Lamiaceae, a biomassa fresca e seca de folhas, a concentração de N, P, K, Ca e Mg em folhas e raízes, e a concentração total de óleo essencial em folhas aumentaram com níveis de nutrientes mais elevados. a concentração de três constituintes majoritários do óleo foi aumentada com o acréscimo da concentração dos nutrientes (Udagawa, 1995).

Em hortelã (*Mentha arvensis* L.), Lamiaceae, em um experimento em solução nutritiva, verificou-se que a ausência de macronutrientes como N, P, K e Ca reduziu significativamente a produção de biomassa fresca da planta. Em relação ao óleo essencial, as proporções de vários constituintes do óleo foram totalmente alteradas pelas condições de nutrição da planta, evidenciando que o manejo de nutrientes pode ser utilizado para produção de óleos com diferentes proporções desses metabólitos (Maia, 1994).

Boyle & Craker (1991) em pesquisas com alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), Lamiaceae, verificaram que o crescimento

da planta e o teor de óleo essencial foi significativamente superior em plantas que receberam fertilizantes, comparadas à testemunha.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adubação química com N, P, K e de doses de esterco de curral na presença e ausência de calagem sobre o crescimento da planta, teor, rendimento do óleo essencial e sobre o teor foliar de nutrientes em hortelã-do-campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e condições de cultivo

O material vegetal utilizado foram plantas propagadas por estaquia para evitar a variabilidade genética dentro da espécie, coletadas no município de Tiradentes, MG. A exsicata está depositada no herbário da Universidade Federal de Lavras, sob o código ESAL 13955.

O experimento foi implantado em vasos com capacidade de 10 L, mantidos em casa-de-vegetação no período de setembro de 2004 a janeiro de 2005. O substrato utilizado foi o solo em local de ocorrência natural de *Hyptis*, coletado até uma profundidade de 30 cm. A análise química do solo se encontra na Tabela 1. O solo foi

peneirado e a ele foram adicionadas 5 doses de esterco de curral (0, 3, 6, 9 e 12 kg.m⁻²), cuja análise química se encontra na Tabela 1, e 1 dose de adubo químico (0,333 g.dm³ uréia; 1,0 g.dm³ cloreto de K; 3,33 g.dm³ super fosfato simples; 5,0 mg.dm³ sulfato de Zinco; 1,0 mg.dm³ ácido bórico). Os tratamentos foram combinados com ausência e presença de 1,8 t.ha⁻¹ de calagem (calcário dolomítico). Após a adição do calcário, o solo foi mantido úmido por um período de 47 dias antes do plantio das mudas e antes de receber os tratamentos, sendo umedecido todos os dias com 400 mL de água. O controle foi constituído apenas por solo coletado em local de população nativa expressiva de *H. marruboides*.

Após 4 meses de cultivo, o experimento foi avaliado através das características de crescimento (fitomassa seca do sistema radicular, ramos e folhas), composição química foliar, teor e rendimento do óleo essencial extraído de folhas.

Tabela 1. Caracterização química das amostras do solo e do esterco de curral. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Características	Amostras	
	Solo	Esterco de curral
pH em água (1:2,5)	5,3	7,2
P Mehlich 1 (mg.dm ⁻³)	1,4	754,4
P-remanescente (mg/L)	5,4	45,4
K Mehlich 1 (mg.dm ⁻³)	39	150
Ca (cmol _c .dm ⁻³)	0,8	6,9
Mg (cmol _c .dm ⁻³)	0,2	6,3
Al (cmol _c .dm ⁻³)	0,4	0,2
H ⁺ Al (cmol _c .dm ⁻³)	4,0	1,3
SB (cmol _c .dm ⁻³)	1,1	13,6
CTC efetiva - t (cmol _c .dm ⁻³)	1,5	13,8
CTC efetiva a pH 7,0- T (cmol _c .dm ⁻³)	5,1	14,9
Saturação por Al - m (%)	27	1
Saturação por bases - V (%)	21,6	91,3
Matéria orgânica (dag.kg)	1,0	6,0
S (mg.dm ⁻³)	4,9	63,2
B (mg.dm ⁻³)	0,1	1,1
Cu (mg.dm ⁻³)	1,0	0,4
Fe (mg.dm ⁻³)	128,6	91,4
Mn (mg.dm ⁻³)	11,4	80,9
Zn (mg.dm ⁻³)	0,8	79,0

Extração do óleo essencial

Amostras de 50 g de fitomassa foram submetidas a hidrodestilação em 500 mL de água destilada em aparelho de Clevenger modificado. O hidrolato coletado foi extraído com diclorometano, na proporção de ¼ do total obtido, dividido em três vezes. Como dessecante, foi adicionado sulfato de magnésio anidro durante 24 horas. Após esse período a solução foi filtrada e levada ao

evaporador rotatório. Após evaporação do solvente à temperatura de 35 °C, o material foi transferido para um frasco de vidro envolvido com papel alumínio, que foi deixado em capela, em temperatura ambiente, para evaporação do diclorometano até peso constante, determinando-se o teor de óleo essencial.

A partir do acúmulo de fitomassa seca de folhas e do teor de óleo essencial, calculou-se o rendimento médio de óleo essencial por planta.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 7 blocos, implantado em esquema fatorial $2 \times 5 + 2$, perfazendo 84 unidades experimentais.

RESULTADOS

Teores foliares de nitrogênio mais elevados foram constatados na presença de adubo químico com ou sem calagem, seguidos pela maior dose de adubo orgânico (12 kg.m^{-2}) com ou sem calagem (Tabela 3). Quanto ao fósforo, maiores teores ocorreram na presença de adubação química com ou sem calagem, ou 12 kg.m^{-2} de adubo orgânico sem calcário na presença de qualquer dose de esterco de curral desde que calcário estivesse presente. Piores teores de fósforo

ocorreram no controle ou apenas calcário. O teor foliar de potássio superior foi encontrado na presença de adubo químico ou apenas calcário, seguido por 12 kg.m⁻² sem calagem. Teor superior de cálcio ocorreu na presença de calagem com adubo químico, seguido pelas doses de 6 e 12 kg.m⁻² com calagem, adubo químico sem calagem e 12 kg.m⁻² de adubo orgânico e, por último, os demais tratamentos.

Os teores foliares de magnésio praticamente não diferiram entre si, apresentando resultado inferior apenas em ausência de calagem e adubo químico. O enxofre não apresentou diferenças entre os tratamentos.

Tabela 3: Efeito da adubação e calagem no teor de Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Enxofre (S) em plantas de *Hyptis marruboides*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Calagem	Adubo	N	P	K	Ca	Mg	S
Sem	Sem adubo	1,25 c	0,07 c	0,87 c	0,72 c	0,28 a	0,08 a
Sem	3 kg.m ⁻² org.	1,38 c	0,11 b	1,03 c	0,84 c	0,27 a	0,15 a
Sem	6 kg.m ⁻² org.	1,26 c	0,11 b	1,08 c	0,88 c	0,29 a	0,09 a
Sem	9 kg.m ⁻² org.	1,19 c	0,10 b	0,94 c	0,84 c	0,28 a	0,09 a
Sem	12 kg.m ⁻² org.	1,60 b	0,12 a	1,38 b	1,00 b	0,32 a	0,11 a
Sem	Adubo Químico	2,07 a	0,15 a	1,75 a	1,07 b	0,17 b	0,13 a
Com	Sem adubo	1,25 c	0,08 c	0,75 c	0,69 c	0,33 a	0,09 a
Com	3 kg.m ⁻² org.	1,28 c	0,09 b	0,88 a	0,81 c	0,28 a	0,08 a
Com	6 kg.m ⁻² org.	1,39 c	0,11 a	0,94 c	0,86 c	0,30 a	0,09 a
Com	9 kg.m ⁻² org.	1,36 c	0,13 a	1,02 c	0,95 b	0,28 a	0,09 a
Com	12 kg.m ⁻² org.	1,68 b	0,13 a	1,04 c	1,08 b	0,34 a	0,11 a
Com	Adubo Químico	1,90 a	0,12 a	1,20 c	1,51 a	0,32 a	0,11 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5%.

Os teores foliares de cobre e ferro não diferiram entre os tratamentos. Quanto ao manganês, maiores teores foliares ocorreram em plantas cultivadas na presença de adubo químico com ou sem calagem, como ocorrido também para o Zinco; porém, este não diferiu de 12 kg.m⁻² de adubo orgânico com ou sem calagem. O teor foliar de boro foi inferior na ausência de adubação com ou sem calcário, ou 3 kg.m⁻² de adubo orgânico sem calcário e 3 e 6 kg.m⁻² de adubo orgânico com calcário (Tabela 4).

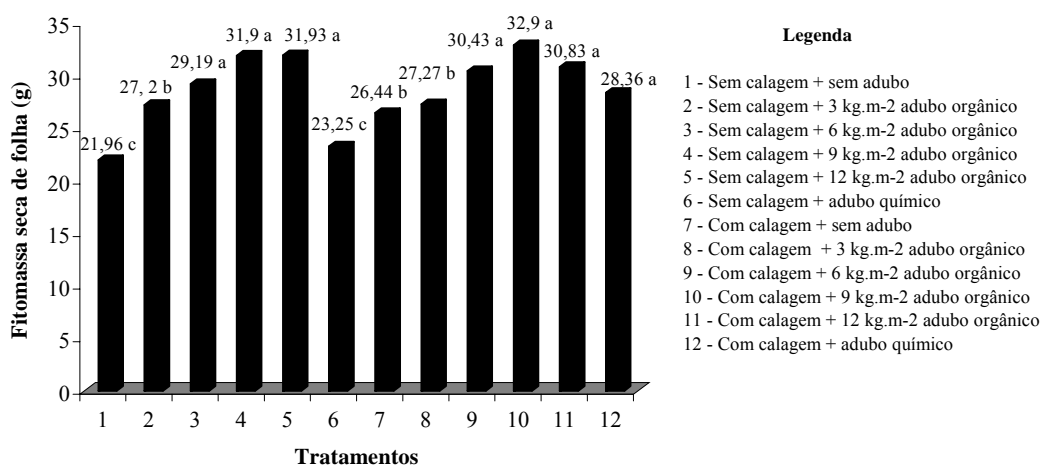
Tabela 4: Efeito da adubação e calagem no teor Boro (B), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Zinco (Zn) e Ferro (Fe) em plantas de *Hyptis marruboides*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Calagem	Adubo	B	Cu	Mn	Zn	Fe
Sem	Sem adubo	26,47 b	5,17 a	51,03 b	24,53 b	131,80 a
Sem	3 kg.m ⁻² org.	27,17 b	5,43 a	51,43 b	26,60 b	136,53 a
Sem	6 kg.m ⁻² org.	32,77 a	3,37 a	43,63 b	27,90 b	143,87 a
Sem	9 kg.m ⁻² org.	34,37 a	3,67 a	38,27 b	25,60 b	129,97 a
Sem	12 kg.m ⁻² org.	32,57 a	4,13 a	44,33 b	34,03 a	158,00 a
Sem	Adubo Químico	38,26 a	7,47 a	74,33 a	35,57 a	126,20 a
Com	Sem adubo	20,50 b	8,10 a	46,07 b	26,17 b	155,63 a
Com	3 kg.m ⁻² org.	22,33 b	6,93 a	52,87 b	25,80 b	129,97 a
Com	6 kg.m ⁻² org.	27,40 b	6,67 a	39,50 b	28,73 b	149,23 a
Com	9 kg.m ⁻² org.	32,27 a	6,70 a	48,9 b	31,03 a	175,77 a
Com	12 kg.m ⁻² org.	40,93 a	6,03 a	37,07 b	36,03 a	169,17 a
Com	Adubo Químico	33,27 a	4,47 a	89,93 a	33,53 a	178,73 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5%.

Maiores acúmulos de fitomassa seca de folhas foram obtidos nas dosagens de 6, 9 e 12 kg.m⁻², independentemente da presença ou ausência de calagem. Adubação química não diferiu das dosagens de

adubo orgânico descritas anteriormente, desde que calcário estivesse presente. Na sua ausência, adubo químico não respondeu, apresentando os menores acúmulos de fitomassa, igualando-se ao controle (Figura 1).



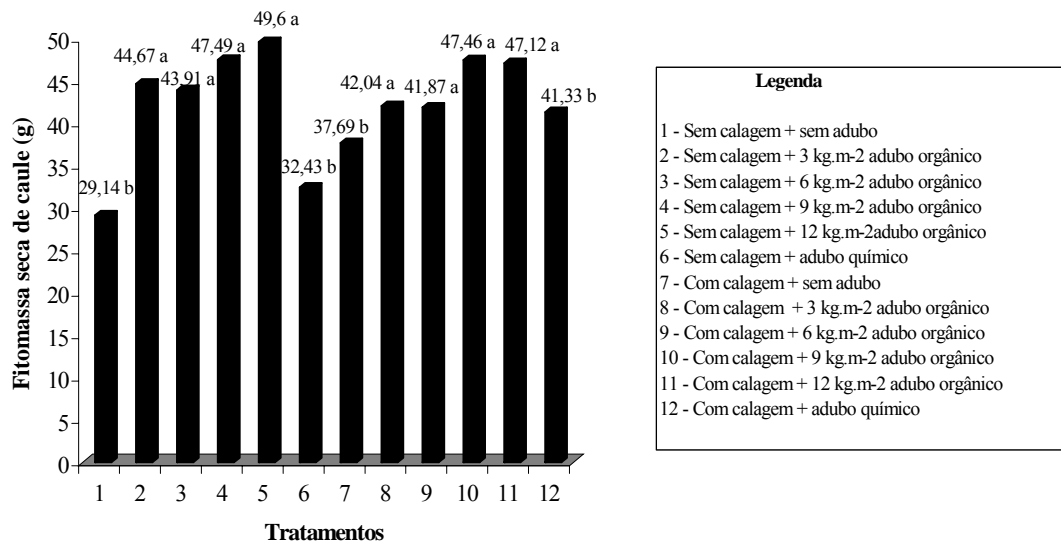
As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%.

Figura 1: Fitomassa seca de folhas (g) de *Hyptis marruboides* em função da calagem, adubação orgânica e química. UFLA, Lavras, MG. 2006.

Quanto ao acúmulo de fitomassa seca do caule, qualquer dose de adubo orgânico propiciou respostas positivas, independentemente da presença ou ausência de calagem. Adubo químico com ou sem calagem, ou apenas calagem, não diferiu do controle, apresentando os piores resultados (Figura 2)

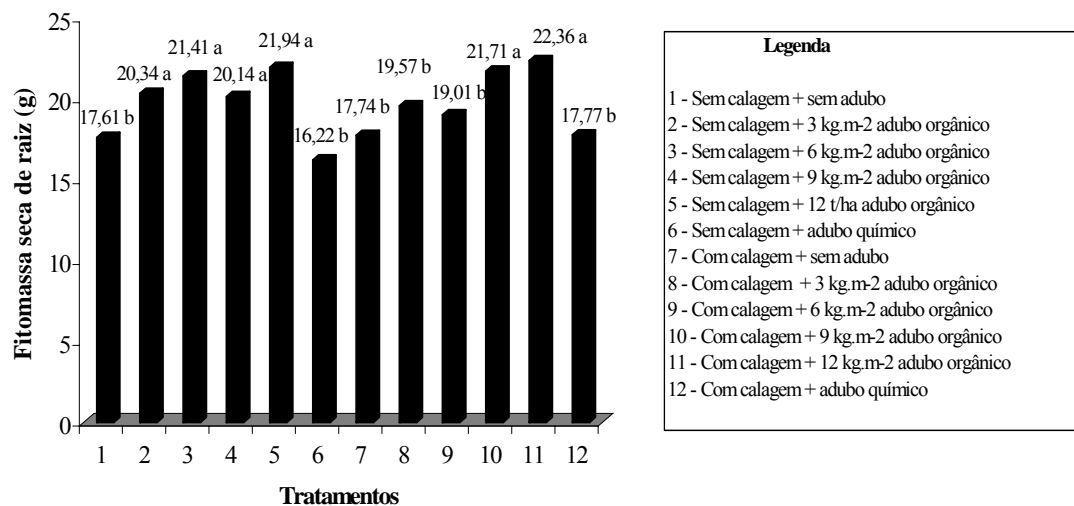
Maiores acúmulos de fitomassa seca de raiz ocorreram na presença de adubo orgânico sem calagem e nas duas maiores de adubo

orgânico (9 e 12 kg.m⁻²) na presença de calagem (Figura 3). Plantas cultivadas em solo com calcário apenas, 3 kg.m⁻², 6 kg.m⁻², adubo químico sem calagem, adubo químico e controle não diferiram entre si e apresentaram acúmulos de fitomassa de raiz inferior aos demais.



As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%.

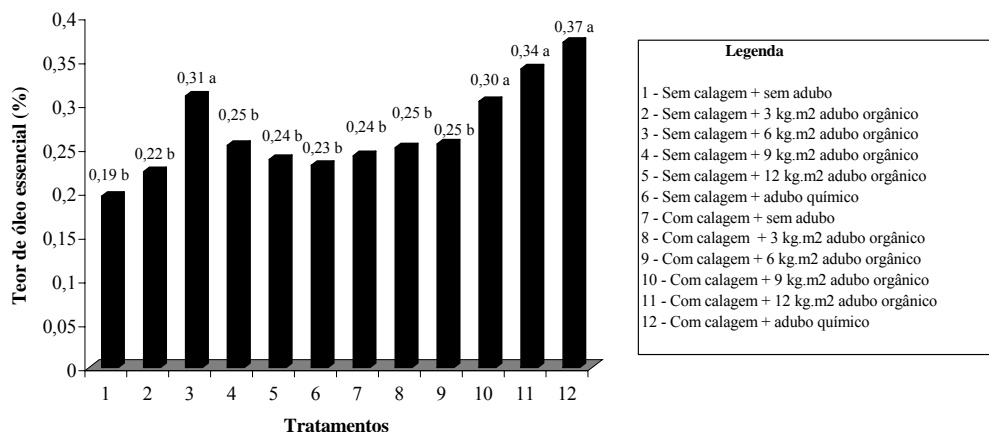
Figura 2: Fitomassa seca de caule (g) de *Hyptis marrubioides* em função da calagem, adubação orgânica e química. UFLA, Lavras, MG. 2006.



As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%.

Figura 3: Fitomassa seca de raiz (g) de *Hyptis marrubioides* em função da calagem, adubação orgânica e química. UFLA, Lavras, MG. 2006.

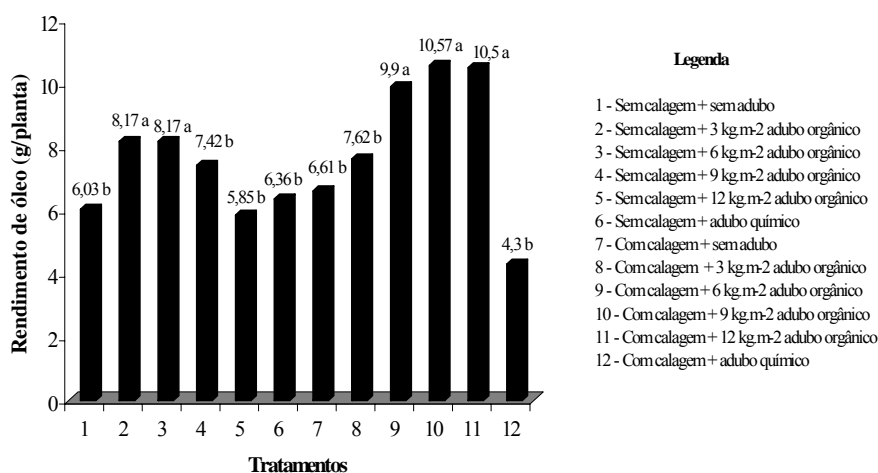
Foi constatada maior teor de óleo essencial em plantas cultivadas na ausência de calcário com 6 kg.m⁻² de adubo orgânico, com 9 ou 12 kg.m⁻² de adubo orgânico na presença de calcário e também com calcário e adubo químico (Figura 4).



As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%.

Figura 4: Teor de óleo essencial (%) de *Hyptis marruboides* em função da calagem, adubação orgânica e química. UFLA, Lavras, MG. 2006.

A maximização do rendimento do óleo essencial aconteceu na ausência de calcário nas doses de 3 e 6 kg.m⁻² de adubo orgânico e também na presença de calcário nas doses de 6, 9 ou 12 kg.m⁻² de



As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5%.

Figura 5: Rendimento de óleo essencial (g/planta) de *Hyptis marruboides* em função da calagem, adubação orgânica e química. UFLA, Lavras, MG. 2006.

adubo orgânico (Figura 5).

DISCUSSÃO

A redução do pH do solo demonstrada na Tabela 2, quando se adicionou adubo químico, se deve, provavelmente, à acidez originada na reação da uréia aplicada. No caso desta fonte de nitrogênio, sua hidrólise resulta, inicialmente, numa elevação do pH localizado; porém, tal aumento é muito transitório, pois o amônio produzido vai gerar muita acidez (Furtini Neto et al., 2001; Souza et al., 2004).

A elevação no teor de fósforo com o acréscimo de esterco de curral (Tabela 2) já era esperada, pois uma das maneiras de se aumentar o teor de fósforo no solo é elevar o teor de matéria orgânica (Souza et al., 2004). Além do mais, como demonstrado na Tabela 1, o esterco de curral utilizado apresentava elevados teores de fósforo.

Na determinação da maximização do rendimento de óleo essencial, avalia-se o acúmulo de matéria seca do órgão do qual se extrai o óleo essencial e o teor do mesmo. Neste sentido, grande parte dos trabalhos com adubação tem mostrado que em solos mais adubados, seja com orgânico ou químico, tem se chegado em maiores acúmulos de fitomassa, como ocorrido para os membros da família Lamiaceae manjeriço (*Ocimum basilicum*), (Anwar et al., 2005;

Blank et al., 2005; Singh, 2002); *Mentha arvensis*, *M. villosa* (Chaves, 1998), *Mentha arvensis* (Singh, 1998 e Munsu, 1992), *Mentha piperita* (Mitchell & Farris, 1996); *Thymus vulgaris* (Shalaby & Razin, 1992). Quanto ao *H. marruboides* no presente trabalho, de uma maneira geral, também respondeu positivamente a solos mais adubados, principalmente em solos que recebeu calcário.

Com relação ao teor de óleo essencial, os resultados encontrados na literatura são mais contraditórios. Um grupo de plantas tem demonstrado responder a solos mais adubados com químico ou orgânico, elevando o teor de óleo essencial, como ocorrido para manjerição (*Ocimum basilicum*) (Anwar et al., 2005), *M. arvensis* (Munsi, 1992) e *Mentha piperita* (Mitchell & Farris, 1996). Outros se comportam de maneira indiferente à adubação como ocorrido para *T. vulgaris* (Shalaby & Razin, 1992). Resultados opostos foram verificados para *M. arvensis* e *M. villosa*, onde o teor de óleo essencial reduziu progressivamente com o aumento das doses de esterco (Chaves et al., 1998; Singh, 1988). No presente trabalho, apesar de a adubação ter influenciado de maneira significativa o teor de óleo essencial, esta diferença foi pequena. Por outro lado, as diferenças no acúmulo de fitomassa foram mais pronunciadas nos tratamentos com adubo orgânico, comparado à adubação química, o que determinou os

maiores rendimentos de óleo essencial nas maiores adubações com adubo orgânico em detrimento do químico (Figura 5).

Tabela 2. Caracterização química das amostras do solo dos diferentes tratamentos de adubação, no final do experimento, ou seja, 47 dias para reação do adubo e mais 120 dias de crescimento da cultura. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Características	Amostras											
	Com calagem						Sem calagem					
	Esterco de curra (kg.m ⁻²)											
	0	3	6	9	12	Químico	0	3	6	9	12	Químico
pH em água (1:2,5)	5,5	5,4	5,6	5,6	6,2	4,8	5,1	4,7	5,2	5,3	5,4	4,3
P Mehlich 1 (mg.dm ⁻³)	1,2	1,7	3,1	5,2	8,9	29,9	1,4	2,3	3,7	4,6	8,2	21,7
P-remanescente (mg/L)	8,0	9,9	9,7	11,5	14,7	11,5	8,0	9,1	10,5	11,2	12,9	9,7
K Mehlich 1 (mg.dm ⁻³)	50	89	139	170	218	259	67	86	133	183	226	218
Ca (cmol _c .dm ⁻³)	1,8	2,0	2,5	3,4	3,8	3,1	0,8	1,3	2,0	2,5	3,8	2,6
Mg (cmol _c .dm ⁻³)	1,1	1,2	1,2	1,6	1,5	0,9	0,4	0,7	0,8	1,0	0,9	0,5
Al (cmol _c .dm ⁻³)	0,4	0,2	0,2	0,0	0,0	0,5	0,8	0,5	0,3	0,2	0,3	1,3
H ⁺ Al (cmol _c .dm ⁻³)	3,2	3,2	2,9	2,6	2,1	4,5	4,5	4,0	3,6	2,9	2,9	5,6
SB (cmol _c .dm ⁻³)	3	3,4	4,1	5,4	5,9	4,7	1,4	2,2	3,1	4,0	5,3	3,7
CTC efetiva - (cmol _c .dm ⁻³)	3,4	3,6	4,3	5,4	5,9	4,7	1,4	2,2	3,1	4,0	5,3	3,7
CTC efetiva a pH 7,0- (cmol _c .dm ⁻³)	6,2	6,6	7,0	8,0	8,0	9,2	5,9	6,2	6,7	6,9	8,2	9,3
Saturação por Al – m (%)	12	6	5	0	0	10	37	18	9	5	5	26
Saturação por bases – V (%)	48,6	51,7	58,3	67,6	73,6	50,9	23,3	35,7	46,6	57,8	64,5	39,5
Matéria orgânica (dag.kg)	3,8	3,3	3,1	4,1	4,1	3,4	2,5	3,7	3,8	3,8	4,3	3,6
S (mg.dm ⁻³)	3,7	5,8	12,8	12,3	11,3	7,5	10,8	12,3	11,8	8,9	16,0	218,3
B (mg.dm ⁻³)	0,4	0,4	0,3	0,4	0,5	0,8	0,6	0,3	0,1	0,3	0,3	0,6
Cu (mg.dm ⁻³)	2,3	2,1	2,1	2,0	1,8	2,0	2,1	1,7	1,7	1,7	2,0	2,0
Fe (mg.dm ⁻³)	659	634	545	429	361	401	518	354	407	347	352	397
Mn (mg.dm ⁻³)	35,8	31,7	37,8	36,3	42,0	24,6	30,4	26,2	31,5	30,1	40,9	21,2
Zn (mg.dm ⁻³)	2,5	3,4	4,8	6,2	7,4	2,5	2,0	2,7	4,5	5,4	7,7	2,3

CONCLUSÃO

De acordo com as condições experimentais empregadas e os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- a) Adubação orgânica proporcionou maiores acúmulos de fitomassa seca de raiz, caule e folhas.
- b) Calagem influenciou positivamente o teor de óleo essencial.
- c) Adubação orgânica influenciou positivamente o rendimento de óleo essencial.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro em bolsas de iniciação científica e de produtividade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANWAR, M.; PATRA, D. D.; CHAND, S.; ALPESH, K.; NAQVI A. A.; KHANUJA, S. P. S. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 36, n. 13/14, p. 1737-1746, 2005.

BARANAUSKIENE, R.; VENSKUTONIS, P. R.; VISKELIS, P.; DAMBRAUSKIENE, E. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 7752-7758, 2003.

BLANK, A. F.; SILVA, P. de A.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; SILVA-MANN, R.; BARRETO, M.C. de V. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjeriço cv. Genovese. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 175-180, maio/ago. 2005.

BOYLE, T. H.; CRAKER, L. E. Growing medium and fertilization regime influence growth and essential oil content of rosemary. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 1, p. 33-34, Jan. 1991.

CHAVES, F. C. M.; MATTOS, S. H.; INNECCO, R. Adubação orgânica em hortelã-rasteira (*Mentha x villosa* Huds). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n.1, dez. 1998. (Resumo, 070).

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1931.

FURTINI NETO, A. E.; VALE, F. R.; RESENDE, A. V. de; GUILHERME, L. R. G.; GUEDES, G. A. de A. **Fertilidade do solo**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 1252 p. (Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a distância)

HARLEY, R. M. Evolution and distribution of Eriope (Labiatae) and its relatives in Brasil. In: WORKSHOP ON NEOTROPICAL DISTRIBUTION ON PATTERNS, 1988, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988. p.71-80.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Nacional, 1983. p. 583-586.

KUHNT, M.; PROBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *lyptis – verticullata*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 61, n. 3, p. 227-232, June 1995.

MAIA, N. B. **Nutrição mineral, crescimento e qualidade do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva**. 1994. 69 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MITCHELL, A. R.; FARRIS, N. A. Peppermint response to nitrogen fertilizer in arid climate. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 19, n. 6, p. 955-967, 1996.

MUNSI, P. S. Nitrogen and phosphorus nutrition response in japanese mint cultivation. **Acta horticulturae**, Wageningen, v. 306, p. 436-443, 1992.

RAO, E. V. S. P.; NARAYANA, M. R.; RAO, B. R. R. The effect of nitrogen and farm manure on yield nutrient uptake in davana (*Artemisia pallens* Wall. Ex D.C.). **Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants**, Bermingham, v. 5, n. 2, p. 39-48, 1997.

SHALABY, A. S.; RAZIN, A. M. Dense cultivation and fertilization for higher yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Journal Agronomic Crop Science**, Berlin, v. 168, n. 4, p. 243-248, May 1992.

SCHEFFER, M. C.; JUNIOR, P. R.; KOEHLER, H. S. Influence of organic fertilization on the biomass, yield and composition of the essential oil of *Achillea millefolium* L. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 331, p. 109-114, 1993.

SINGH, K.; SINGH, V.; RAM, P. Effect of manure and fertilizers on herb, oil and yield of *Mentha arvensis* L. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 33, n. 3, p. 287-289, Sept. 1988.

SINGH, M. Effect of nitrogen and irrigation regimes on the yields and quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Spices and Aromatic Crops**, Calicut, v. 11, n. 2, p. 151-154, 2002.

SOUZA, D. M. G de; LOBATO, E.; REIN, T. A. Adubação com fósforo. In: **Cerrado: Correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 416 p.

UDAGAWA, Y. Some responses of dill (*Anethum graveolens*) and thyme (*Thymus vulgaris*), grown in hydroponic, to the concentration of nutrient solution. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 396, p. 203-210, 1995.

Composition and Chemical Variability in the Essential Oil of *Hyptis marrubioides* Epl.

(Preparado de acordo com as normas do Journal of Essential Oil Research)

Juliana F. Sales, José Eduardo B. P. Pinto, Priscila P. Botrel

Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Mediciniais, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, C.P. 37, Lavras-MG, 37200-000, Brasil.

Carolina B. A. Oliveira, Pedro H. Ferri*

Laboratório de Bioatividade Molecular, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, C.P. 131, Goiânia-GO, 74001-970, Brasil.

José R. Paula

Laboratório de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, C.P. 131, Goiânia-GO, 74001-970, Brasil.

José C. Seraphin

Núcleo de Estatística Aplicada, Instituto de Matemática e Estatística, Universidade Federal de Goiás, C.P. 131, Goiânia-GO, 74001-970, Brasil.

* Address for correspondence

Abstract

The essential oils from stems and leaves (fresh or dried, and whole or sliced) of *Hyptis marrubioides* collected from two localities of Brazilian Cerrado were investigated by GC-MS. Caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol, eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol, caryophyllene oxide and (E)-caryophyllene were the principal constituents. The results were submitted to Principal Component and Cluster analysis which allowed three groups of essential oils to be distinguished with respect to sampling from county and post-harvested process: cluster I (fresh leaves and fresh or dried stems from Lavras county) with high percentage of caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol (16.7%) and eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol (12.8%); cluster II (dried leaves and stems from Tiradentes county) with *epi*-longipinanol (16.2%) rich oil, and cluster III (dried leaves from Lavras) containing a high content of (E)-caryophyllene (17.4%) and α -copaene (10.1%). Canonical discriminant analysis showed that is possible to accurately predict 100% well-classification in the original clusters using (E)-caryophyllene, *epi*-longipinanol and caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol as predictor variables. The whole or sliced plant materials resulted in similar chemical composition.

Key Words Index

Hyptis marrubioides Epl., Lamiaceae, essential oil composition, chemical variability, canonical discriminant analysis.

Introduction

Hyptis Jacq. (Lamiaceae), with well over 300 species that mainly occur in tropical America (Epling, 1949), exhibit a major morphological diversity in Brazilian Cerrado region (Harley, 1988). Its species are quite aromatic and are frequently reported in the treatment of gastrointestinal infections, cramps, and pain, as well as in skin infections (Corrêa, 1931) and has been found to possess significant biological and pharmacological activity, including tumorigenic (Saluja et al., 1981), mycotoxic, phytotoxic (Pandey et al., 1982) and antifertility activities (Porter et al., 1995), and anti-inflammatory, antibacterial, antisecretory (Kahnt et al., 1995), and insecticidal properties (Araújo et al., 2003). As part of our ongoing work on the characterisation of essential oils of aromatic plants growing wild in Brazilian Cerrado (Azevedo et al., 2002), we now report on the results obtained for the essential oil composition and variability of *H. marrubioides* Epl., popularly known as “hortelã do campo”, which

have not been performed yet. For that purpose, sampling from two county were chosen and essential oils from stems and leaves of representative population samples of each county were analysed by GC-MS. To study the chemical variability, the chemical constituents were submitted to Principal Component, chemometric Cluster and Canonical Discriminant Analysis in order to detect some pattern distribution of samples and to identify which constituents can differentiate the groups of individuals.

Experimental

Plant material: *H. marruboides* were collected in March 2003 at the mature vegetative stage from their natural habitat; 20 randomised individual plants at the same age representing the local population were collected as homogenous samples from each locality: (A) Lavras (21° 14' S/44° 59' W), at an altitude of 919 m; (B) Tiradentes (21° 6' S/44° 10' W), 927 m. Voucher specimens of each sample are deposited in the Herbarium of the Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais State, Brazil, code numbers, ESAL 13955 (Lavras) and 15188 (Tiradentes). Stems and leaves, fresh or dried by dehumidification in Arsec 160 apparatus for 3 days at 30°C until constant weight, and whole or sliced (5

cm) materials (0.25 kg) from each population were submitted to steam distillation (2 h). At the end of each distillation, the oils were collected by extracting the aqueous solution with CH₂Cl₂ (3 × 30 ml), drying the dichloromethane fractions with anhydrous Na₂SO₄ and removing the solvent in a rotavapor under reduced pressure at 40°C. The oils were transferred into glass flasks filled to the top and kept at a temperature of -18°C until used.

Analysis of essential oils: Oil samples analysis were performed on a Varian gas chromatograph (FID) equipped with a DB-5 (J&W) fused silica capillary column, 30 m × 0.25 mm, 0.25 µm film thickness, temperature programmed as follows: 60°C to 240°C at 3°C/min, then to 280°C at 10°C/min, ending with a 10 min at 280°C. The carrier gas was nitrogen at a flow at 1.0 mL/min; injector port and detector temperature were 220°C and 240°C, respectively. Samples were injected by splitting and the split ratio 1:20.

GC-MS analysis was performed on Shimadzu QP5050A instrument employing the following conditions: column CBP-5 (Shimadzu) fused silica capillary column (30 m long × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm film

thickness composed of 5% phenylmethylpolysiloxane) connected to a quadrupole detector operating in EI mode at 70 eV with scan mass range of 40-400 m/z at a sampling rate of 1.0 scan/s; carrier gas: He (1 ml/min); injector and interface temperatures were 220 °C and 240 °C, respectively, with a split ratio of 1:20. Injection volume was 0.2 μ l (20% in CH_2Cl_2) in split mode and temperature programmed as above. Individual components were identified by comparing their retention indexes made through co-injection with a C_8 - C_{32} n-alkanes series (van Den Dool & Kratz, 1963), mass spectra with those of the literature (Adams, 2001) and a computerised MS-data base using NIST libraries (NIST, 1998). Major compounds were also identified by ^{13}C -NMR recorded on a Varian Gemini spectrometer operating at 75 MHz using C_6D_6 as internal reference. The identification was performed by analysis of the ^{13}C -NMR spectrum of the total oil, by comparing the signals obtained with those of the literature (Kubeczka & Formáček, 2002).

Chemical variability: Principal Component Analysis (PCA) was applied to examine the interrelationships between populations and its chemical constituents using SPAD.N software package (Lebart et al.,

1994). Cluster Analysis was also applied to the study of similarity of samples on the basis of constituent distribution. Nearest neighbour complete linkage technique by Benzécri algorithm (Benzécri, 1980) was used as an index of similarity and hierarchical clustering was performed according to the Ward's variance minimising method (Ward, 1963). Canonical Discriminant Analysis using SAS DISCRIM procedure (SAS, 1996) was used to differentiate between clusters and treatments (post-harvested process) on the basis of oil composition. The predictive ability of linear discriminant functions was evaluated by cross-validated implemented in SAS. *P*-values less than 0.05 were considered to be significant.

Results and Discussion

The essential oils of *H. marrubioides* collected from the two different county gave an average yield of 0.27%. In total, 26 compounds were identified, accounting for 96–99% of the volatile constituents (Table 1). Oxygenated sesquiterpenes were the main group of constituents in most of populations (52.9–93.2%). Nevertheless, important differences in the amounts of the major constituents were found, mainly of caryophyllene

oxide (5.8–15.4%) and caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol (7.9–19.0%) as principal constituents of whole dried Lavras stems, while eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol (7.4–15.3%) had the highest percentage in whole fresh Lavras stems; (E)-caryophyllene (1.2–18.7%) and *epi*-longipinanol (0.1–20.1%) as the major components of sliced dried Lavras leaves and whole dried Tiradentes stems, respectively. All these findings may be correlated with factors, such as plant part distilled (Mallavarapu et al., 1997), genetic information (Figueiredo et al., 1997) or improved defence against microbial or insect attack (Langenheim, 1994), e.g. deterrancy of the leaf-tying lepidopteran (*Steoma ferrocanella*) by Central Brazilian Cerrado species *Hymenaea stigonocarpa* was positively associated with the level of (E)-caryophyllene or γ -muurolene in the leaf resins of different populations (Langenheim & Hall, 1983). Results obtained from Cluster Analysis and PCA showed the existence of a highly chemical variability within the essential oil *H. marrubioides*. Figure 1 shows the relative position of the individuals in the discriminant space in relation to an axial system originated in the PCA. The oxygenated sesquiterpenes group is located in left side with minimal differences among most individuals. The strong negative correlation between oxygenated

sesquiterpenes and sesquiterpene hydrocarbons is clear. First PC separates oxygenated monoterpenes (mean content, 4.4%) and sesquiterpene hydrocarbons (37.7%) of mainly dried leaves regardless of the county, from oxygenated sesquiterpene samples (86.8%; fresh leaves, and fresh or dried stems), and the Second PC distinguishes the sampling county (Lavras and Tiradentes). Therefore, three main types of essential oils were found: cluster I (fresh leaves and fresh or dried stems from Lavras county), characterised by a high percentage of caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol (16.7%) ($P < 0.003$) and eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol (12.9%) ($P < 0.049$); cluster II (dried leaves and stems from Tiradentes county) with *epi*-longipinanol (16.2%) ($P < 0.001$) as principal constituent, and cluster III (dried leaves from Lavras county) containing a high content of (E)-caryophyllene (17.4%) ($P < 0.01$) and α -copaene (10.1%) ($P < 0.02$). Investigation of the influence of post-harvested processing in oil content showed that whole or sliced plant materials resulted in similar chemical composition. There were no significant differences in the component composition between the various oil samples. Canonical discriminant analysis has been performed to help predict clusters, based on the values of the determinate quantitative variables. It is often applied

when there is more interest in differences between groups than between individuals (Afifi & Clark, 1996). The samples were used to develop a model to discriminate among the three levels of proposed clusters as *a priori* groupings using three predictor variables, (E)-caryophyllene, *epi*-longipinanol and caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol. The results show that the first discriminant function (F1) accounts for *ca.* 79% of the total variability, and using the two discriminant functions, it is possible to accurately predict 100% well-classification in the original clusters by cross-validation approach (Table 2). This involves a number of slightly reduced modifications to the parent data set, estimating parameters from each of these modified data sets, and then calculating the precision of the predictions by each of the resulting models (Wold & Esriksson, 1995). Cluster II (Tiradentes county) shows a very high negative correspondence with F1 because of negative marked correlation of *epi*-longipinanol variable. The cluster III (Lavras county) is more related with second canonical discriminant function (F2), where the contribution of the variable (E)-caryophyllene is more evident than caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol. The variability presented in this paper corresponds well with

the previously results from polymorphism in others *Hyptis* species
(Wulff, 1973 e Van Hac et al., 1996).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**. Carol Stream, IL: Allured Publishers Corp, 2001.

AFIFI, A. A.; CLARK, V. **Computer-aided multivariate analysis**. London: Chapman and Hall, 1996.

ARAÚJO, E. C. C.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. ; ANDRADE NETO, M.; ANDRADE, I. L.; LIMA, M. A. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, n. 13, p. 3760-3762, June 2003.

AZEVEDO, N. R. ; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; PAULA, J. R.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Biochemistry Systematics and Ecology**, Oxford, v. 30, n. 3, p.205-216, Mar. 2002.

BENZÉCRI, J. P. **L'Analyse des Données: la Taxinomie**. Dunod, Paris, 1980. Tome 1.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1931.

EPLING, C. Revisión del género *Hyptis* (Labiatae). **Revista del Museo La Plata**, Sección Botánica, La Plata, v. 30, p. 153-497, 1949.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. Physiological aspects of essential oil production. In: FRANZ, C.; MATHE, A.; BUCHBAUER, G. (Ed.). **Essential Oils: Basic and Applied Research**. Carol Stream, IL: Allured Publishers Corp 1997. p. 95-107.

HARLEY, R. M. Revision of generic limits in Hyptis Jacq. and its allies. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.98, n. 2, p. 87-95, Oct. 1988.

KUBECZKA, K. -H.; FORMÁČEK, V. **Essential Oils Analysis by Capillary Gas Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy**. 2. ed. New York: John Wiley, 2002.

KUHNT, M.; PROBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of Hyptis verticillata. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 61, n. 3, p. 227-232, June 1995.

LANGENHEIM, J. H. Higher-plant terpenoids – a phytocentric overview of their ecological roles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 6, p. 1223-1280, June 1994.

LANGENHEIM, J. H.; HALL, G. D. Sesquiterpene deterrence of a leaf-tying lepidopteran, *Stenoma ferrocane*, on *Hymenaea stigonocarpa* in Central Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 11, n. 1, p. 29-36, 1983.

LEBART, L.; MORINEAU, A.; LAMBERT, T.; PLEUVRET, P. **SPAD-N. Versión 2.5, Système Portable d'Analyse des Données Numériques**. Saint Mandé, France: Centre International de Statistique et d'Informatique Appliquées, 1994.

MALLAVARAPU, G. R.; RAJESWARA RAO, B. R.; KAUL, P. N.; RAMESH, S. Contribution of the essential oils of leaf, petiole and stem of scented geranium to the odour of geranium oil. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science**, Lucknow, v. 19, n. 4, p.1020-1023, 1997.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database**. Gaithersburg: U.S. Department of Commerce, 1998.

PANDEY, D. K.; TRIPATHI, N. N.; TRIPATHI, R. D.; DIXIT, S. N. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of Hyptis

suaveolens. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v.89, n. 6, p. 344-349, 1982.

PORTER, R. B. R.; REESE, P. B.; WILLIAMS, L. A. D.; WILLIAMS, D. J. Acaricidal and insecticidal activities of cadina-4,10(15)-dien-3-one. **Phytochemistry**, Oxford, v. 40, n. 3, p. 735-738, Oct. 1995.

SALUJA, S. K.; SANTINI, D. D.; SINGH, J. D. A short note on chemical constituents of Hyptis suaveolens Poit. **Indian Drugs**, Bombay, v.19, v. 1, p. 8s4, 1981.

SAS Institute. **The SAS System for Windows**. Cary, NC, 1996.

Van Den DOOL, H.; KRATZ, P. D. J. A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.11, n. 4, p. 463-471, 1963.

VAN HAC, L.; KHOI, T. T.; DUNG, N. X.; MARDAROWICZ, M.; LECLERCQ, P. A. A new chemotype of Hyptis suaveolens (L.) Poit. from Nghê An Province, Vietman. **Journal of Essential Oil Research**, Carlo Stream, v. 8, p. 315-318, 1996.

WARD, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of the American Statistical Association**, Alexandria, v. 58, n. 301, p. 238-244, Mar. 1963.

WOLD, A.; ERIKSSON, L. Statistical validation of QSAR results. In: WATERBEEMD, H. (Ed.). **Chemometric methods in molecular design**. Weinheim, Germany: VCH, 1995. v. 2, p. 309-318.

WULFF, R. Intrapopulational variation in the germination of seeds in Hyptis suaveolens. **Ecology**, Washington, v. 54, n. 3, p. 646-649, 1973.

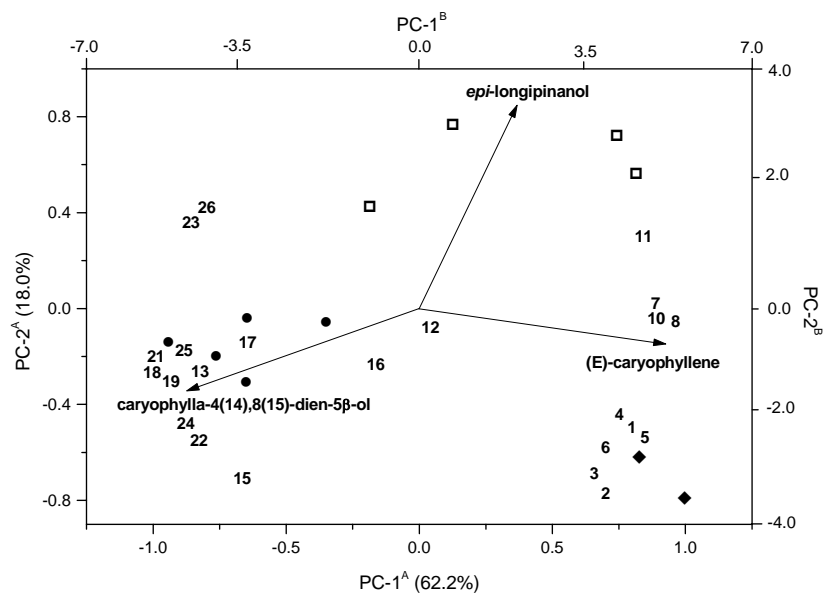


Figure 1. Principal Component scatter of *H. marrubioides* constituents and samples collected from Lavras (shaded) and Tiradentes county (unshaded symbols) to which cluster it belongs: I (●), II (□) and III (◆).^AAxes refer to scores from oil constituents as numbers (see Table 1), with major discriminant components represented as vectors from origin. ^BAxes refer to scores from the samples.

Table 1. Composition of the essential oils in percentage (%) of two populations of *Hyptis marrubioides* from Brazilian Cerrado. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Oil components	% in populations											
	Lavras county						Tiradentes county					
	Leaves			Stems			Leaves			Stems		
	Fresh		Dried	Fresh		Dried	Dried		Dried			
	RI	Whole	Sliced	Whole	Sliced	Whole	Whole	Sliced	Whole	Sliced	Whole	Sliced
1 <i>cis</i> -thujone	1107	-	t	1.2	0.4	-	t	-	0.8	t	t	-
2 <i>trans</i> -thujone	1117	-	t	1.8	1.0	-	t	-	t	t	t	-
3 1-terpineol	1135	-	t	2.2	1.4	-	t	-	t	t	t	t
4 <i>cis</i> -pinocanfone	1174	-	-	1.0	1.0	-	-	-	0.7	t	-	-
5 α -terpineol	1191	t	0.2	1.5	1.0	-	t	-	0.6	0.3	t	t
6 eugenol	1357	-	t	1.6	0.8	-	t	t	t	0.3	t	0.5
7 α -copaene	1380	0.6	2.7	10.0	10.2	t	t	t	8.8	10.5	2.9	1.1
8 β -bourbonene	1387	-	t	0.8	0.8	-	-	-	0.9	0.9	t	t
9 (E)-caryophyllene	1425	3.0	7.5	16.0	18.7	1.2	1.9	2.4	13.1	14.2	7.3	5.7
10 α -humulene	1456	t	0.3	1.6	1.5	t	t	t	1.1	1.9	0.8	t
11 germacrene D	1485	t	1.3	5.2	2.9	-	t	0.6	5.9	7.5	3.0	2.5
12 δ -cadinene	1526	5.3	6.8	4.2	5.3	3.8	3	4.2	4.4	4.6	4.2	4.0
13 italicene epoxide	1552	8.8	7.5	3.9	4.9	9.1	5	5.4	3.8	3.2	4.5	4.8
14 <i>epi</i> -longipinanol	1562	1.3	2.4	2.7	1.8	0.1	3.0	5.8	17.0	13.6	20.1	14.2
15 <i>trans</i> -sesquisabinene hydrate	1578	2.5	2.2	2.0	1.8	2.1	3.0	2.1	1.4	1.0	1.3	1.8
16 caryophyllene oxide	1585	7.7	8.0	10.9	10.5	5.8	16	15.4	8.4	7.9	9.0	12.1

Continua

17	β -copaen-4 α -ol	1591	2.1	0.7	0.6	0.7	0.6	3.0	2.8	t	1.1	1.1	1.2
18	guaiol	1601	6.2	5.4	2.8	3.2	6.3	6.0	5.6	2.7	2.7	3.4	3.8
19	caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 α -ol	1637	4.3	3.8	3.3	2.4	4.9	5.0	4.8	2.2	2.8	2.9	4.1
20	caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol	1642	16.4	14.0	9.8	10.9	16.5	19.0	17.5	8.9	7.9	11.2	13.7
21	α -muurolol	1648	5.5	5.2	1.9	2.7	7.2	5.0	5.3	1.8	2.4	2.7	4.1
22	α -eudesmol	1654	5.2	4.7	2.2	2.5	6.6	5.0	4.6	t	t	0.8	1.8
23	selin-11-en-4- α -ol	1658	3.9	3.6	0.9	1.0	4.5	3.0	3.3	2.4	3.3	2.3	4.3
24	unknown	1661	3.8	2.9	1.8	1.9	4.8	3.0	2.8	0.4	0.9	1.5	2.4
25	14-hydroxy-9- <i>epi</i> -(E)-caryophyllene	1673	6.6	4.7	2.8	2.6	8.2	7.0	5.2	2.3	2.1	4.1	4.3
26	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1689	12.8	12.8	7.4	7.9	15.3	11.0	12.5	10.0	8.8	14.2	13.2
Oxygenated monoterpenes			-	0.3	9.3	5.6	-	0.1	-	2.1	0.7	0.1	0.5
Sesquiterpene hydrocarbons			8.9	18.5	37.8	39.3	5.1	5.7	7.2	34.1	39.6	18.1	13.3
Oxygenated sesquiterpenes			87.1	77.9	52.9	54.7	92.0	93.2	92.7	61.5	57.7	78.9	85.5

RI = Retention Indices; - = not detected; t = trace (<0.05%)

unknown, m/z(rel. int.): 220 [M^+] (3), 205 (5), 202 (14), 187 (25), 177 (6), 173 (7), 159 (31), 145 (30), 131 (53), 119 (33), 105 (57), 91 (70), 79 (52), 69 (30), 55 (48), 43 (55), 41 (100).

Table 2. Canonical discriminant analysis summary of *Hyptis marrubioides*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

A. canonical discriminate functions	Eigenvalue	Relative percentage	Canonical lambda	Wilks lambda	<i>F</i>	<i>Di</i>	<i>P-value</i>
F1	14,376	78,8	0,967	0,013	15,299	6; 12	0,0001
F2	3,866	21,2	0,891	0,206	13,531	2; 7	0,0039
B. Standardized coefficients	(E)-Caryophyllene	<i>Epi</i> - Longipinanol	Caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol				
F1	0,324	-0,916	0,750				
F2	1,546	-0,020	0,726				
C. Cross-validation	Percentage of total well-classification						
	(E)-Caryophyllene	<i>Epi</i> -lonipinanol	Caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol				
	100,0	100,0	100,0				

Number of samples = 11; discriminant variables: (E)-caryophyllene, *epi*-longipinanol, and caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 β -ol.

