

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

RAQUEL VALMORBIDA

**RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CIDRÓ
(*Aloysia citriodora*) EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE E
DENSIDADES DE PLANTIO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

**DOIS VIZINHOS
2013**

RAQUEL VALMORBIDA

**RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CIDRÓ
(*Aloysia citriodora*) EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE E
DENSIDADES DE PLANTIO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia Florestal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR campus Dois Vizinhos, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Dalva Paulus

DOIS VIZINHOS

2013

V196r Valmorbida, Raquel.

Rendimento e composição de óleo essencial de cidró (*Aloysia citriodora*) em função da sazonalidade e densidades de plantio / Raquel Valmorbida – Dois Vizinhos :[s.n], 2013.
44 f.

Orientadora: Dalva Paulus

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Engenharia Florestal. Dois Vizinhos, 2013.

Bibliografia p.40-44

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB: 9/1745

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



TERMO DE APROVAÇÃO

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CIDRÓ (*Aloysia citriodora*) EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE E DENSIDADES DE PLANTIO

por

RAQUEL VALMORBIDA

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 12 de abril de 2013 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof.^a Dr.^a Dalva Paulus
Orientadora

Prof. Dr. Celso E. P. Ramos
Membro titular (UTFPR)

Prof.^a Dr.^a Daniela M. de Lima
Membro titular (UTFPR)

Dedico este trabalho as pessoas que lutaram e sonharam ao meu lado, transmitindo fé, amor, alegria, determinação, paciência, e coragem, dando um sentido a minha vida, e um motivo pra vencer. A toda minha família, e principalmente, a meu companheiro Daniel, pela ausência nos últimos anos.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de prestar meus agradecimentos às pessoas que fizeram parte e contribuíram para a conclusão deste trabalho e do curso de graduação.

A Deus, pela minha vida e por me conceder saúde e disposição para não desistir no meio do caminho, e buscar a concretização de um sonho que hoje se torna realidade.

Aos meus pais, Loivani e Jacir agradeço pelo apoio e incentivo dedicados a mim nesses cinco anos.

Também aos meus irmãos, Kauan e Rafael, pelo carinho incondicional, palavras e ações de amor e amizade dia após dia.

À meu amor Daniel, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, pelo amor, carinho, companheirismo, e por nunca me deixar desistir.

Agradeço a minha orientadora Prof^a. Dra. Dalva Paulus, pela sabedoria e dedicação com que me guiou nesta trajetória. Exemplo de profissional, com quem aprendi muito desde as primeiras fases de curso. Obrigada pelo conhecimento compartilhado, pelo carinho, pelos momentos de alegria e, pelas broncas também, mas, sobretudo pela colaboração em concluir mais este trabalho.

Ao Prof. Dr. Celso Eduardo Pereira Ramos, por empréstimo de equipamentos utilizados para a realização deste e demais trabalhos.

À minha amiga Patricia, pelo companheirismo, alegria, amizade e amor, com quem compartilhei momentos inesquecíveis. E obrigada pelas caronas também. Juntas aprendemos e crescemos profissionalmente e pessoalmente.

Também agradeço aos colegas de sala, pela amizade e companheirismo nesses cinco anos.

A Secretaria do Curso, pela cooperação.

A todos os professores do curso, pelos ensinamentos passados que vieram a construir um perfil de engenheira florestal que hoje quase sou.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

O que é escrito sem esforço é em geral
lido sem prazer.
Samuel Johnson (2009)

O único lugar aonde o sucesso vem antes
do trabalho é no dicionário.
Albert Einstein

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem de <i>Aloysia citriodora</i> no local do experimento com detalhe de ramos apicais	17
Figura 2 - Croqui da área experimental com <i>A. citriodora</i>	25
Figura 3 - Aparelho do tipo Clevenger com detalhe da coluna de condensação de óleo essencial.....	26
Figura 4 - Balança analítica de precisão (esquerda) e preparo de amostras para extração de óleo (direita).....	27
Figura 5 - Teor de óleo essencial de <i>A. citriodora</i> em função das épocas de colheita	30
Figura 6 - Dados climáticos de Temperatura Média e Precipitação Acumulada de out/10 à set/2011.....	32
Figura 7 - Dados de radiação solar média de out/10 à set/11	33
Figura 8 - <i>A. citriodora</i> com acentuada perda de folhas no inverno (esquerda), e com densa folhagem no verão (direita), 2011.....	34
Figura 9 - Teor de óleo essencial de <i>A. citriodora</i> em função da densidade de plantio a campo	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Componentes químicos do óleo essencial de <i>A. citriodora</i> em diferentes épocas de colheita com densidade de plantio de $1\text{m}^2 \text{ planta}^{-1}$	36
Tabela 2 - Rendimento de massa fresca (kg ha^{-1}) e produção de óleo essencial (L ha^{-1}) de <i>A. citriodora</i> cultivada em três densidades de plantio a campo.....	37

RESUMO

VALMORBIDA, Raquel. **Rendimento e composição de óleo essencial de cidrô (*Aloysia citriodora*) em função da sazonalidade e densidades de plantio.** 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013.

Aloysia citriodora é uma planta medicinal rica em óleo volátil, que serve como matéria-prima para indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e terapêutica. Esta planta tem ação calmante, digestiva e também é usada contra diarreias, asma, enxaqueca, febre e gripe. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da sazonalidade na produção e composição química do óleo essencial de *A. citriodora*, acompanhar o comportamento fenológico da espécie ao longo do experimento e quantificar o teor de óleo essencial em diferentes densidades de plantio a campo, bem como a influência de fatores bióticos e abióticos no seu desenvolvimento. O trabalho foi desenvolvido no Setor de Olericultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2011. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial (3 x 11), sendo o fator 1 : densidades de plantio de 1; 0,8 e 0,6 m² planta⁻¹; e o fator 2: épocas de colheita (out/2010, nov/2010, dez/2010, jan/2011, fev/2011, mar/2011, abr/2011, mai/2011, jun/2011, ago/2011 e set/2011). As variáveis analisadas foram o teor de óleo essencial obtido por hidrodestilação para diferentes épocas de colheita e densidades de plantio; constituição química do óleo feita em Cromatógrafo a Gás para distintas épocas de colheita; produção de massa fresca por hectare e produção de óleo em litros por hectare para as densidades de plantio. Os resultados foram submetidos à análise de variância, testes de homogeneidade, e testes de comparação de médias. O teor de óleo essencial avaliado em diferentes épocas de colheita foi influenciado pela sazonalidade e condições climáticas do local. O mês de fevereiro resultou em maior teor médio de óleo essencial (0,5%). Em relação ao comportamento fenológico da espécie foi observado que em outubro, novembro e dezembro ocorre o período de floração da espécie, entre janeiro e fevereiro se dá o fim desse ciclo, com presença de apenas algumas flores nos ramos terminais. De março a maio, com a chegada do outono, ocorre perda mais acentuada de folhas. Nos meses de junho e julho a planta fica sem folhas, em estágio de dormência vegetativa, causada pelas baixas temperaturas. Em setembro a planta sai desta dormência, apresentando novas folhas e brotações, causada pelo aumento da temperatura, saída do inverno e entrada da primavera. Com plantio menos adensado (1 m² planta⁻¹) resultou em maior produção de óleo essencial (39,88 L ha⁻¹) e fitomassa fresca (12.660 kg ha⁻¹). O componente químico majoritário do óleo foi o citral.

Palavras-chave: Citral. Planta medicinal. Óleo essencial. Época de colheita. Espaçamento de Plantio.

ABSTRACT

VALMORBIDA, Raquel. **Yield and composition of essential oil cidró (*Aloysia citriodora*) due to seasonality and planting densities**. 2013. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013.

Aloysia citriodora is a medicinal plant rich in volatile oil, which serves as a raw material for pharmaceutical, cosmetic, food and therapy industries. This plant has a calming action, aids in digestion, and it is also used against diarrhea, asthma, migraine, fever and flu. The aim of this study was to evaluate the effect of seasonality on the production and chemical composition of the essential oil of *A. citriodora*, and quantify the essential oil content in different planting densities in the field, monitor the phenology of the species throughout the experiment and quantify the essential oil content in different planting densities in the field, as well as the influence of biotic and abiotic factors in its development. The study was conducted in the Department of Vegetable Crops Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, from January 2009 to December 2011. The experimental design was a randomized block design in a factorial (3 x 11), being factor 1: planting densities of 1, 0.8 and 0.6 m² plant⁻¹; and factor 2: harvest times (Oct/2010, Nov/2010, Dec/2010, Jan/2011, Feb/2011, Mar/2011, Apr/2011, May/2011, Jun/2011, and ago/2011 Sep/2011). The variables were the content of essential oil obtained by hydrodistillation for different harvest dates and planting densities, chemically made in the Oil Gas Chromatograph for different harvest times; fresh mass production per hectare and production of oil in liters per hectare for planting densities. The results were submitted to analysis of variance homogeneity tests, and comparison tests of means. The essential oil content measured at different harvest times was influenced by seasonal and climatic conditions of the place, having the month of February resulted in higher average content of essential oil (0.5%). In relation to the phenology of the species has been observed that in October, November and December is the flowering period of the species, between January and February is the end of this cycle, with the presence of only a few flowers in the terminal branches. From March to May, with the arrival of autumn, is more pronounced loss of leaves. During June and July the plant is leafless, dormant vegetative stage, caused by low temperatures. In September the plant comes out of this numbness, presenting new leaves and shoots, caused by increased temperature, output of winter and input of spring. Lower density planting (1 m² plant⁻¹) resulted in higher production of essential oil (39.88 L ha⁻¹) and fresh biomass (12,660 kg ha⁻¹). The major chemical constituent of the oil was citral.

Keywords: Citral. Medicinal plant. Essential oil. Harvest time. Density Planting.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1. 2 OBJETIVO GERAL	13
1.2.1 Objetivos Específicos	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 PLANTAS MEDICINAIS	14
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE	16
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS	18
2.4 A PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO BRASIL	19
2.5 INFLUÊNCIA DE FATORES BIÓTICOS NA BIOSÍNTESE DE ÓLEOS ESSENCIAIS	20
2.6 INFLUÊNCIA DE FATORES ABIÓTICOS NA BIOSÍNTESE DE ÓLEOS ESSENCIAIS	21
2.6.1 Sazonalidade	22
2.6.2 Densidade de Plantio	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL EM FUNÇÃO DAS ÉPOCAS DE COLHEITA	29
4.2 COMPONENTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>A. cidriodora</i>	34
4.3 DENSIDADE DE PLANTIO	36
5 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são utilizadas desde os tempos antigos pelos seus poderes curativos. Suas propriedades medicinais são devido a princípios ativos que são produzidos por metabolismos secundários das plantas. O Paraná apresenta uma ampla diversidade de espécies medicinais em sua flora, tendo largo o uso das mesmas, tanto pela população em geral (uso caseiro), como por indústrias especializadas. Sabe-se que há comprovação científica quanto aos princípios ativos das propriedades curativas da maioria das espécies que são usadas como medicinais. Neste contexto, a produção de plantas medicinais, aliada à pesquisa direcionada, apresenta-se como uma opção de renda para os agricultores familiares da região, diversificando os sistemas de produção local, principalmente, pelas maiores limitações para a produção de grãos, devido à estrutura necessária para tal.

Aloysia citriodora Palau (Verbenaceae) era denominada *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton pela antiga classificação botânica. Trata-se de um arbusto grande (2 a 3 metros), muito ramificado e ereto. É uma erva adstringente e aromática, provavelmente originária do Chile. É rica em óleo volátil, agindo como sedativo brando, também auxilia na digestão e contra resfriados. Em aromaterapia é usada contra problemas nervosos e digestivos e para acnes. Na culinária é servida como recheio de bolos, no preparo de licores, sucos, pães e para dar aroma às carnes. Também é usada para tratamento de melancolia, afecções do coração e histeria. Suas folhas retêm aroma de citral, mesmo depois da secagem, tornando-se um componente indispensável nos "potpourris" muito empregados para aromatizar ambientes. Além disso, esta espécie possui propriedade inseticida e bactericida (LORENZI; MATOS, 2008 p.523).

Seu óleo essencial já foi muito popular em perfumaria, mas atualmente diminuiu seu uso após a evidência de que pode sensibilizar a pele a ação do sol, sendo hoje substituído pelos óleos de capim cidreira do gênero *Cymbopogon* (LORENZI; MATOS, 2008 p.523). Além do seu uso como perfume, o citral, principal componente de seu óleo essencial, é empregado na síntese de ionona (perfume da violeta), beta-caroteno e vitamina A (CZEPAK; CRUCIOL, 2003 p.43).

O óleo essencial é proveniente do metabolismo secundário, já o metabolismo primário das plantas é um conjunto de processos metabólicos que

desempenham uma função essencial no vegetal, como a fotossíntese, respiração e translocação de solutos. O metabolismo secundário origina compostos que não possuem uma distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas, entretanto, desempenham um papel importante na interação das mesmas com o meio ambiente. Produtos secundários servem para proteger as plantas da herbivoria, patógenos, competição entre plantas, além de atrair polinizadores, dispersores de sementes e microorganismos simbiotes (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005, p.278).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os quatro grandes produtores mundiais. O mercado mundial desse produto gira em torno de US\$ 15 milhões por ano, apresentando crescimento aproximado de 11% ao ano. O Brasil aparece entre os principais países fornecedores dos óleos essenciais de laranja, limão, lima e outros cítricos, contribuindo com 5% do total de óleos importados e encontra-se entre os grandes exportadores internacionais (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009, p.588-594).

Taveira et al. (2003, p. 69-75) verificaram que a biossíntese dos óleos essenciais é influenciada por fatores climáticos, condições de solos e época de colheita. Dentre os fatores climáticos que interferem no cultivo das plantas, temos o fotoperíodo, a temperatura, vento, pluviosidade e a intensidade de radiação solar, que podem determinar a época ideal de colheita ou o local de cultivo, onde poderá se obter uma maior quantidade de óleo essencial e do princípio ativo desejado. O estágio de desenvolvimento da planta também interfere na produção de metabólitos secundários.

É importante obter informações que permitam conhecer os efeitos dos tratamentos culturais e de manejo utilizados no cultivo das plantas medicinais. A época de colheita da planta ao longo do ano interfere na quantidade e composição do óleo essencial, pois ocorrem bruscas variações climáticas ao longo das quatro estações do ano.

A densidade de plantio é um dos principais fatores que influencia o rendimento das culturas, pois determina a precocidade e a intensidade de sombreamento promovido pela cultura, bem como, o desenvolvimento de plantas daninhas, pela intensidade de sol que incide na área. Portanto, é necessário que

haja um equilíbrio entre produção e ocupação do solo no cultivo das plantas medicinais, para aumentar a produtividade e diminuir custos de tratamentos culturais.

A. citriodora possui importantes atividades farmacológicas e propriedades medicinais, além de largo uso comercial do óleo essencial, sendo uma espécie da qual existem poucas informações na literatura com relação aos aspectos agrônômicos, fenologia e dados de produção. Diante disso, há necessidade de se estabelecer técnicas apropriadas de cultivo desta planta, bem como de conhecer o seu comportamento visando estabelecer a época de maior produção de óleo essencial, que origine produtos de alta qualidade e de ação eficaz.

1.2 OBJETIVO GERAL

Objetivou-se com este trabalho obter informações a respeito do cultivo, produção e teor de óleo essencial de *A. citriodora*.

1.2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito de diferentes épocas do ano na produção e composição química do óleo essencial de *A. citriodora*;
- Acompanhar o comportamento fenológico da *A. citriodora* ao longo do experimento, bem como a influência de fatores bióticos e abióticos no seu desenvolvimento;
- Quantificar o teor de óleo essencial de *A. citriodora* em diferentes densidades de plantio a campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta sessão será apresentado um referencial descritivo sobre a espécie em estudo, bem como, a importância do óleo essencial e meio de cultivo. Além de descrever e apontar trabalhos já realizados que serviram de base para este trabalho.

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Segundo Ferreira (1998, p. 34), planta medicinal é aquela que possui atividade biológica, com um ou mais princípios ativos úteis à saúde. Sendo a utilização de medicamentos, derivados e chás a base destas plantas caracterizada como fitoterapia.

A utilização de plantas medicinais é instintiva dos animais, por exemplo, quando um cão está com dor de barriga, ele come algumas gramíneas, para aliviar seu problema. Outros animais silvestres buscam raízes, cascas, folhas ou frutos para resolver seus males. O homem com estas informações, pôde também aprender a usar as plantas em seu benefício. Hoje, busca-se parte desse conhecimento, esquecido pela civilização tecnocrata, em tribos indígenas e no resgate à medicina popular. Muitas plantas foram e serão selecionadas para estudos científicos, com base nesses conhecimentos (SARTÓRIO et al., 2000, p. 81).

Até a década de 50, o uso de plantas medicinais era mais intensivo. Com o advento da indústria farmacêutica, e a síntese de muitos princípios ativos em laboratório, houve maior procura por medicamentos sintéticos, e conseqüentemente diminuição de tratamento com fitoterápicos. Porém, esses medicamentos sintéticos causam muitos danos à saúde, como intoxicações, alergias, dentre outros efeitos colaterais diversos.

Outro fator relevante dos medicamentos sintéticos é seu alto valor, e com isso, tem se buscado nas últimas décadas intensificar o uso e cultivo das plantas medicinais, oferecendo as pessoas uma vida mais saudável. Os efeitos colaterais das plantas, quando comparado aos remédios químicos, são mínimos. Portanto, a agricultura orgânica, no cultivo das plantas medicinais, é mais adequada, pois

permite uma produção sustentável, evitando a contaminação do solo com agroquímicos, que, além disso, podem alterar a composição de princípios ativos das plantas medicinais (SARTÓRIO et al, 2000, p. 90).

O uso das plantas pode ocorrer em nível familiar ou em escala industrial. Se apenas para uso familiar, doméstico, elas podem estar cultivadas nos quintais das casas, ou áreas próximas. Em nível industrial há necessidade de grande quantidade de material vegetal, que passam por controle de qualidade.

Se a espécie é exótica, ela pode ser cultivada ou importada. Se for uma espécie nativa, também pode cultivá-la, porém, ela ainda é coletada em locais onde ocorrem naturalmente. Neste caso, conhecido como extrativismo, a intensidade de coleta e a não preocupação com a reposição das plantas podem levar ao desaparecimento das espécies locais (MING et al., 2002, p. 2). Entretanto, o extrativismo está perdendo espaço por causa da legislação sanitária e ambiental, além da pressão das indústrias por matérias-primas de qualidade e com regularidade de oferta. Havendo desta forma, a necessidade de pesquisas direcionadas à forma de produção e manejo destas espécies, pois estamos num momento em que as tecnologias de manejo agrícolas estão em contínuo avanço.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde - OMS, 80% da população mundial faz uso de medicamentos derivados de plantas medicinais, no Brasil pesquisas demonstram que mais de 90% da população já fez uso de alguma planta medicinal (ABIFISA, 2007). A riqueza da diversidade vegetal brasileira contribuiu para que a utilização das mesmas seja considerada uma área estratégica de desenvolvimento para o país.

O Paraná se destaca no sistema produtivo de plantas medicinais em âmbito nacional, por possuir forte tradição no cultivo da mesma. No início da década de 90 vários laboratórios da região de Curitiba intensificaram a fabricação de produtos a base de plantas medicinais, aromáticas e condimentares, aumentando a demanda regional por estas culturas. Contudo, a diversidade do clima e do solo do Estado permite o cultivo de um grande número de espécies dessas plantas, requeridas tanto no mercado interno quanto no mercado externo. O Estado do Paraná responde por 90% de toda a produção dessas plantas do País, aproximadamente 40 mil toneladas por ano, provenientes de três mil hectares plantados com diferentes culturas, movimentando cerca de R\$ 25 milhões por ano no Estado. (CORRÊA ; GRAÇA; SCHEFFER, 2004, p. 199).

As plantas medicinais apresentam muitas oportunidades, que se estendem desde a produção até a expedição do produto final, como extração de óleo essencial, indústrias de alimentos e bebidas, de cosméticos, de fitoterápicos, fitofármacos, corantes, dentre outros. No entanto, por falta de desenvolvimento e de iniciativas de programas governamentais numa ação integrada, com o objetivo de agregação de valor, melhoria de qualidade e promoção de seus produtos, a produção é quase toda transferida *in natura* para os atacadistas de São Paulo que, dessa forma, ficam com a maior parte dos ganhos. O Estado de São Paulo é considerado o grande centro de comercialização e um grande consumidor de plantas medicinais, tanto pelos consumidores finais de plantas secas, quanto pela indústria processadora, e laboratórios que estão, em sua maioria, lá localizados (BATALHA et al., 2003, p. 31).

Sabendo-se da importância destas plantas, no Brasil, o Ministério da Saúde tornou disponível a utilização de medicamentos fitoterápicos na saúde pública. Desde 2007, as prefeituras brasileiras podem adquirir algumas plantas para tratamento alternativo, distribuídos pelo SUS (Sistema Único de Saúde). Como por exemplo, espinheira santa, utilizada no tratamento de úlceras e gastrites, guaco para sintomas da gripe, ambos aprovados pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Através da Portaria interministerial (2.960/2008) assinada pelo Ministério da Saúde do Brasil e outros nove ministérios, criando assim o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, com objetivo de ampliar a utilização deste tipo de medicamento pelo SUS (PORTAL DA SAÚDE, 2012).

Atualmente, o estudo das plantas está muito difundido, dando espaço para o surgimento de diversos centros de pesquisa nessa área, principalmente nas faculdades de Farmácia e Ciências Agrônomicas. A cada dia apresentam-se novos trabalhos científicos sobre cultivo e manejo das plantas medicinais, bem como sobre sua produção, composição química, princípio ativo e ação terapêutica.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

A *A. citriodora* pertence a família botânica Verbenaceae, é um arbusto grande, muito ramificado, ereto, com aroma de citral, de 2 a 3m de altura, nativo da

América do Sul, provavelmente originária do Chile e amplamente cultivada no sul do Brasil. Apresenta folhas simples, verticiladas, em número de três ou quatro por nó, de 8 a 12cm de comprimento (Figura 1). Suas flores são de brancas à levemente rosadas, dispostas em inflorescências paniculadas terminais (LORENZI; MATOS, 2008 p.523).



Figura 1 - Imagem de *Aloysia citriodora* no local do experimento com detalhe de ramos apicais
Fonte: Autoria própria

É caracterizada como uma planta semi-rústica, com caule estriado, roliço e de coloração verde e vermelho, ficando lenhoso no segundo ano, apresenta folhas alongadas, pontiagudas de textura áspera. (CAVASSIN et al., 2000, p. 102).

A organização estrutural das folhas de *A. citriodora* revela epiderme adaxial com paredes anticlinais sinuosas. Nesta face, os tricomas tectores e glandulares estão presentes. A epiderme da face abaxial também possui paredes anticlinais sinuosas e periclinais externa, e grande incidência de estrias cuticulares. Estômatos do tipo anomocítico ocorrem apenas nesta face, caracterizando a folha como hipoestomática. Os mesmos tricomas glandulares ocorrem nesta face, porém, apenas os tectores estão presentes nas margens ou ao longo das nervuras (CAVASSIN et al., 2000, p. 104).

Em secção transversal, constata-se um extrato apenas de células epidérmicas em ambas as faces. O parênquima clorofiliano paliçádico é provido, normalmente, de dois estratos celulares. As nervuras de médio porte se caracterizam por apresentar extensão de bainha. O sistema vascular da nervura principal é formado por um único feixe, provido de câmbio, circundado por vários estratos de células esclerenquimáticas. Idioblastos contendo mucilagem ocorrem na região do parênquima da nervura principal entre a epiderme e o feixe vascular (CAVASSIN et al., 2000, p. 112).

2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são compostos voláteis, provenientes do metabolismo secundário das plantas, que contribuem para a sua sobrevivência, atuando na defesa contra herbívoros, fungos e bactérias, bem como na atração de polinizadores e dispersores de sementes. Os óleos essenciais estão presentes em diversos órgãos das plantas (flores, folhas, cascas, rizomas e frutos) e são extraídos por diferentes métodos, tais como arraste a vapor, hidrodestilação, prensagem e/ou solventes (SIMÕES et al., 2003, p. 227). Sendo, o método mais utilizado de hidrodestilação, que consiste na separação de componentes pela condensação do vapor liberado pela biomassa em contato com água que é aquecida. Como o óleo é mais denso do que a água, há uma separação do mesmo na coluna condensada.

Óleos essenciais são substâncias voláteis, também denominadas de óleos etéreos ou essências, são misturas complexas e apresentam as características de volatilidade e baixo peso molecular. Normalmente, são líquidos de aparência oleosa, odoríferas, solúveis em solventes orgânicos e em água têm solubilidade limitada (SIMÕES et al., 2003, p. 213).

Geralmente são incolores, amarelados, esverdeados, laranja fraco, ou até mesmo azul, como é o caso do óleo da camomila (*Matricaria recutita*). São pouco estáveis, principalmente em presença de ar, luz, calor, umidade e metais, sendo a maioria opticamente ativa, propriedades estas usadas na sua identificação e controle de qualidade (PINTO; BERTOLUCCI, 2002, p. 47). O óleo essencial da *A. citriodora* é de baixa viscosidade, e coloração amarelo claro.

Os componentes majoritários dos óleos essenciais pertencem à classe dos terpenos, que por serem altamente voláteis, contribuem para a fragrância ou essência das plantas que os produzem. Os óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas são matérias-primas de grande interesse de indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, e sendo, até mesmo usado em produtos terapêuticos, pois são formados por muitas substâncias orgânicas, como aldeídos, alcoóis, fenóis, ésteres e hidrocarbonetos (TAIZ; ZAIGER, 2009, p. 358-367).

Análises químicas do óleo essencial de *A. citriodora* revelaram a presença predominante de citral (neral + geranial), limoneno, nerolidol, alfa e beta pineno, cineol, etil-eugenol, linalol, ácido valeriânico, beta cariofileno, dentre outros em menor quantidade (LORENZI; MATOS, 2008 p.523; CAVASSIN et al., 2000 p. 132; SILVA, 2005 p.24; BELLAKHDAR et al., 1994 p. 523; GOMES et al. 2006).

2.4 A PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO BRASIL

A exploração comercial dos óleos essenciais no Brasil iniciou-se na década de 1920, tendo como base o extrativismo de essências nativas, principalmente de *Aniba roseodora* (pau-rosa), espécie de ocorrência no Amazonas e Pará, cujo óleo essencial é extraído da madeira e rico em linalol, utilizado pela indústria de perfumaria (MARQUES, 2008, p. 28). Sendo o Brasil, até hoje o único produtor de óleo essencial de pau-rosa do mundo.

Apesar da redução no número de fontes vegetais cultivadas em território brasileiro para a extração dos óleos essenciais, estes ainda são de grande importância para o país, pois suas exportações contribuem na redução do déficit apresentado pela balança comercial brasileira de produtos químicos, devido ao fato do Brasil ser o maior produtor mundial de óleo essencial de laranja, subproduto da indústria de suco (MARQUES, 2008, p. 28).

O Brasil se posiciona como o terceiro maior exportador de óleos essenciais do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos e França, tendo ultrapassado o Reino Unido em 2007. No entanto, desse volume, 91% consiste em óleo essencial de cítricos, principalmente laranja (80%). O Brasil produz e exporta por ordem de importância óleos de laranja, limão, eucalipto, pau-rosa, lima, capim-limão, menta,

entre outros (FERRAZ et al., 2009, p. 48). Porém, de 2010 pra 2011, o País tem diminuído as exportações de óleo (40%), por ter aumentado a demanda interna. Contudo, o Brasil ainda importa mais óleo do que exporta (TRADE, 2011).

O segmento de aditivos de uso industrial vem respondendo por 6,3% do total exportado em 2010, com US\$ 704 milhões e 361 mil toneladas. Os principais produtos exportados no segmento são sais do ácido glutâmico, lisina, outros óleos essenciais de laranja e subprodutos terpênicos residuais da desterpenação dos óleos essenciais. Juntos, esses quatro produtos correspondem a mais de 60% das exportações do segmento. Os aditivos industriais aqui descritos têm grande aplicação na indústria alimentícia e podem também ser utilizados para uso médico (BASTOS; COSTA, 2010, p.187).

A produção de óleos essenciais no Brasil não é somente viável, mas rentável. É importante ressaltar que incentivos governamentais são necessários, juntamente com parcerias com Centros de Pesquisa, Universidades e Iniciativa Privada, para que técnicas modernas de cultivo, seleção e melhoramento de plantas sejam desenvolvidas e aplicadas, de modo a se obter óleos essenciais de qualidade e preço para disputar o mercado internacional.

2.5 INFLUÊNCIA DE FATORES BIÓTICOS NA BIOSÍNTESE DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Fatores fisiológicos interferem severamente na produção de óleos essenciais. Variáveis, como idade da planta e ciclo fenológico são determinantes na quantidade e qualidade dos compostos químicos vegetais, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e ou reelaborados, para expressar respostas fisiológicas que caracterizam as fases de desenvolvimento da planta (MING et al., 2002, p. 8).

Chagas et al. (2011p. 412-417), em trabalhos com *Mentha arvensis*, constataram que aos 80 dias após o transplante ocorre decréscimo no teor de óleo essencial até um ponto mínimo estimado de 100 dias, e voltando a aumentar o teor até os 120 dias. Segundo os autores, esses resultados podem estar ligados ao

florescimento das plantas, que começou aos 88 dias, estando em pleno florescimento dos 95 aos 110 dias.

Leal et al. (2003, p. 61-64), estudaram o comportamento de *Cymbopogon citratus* (capim-cidreira) em diferentes idades das plantas, por meio das variáveis produção de biomassa e óleo essencial, observaram que o rendimento do óleo essencial decresceu linearmente à medida que a idade das plantas aumentava. O maior rendimento de matéria seca de folhas de *Catharanthus roseus* (vinca) foi obtido aos dois meses após o transplântio das mudas para o campo; após esta idade, a biomassa reduziu (FERREIRA, 2003, p. 37). Estas situações podem ser explicadas pelo desenvolvimento fisiológico da planta, que emite folhas em processo contínuo, havendo maturação e posterior senescência das folhas, que acabam por secar e cair dos ramos, diminuindo a biomassa obtida.

A idade e o estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar não apenas a quantidade total de metabólitos secundários produzidos, mas também a proporção destes compostos. Tecidos mais jovens geralmente apresentam grande atividade biossintética, aumentando a produção de vários compostos, dentre estes, os óleos essenciais (MORAIS, 2009, p. 3299). Porém, cada planta se comporta de maneira peculiar de acordo com sua característica genética e o ambiente onde está inserida, sendo necessários estudos detalhados para produção de óleos essenciais de acordo com características de cada planta e região.

2.6 INFLUÊNCIA DE FATORES ABIÓTICOS NA BIOSÍNTESE DE ÓLEOS ESSENCIAIS

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores podem trazer alterações significativas na produção dos metabólitos secundários, que representam uma interface química entre as plantas e o ambiente. Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocorrendo a biossíntese de diferentes compostos. Dentre estes fatores, podem-se ressaltar as interações planta/microrganismos, planta/insetos e planta/planta; idade e estágio de desenvolvimento.

Fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita, podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, exercendo influência conjunta no metabolismo secundário (MORAIS, 2009, p. 3299-3302). A interferência de alguns fatores abióticos no rendimento e na composição dos óleos essenciais será descrita a seguir.

2.6.1 Sazonalidade

A variação sazonal além de interferir no crescimento, desenvolvimento e fenologia da planta, também se expressa na quantidade de teores de princípios ativos nos vegetais, resultado da combinação dos fatores ambientais (temperatura, umidade, luz, vento, precipitação, comprimento do dia, radiação solar) que ocorrem de maneira diversificada ao longo das estações, e de acordo com cada região (PINTO; BERTOLUCCI, 2002, p. 47). Deve-se ressaltar que, nem sempre as estações do ano terão o mesmo comportamento, elas são passíveis de alterações. Pois, a ciência descobriu que o clima varia naturalmente, independentemente das ações antrópicas, porque, antes de qualquer coisa, o clima é dependente da intensidade da radiação solar, ou seja, da proximidade ou afastamento do Sol em relação à Terra, que oscila em certos períodos.

Brant et al. (2008, p.83-85) analisaram os efeitos de diferentes épocas de colheita sobre o conteúdo de óleo essencial das folhas de *A. citriodora* em Lavras-MG, sendo o maior teor de óleo essencial obtido em abril/2004 (0,27%). Já agosto foi a época de menor produção (0,02%). Gomes et al., (2006, p. 131-135) avaliaram o efeito da sazonalidade no teor do óleo para esta mesma espécie, essencial em Portugal, encontraram médias de 0,8% de óleo nas folhas e 0,08% no caule.

Ming et al., (2002, p. 11) avaliaram a produção de óleo essencial e a composição química de *Piper aduncum* L. (pimenta longa) em Andrianópolis – PR, e verificaram que ao longo de 15 meses, os maiores teores de óleo eram proporcionais aos meses de setembro à dezembro/2000 e janeiro a março/2001. Isso demonstra que a planta tem diferente produtividade ao longo do ano.

A época de colheita de determinado material vegetal deve ser feita visando, sobretudo, o teor máximo de óleos essenciais e de seus princípios ativos, para se obter o máximo de rentabilidade possível, e sem o qual o produto não teria valor na produção de fitoterápicos (TELLES, 2010 p. 29).

2.6.2 Densidade de Plantio

O espaçamento entre plantas ou densidade de plantio, é um dos principais fatores que influenciam no crescimento e rendimento das culturas, o qual, por sua vez, depende da produtividade individual da planta e da população de plantas por unidade de área (MARCO, et al., 2006, p. 33). O espaço que uma planta ocupa por unidade de área vai determinar a precocidade e a intensidade de sombreamento promovido pela cultura.

Plantios mais densos dificultam o desenvolvimento das plantas daninhas, as quais competem mais intensamente com a cultura na utilização dos fatores de produção, como água, luz e nutrientes (CARVALHO et al, 2009). Esses fatores possuem papel fundamental no crescimento, desenvolvimento e produção da planta, sendo a competição controlada pela densidade de plantas por área, o que poderá implicar em diferentes produtividades (TAIZ; ZEIGER, 2009, p. 197-211).

Marco et al. (2006, p. 32-36) avaliando o capim citronela (*Cymbopogon winterianus*) quanto ao rendimento de biomassa e de óleo essencial em três espaçamentos (0,5 x 0,5 m; 0,5 x 0,8 m e 0,8 x 0,8 m), verificaram que o menor espaçamento obteve maior rendimento de matéria seca e rendimento de óleo essencial.

Melo, et al. (2011, p. 230-234) pesquisando alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), em diferentes espaçamentos de plantio (1,0 x 0,5 m; 1,0 x 1,0 m; 1,5 x 1,0 m), observaram que o espaçamento de 1,0 x 0,5 m possibilitou uma maior produção de fitomassa e de óleo essencial.

É importante salientar que a definição do espaçamento deve levar em consideração a cultivar a ser estudada, pois cada espécie se comporta de maneira peculiar aos tratamentos culturais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Setor de Olericultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2011. O clima da região é classificado como Cfa subtropical úmido, sem estação seca definida e temperatura média do mês mais quente de 22°C. O solo local é do tipo Nitossolo Vermelho Distroférico (BHERING et al, 2008, p. 24). A análise do solo apresentou como características químicas na camada de 10 a 20 cm de profundidade: pH em água: 5,70; M.O. 41,55 g dm⁻³; P, Cu, Fe, Zn, Mn: 31,29; 6,67; 19,67; 7,89; 197,26 mg dm⁻³, respectivamente; Ca, Mg, K, SB, H+Al: 8,47; 2,78; 1,10; 12,35; 3,97 cmol_cdm⁻³, respectivamente; V(%)=75,67.

O material vegetal utilizado neste trabalho foi proveniente de planta matriz advinda do município de Toledo – PR, e identificado pela botânica Daniela Aparecida Estevan, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos. A exsicata esta incorporada no herbário desta mesma instituição sob o registro VALMORBIDA, R n° 1.

As mudas de *A. citriodora* avaliadas neste experimento foram produzidas em casa-de-vegetação, onde permaneceram por três meses, sendo irrigadas diariamente com regador manual. As estacas apicais de 10 cm de comprimento e 2 mm de diâmetro foram obtidas a partir de planta matriz advindas do município de Toledo – PR, e enraizadas em tubetes contendo o substrato comercial Plantmax®. E posteriormente, transplantadas a campo no dia 28 de março de 2009, quando atingiram 15 cm de altura e 3,5 mm de diâmetro de colo.

Ao todo foram transplantadas 240 mudas a campo, em 2 blocos compostos de 6 parcelas cada, de modo que, cada parcela foi composta de 20 plantas de *A. citriodora*. De acordo coma Figura 2.

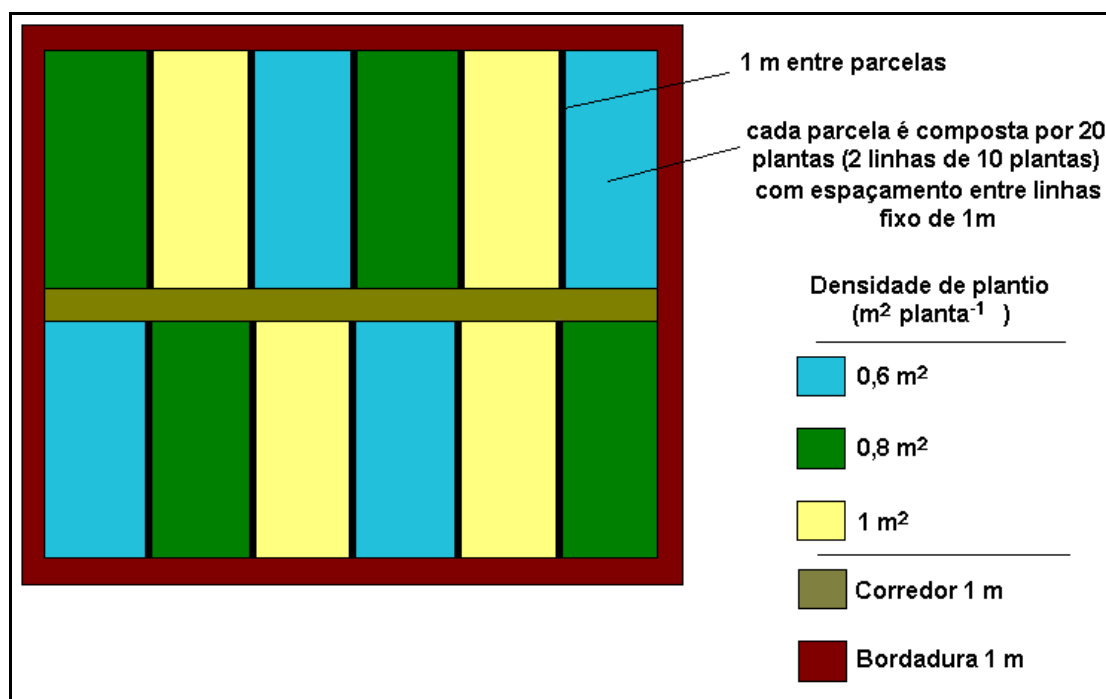


Figura 2 - Croqui da área experimental com *A. citriodora*
Fonte: Autoria própria

O cultivo dessas plantas seguiu os preceitos da agricultura orgânica, onde foram feitas adubações de plantio (2 litros/cova) e cobertura (2 litros/planta) com cama de aviário curtida. O controle de pragas, quando se fez necessário, foi realizado com aplicação de óleo de Neem (*Azadiractha indica*) e calda bordalesa. Foram realizadas capinas periódicas para evitar a competição com plantas daninhas, sem nenhum uso de agroquímicos. Estes procedimentos convieram para que não houvesse alterações dos constituintes químicos do óleo essencial da planta.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial (3 x 11), sendo o fator 1 : densidades de plantio de 1; 0,8 e 0,6 $\text{m}^2 \text{ planta}^{-1}$ que correspondem à espaçamentos de 1,0 x 1,0 m; 1,0 x 0,8 m e 1,0 x 0,6 m entre linhas e entre plantas, respectivamente; e o fator 2: épocas de colheita (out/2010, nov/2010, dez/2010, jan/2011, fev/2011, mar/2011, abr/2011, mai/2011, jun/2011, ago/2011 e set/2011) que corresponderam a 570, 600, 630, 660, 690, 720, 750, 780, 810, 870, 900 dias após o transplante (DAT), respectivamente. Em jul/2011 não foram realizadas extrações de óleo essencial, porque não havia folhas suficientes, em decorrência da formação de geadas neste período.

As variáveis analisadas foram o teor de óleo essencial em diferentes épocas de colheita e para as diferentes densidades de plantio, obtido por meio de extração

de componentes voláteis realizado em aparelho modificado do tipo Clevenger (método de hidrodestilação) (Figura 3).

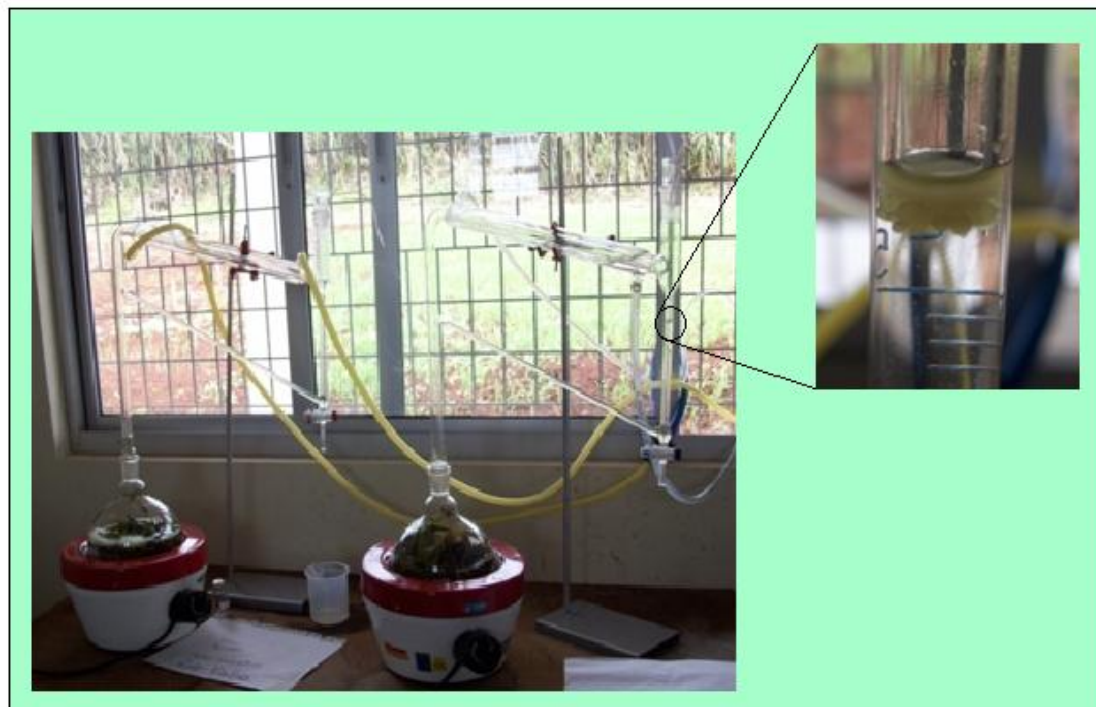


Figura 3 - Aparelho do tipo Clevenger com detalhe da coluna de condensação de óleo essencial

Fonte: Autoria própria

Para preparo das amostras para extração foi utilizado (três galho por planta, nas regiões apical, mediana e basal da planta) de 70g de folhas frescas sadias, pesada em balança de precisão e picadas em frações de aproximadamente um centímetro (Figura 4). O tempo de destilação de cada amostra foi de duas horas. Após a obtenção do óleo essencial foi obtido sua massa com balança analítica precisão, e posteriormente seu teor, calculado pela fórmula (1):

$$T (\%) = \text{Massa do óleo (g)} / 70\text{g} \times 100 \quad (1)$$



Figura 4 - Balança analítica de precisão (esquerda) e preparo de amostras para extração de óleo (direita)

Fonte: Autoria própria

Também foram analisados os dados meteorológicos ao longo de todo período de extração, que foram obtidos da estação meteorológica localizada na UTFPR – Campus Dois Vizinhos.

A constituição química do óleo essencial para nove épocas de colheita foi avaliada em Cromatógrafo a Gás HP5890, equipado com detector por ionização de chamas. Utilizou-se uma coluna BP-1 (SGE) 25m X 0,25mm com gradiente de temperatura: 60°C, 1min, 3°C/min até 220°C; injetor (split de 1/50) a 220°C e detector a 220°C. Hidrogênio como gás de arraste (2 ml min⁻¹) e volume de injeção de 1µl. Amostras foram diluídas a 1,0 % em clorofórmio. A identificação dos picos foi feita por cálculo de índice de retenção com padrões de hidrocarbonetos lineares de C10 a C18 e comparação com dados de literatura (ADAMS, 2001).

Em novembro de 2011, coletaram-se três plantas inteiras de cada densidade de plantio para calcular a produção de fitomassa fresca por hectare (MF), como demonstra a equação (2) e, a produção de óleo essencial em litros por hectare (PO), explanada na equação (3) para cada densidade de plantio.

$$\mathbf{MF \text{ (kg ha}^{-1}\text{)} = PF * PH} \quad (2)$$

Sendo PH o número de plantas por hectare, e PF média das três plantas inteiras frescas em kg.

$$\mathbf{PO \text{ (L ha}^{-1}\text{)} = (O * MF) / 100 * 0,9} \quad (3)$$

Sendo O a média de produção de óleo essencial em percentagem e MF a massa fresca em kg ha^{-1} , resultante da equação (2). A constante 0,9 é a densidade do óleo em kg L^{-1} e, a constante 100 serve para transformar a produção de óleo de percentagem para kg .

Os resultados do teor de óleo essencial foram submetidos à análise de variância com auxílio do programa “SAS” (SAS INSTITUTE, 1999). As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa entre épocas de colheita e densidade de plantio. Perante isto, se fez necessário a realização de testes de comparação de médias para cada fator separadamente.

4.1 TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL EM FUNÇÃO DAS ÉPOCAS DE COLHEITA

O teor de óleo essencial de *A. citriodora* extraído por hidrodestilação variou de acordo com a época do ano.

O maior teor de óleo essencial (0,50%) foi obtido em fevereiro de 2010, porém este não diferiu estatisticamente de out/10, nov/10 e set/11 (Figura 5).

Em fev/10 a planta estava no fim do ciclo reprodutivo, e com isso, emitindo novas brotações. Sabe-se que tecidos mais jovens geralmente apresentam grande atividade biossintética, aumentando a produção de vários compostos, dentre estes, os óleos essenciais (MORAIS, 2009, p. 3300). Neste mês houve precipitação de 186 mm, temperatura média de 23,3 °C, e radiação de 830 kJ m⁻² (Figura 6 e 7), os quais podem ter contribuído para este melhor rendimento.

Além disso, outros fatores atuaram para esse resultado, constatou-se que nessa época a planta estava em condição de estresse, causada pelo ataque de um inseto sugador, da ordem Hemiptera, Família Rhopalidae e, provavelmente do Gênero *Corizus*, ou seja, um percevejo, que causa lesões nas folhas. Com isso a planta acionou seu mecanismo natural de defesa, tentando repeli-lo priorizando o metabolismo secundário, e conseqüentemente produzindo mais óleo essencial. Mattos; Innecco (2002 p. 15-18) relatam que o óleo essencial de uma planta é proveniente do metabolismo secundário, sendo assim, bastante influenciado por fatores abióticos, como clima, e estresse. Ming et al. (1998, p. 170) também preconiza que, em condições de estresse, como ataque de patógenos, há maior produção de óleo essencial. Além disso, Taiz; Zeiger (2009, p. 355) afirmam que as plantas se protegem por meio de metabólicos secundários, como os terpenos voláteis, que são tóxicos e deterrentes para muitos insetos e mamíferos herbívoros.

Tais substâncias repelem herbívoros ovipositores e atraem inimigos naturais, incluindo insetos predadores e parasitas, que matam os insetos herbívoros e, evitando assim, que essas plantas sofram danos maiores (KESSLER; BALDWIN, 2001, p. 2141-2144).

Em out; nov/10 e set/11, os teores de óleo essencial de *A. citriodora* obtidos foram de 0,34; 0,31 e 0,35%, respectivamente (Figura 5). Nestes períodos a espécie estava em floração, sintetizando mais metabólitos secundários para atração de polinizadores. A planta sintetiza óleo tanto nas folhas, quanto nas flores, pois elas também possuem estruturas sintetizadoras de óleo essencial (TAIZ; ZEIGER, 2009, p. 394). Nestes meses foi observado odor característico de citral mais acentuado. De forma semelhante, Souza et al. (2007, p. 108-110) estudando alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) observou correlação positiva entre o número de inflorescências e o teor de óleo essencial ($r = 61,41\%$). Gupta et al. (2002 p. 217-224) em estudo com *Artemisia annua*, obteve a maior porcentagem de óleo essencial à partir de plantas em floração. Isto indica que o florescimento coincide com altos teores de óleo, o que tem sido observado em muitas espécies exóticas (MARTINS et al., 1994 p. 170).

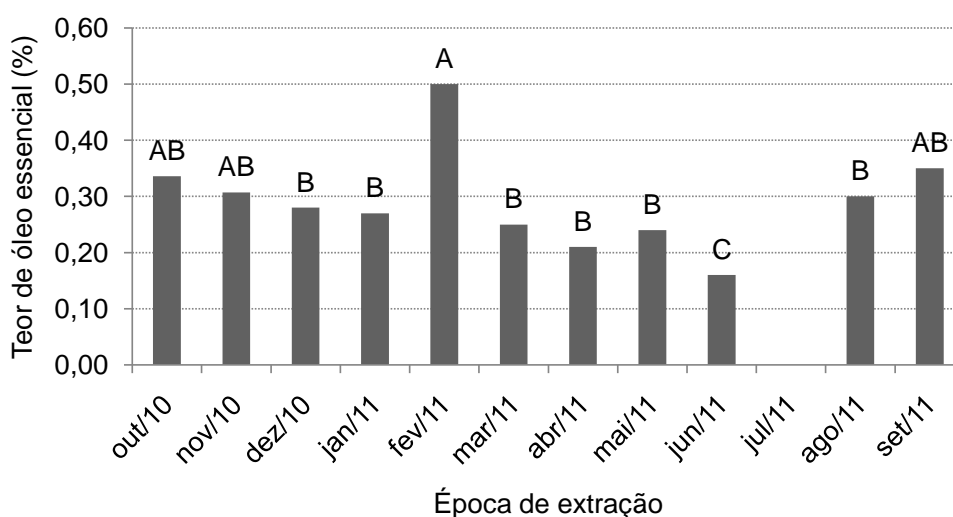


Figura 5 - Teor de óleo essencial de *A. citriodora* em função das épocas de colheita
 *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, $p < 0,05$
 Fonte: Autoria própria

Especificamente em set/11, com o início da primavera, a temperatura média mensal teve um acréscimo de $2,5^{\circ}\text{C}$ em relação ao mês anterior, indo para 19°C (Figura 5). A planta havia retomado o crescimento vegetativo, com folhas longas e

jovens, e dava início ao período de floração. De maneira semelhante, Nogueira et al. (2007, p. 255), obtiveram maiores produções de óleos voláteis nas plantas de erva-cidreira quando colhidas na primavera (0,54 %) e no verão (0,3%), de acordo com os autores o florescimento induziu a produção de maior quantidade de óleo.

Os teores médios de óleo essencial encontrados em dez/10, jan; mar; abr; mai e ago/11 não diferiram estatisticamente entre si (Figura 5).

Nos meses de dez/10 e jan/11 *A. citriodora* produziu 0,28 e 0,27% de óleo essencial (Figura 5), valores inferiores aos encontrados nos meses anteriores (out e nov/10). Isto se deu pelo fato de que a planta estava no fim do ciclo de florescimento, onde, havia poucas flores nos ramos terminais, e perda de folhas basais mais velhas, para posterior emissão de novos brotos.

Os teores médios de óleo essencial encontrados em março, abril e maio de 2011 foram de 0,25, 0,21 e 0,24% respectivamente. Neste período a produção de óleo essencial foi possivelmente influenciada por fatores climáticos, pois houve redução da precipitação nestes meses, chovendo 70,8 mm em março, 104,8 mm abril e apenas 31 mm maio, com gradativa redução da temperatura e radiação (Figura 6 e 7).

É importante considerar que as plantas de *A. citriodora* iniciam perda mais acentuada das folhas nos meses de abril e maio, e começam a entrar em um período de dormência vegetativa, se preparando para chegada do inverno, onde, as gemas ficam dormentes até que as condições climáticas voltem a ser favoráveis para seu desenvolvimento. Possivelmente, os teores mais baixos de óleo essencial nos meses de março, abril e maio estejam ligados a esses fatores fisiológicos e de clima. Isso implica num ajuste de época de colheita, que deve ser realizada antes da abscisão das folhas.

Por outro lado, Brant et al. (2008, p.84) em ensaios de sazonalidade com *A. citriodora* em Lavras-MG obtiveram maior teor de óleo em abr/04 (0,27%). Isto ocorreu pelo fato da planta reagir diferente de acordo com estímulos ambientais e condições de cultivo a que está inserida, e esse comportamento é mais evidente quando se trata de regiões de cultivo diferentes, e de genótipos distintos. De forma semelhante Camêlo et al. (2011, p. 1-8) comprovou isto avaliando o potencial agrônomo de diferentes acessos de *Lippia alba* provenientes de regiões distintas (Bahia, Rio de Janeiro e Ceará), onde, constataram diferenças significativas na produção de óleo essencial. A interferência dessas variações no fenótipo da planta é

classicamente representada pela localidade de cultivo, genótipos e idades diferentes, bem como, da interação destes três fatores (BORÉM; MIRANDA, 2005 p. 317).

Em agosto, observou-se um aumento no teor médio de óleo essencial de 0,14%, em relação a junho (Figura 5). Nesta época, as plantas estavam saindo da fase de dormência vegetativa que, haviam estado no período de frio mais intenso daquele ano, e começavam a retomar o crescimento. *A. citriodora* estava emitindo folhas e brotações jovens, pois houve aumento da temperatura média e precipitação acumulada (16,5°C e 251 mm) em relação a junho (14,5°C e 142 mm) (Figura 5).

Estes resultados estão de acordo com Brant et al. (2008, p.83), que em ensaio com *A. citriodora* obtiveram menores teores de óleo essencial em agosto (0,02%), devido a baixas temperaturas (15,7°C). Também Atti et al. (2002, p. 72-74), verificaram variação no teor de óleo essencial de *Lippia alba* em diferentes épocas do ano coletadas em Caxias do Sul, com menor rendimento em óleo nos meses de junho a agosto, onde foram registradas as menores temperaturas. Sabe-se ainda que a atividade de insetos em períodos mais frios é menor, portanto, a necessidade de produção de metabólicos secundários para defesa também diminui (MURTAGH, 1996, p.821).

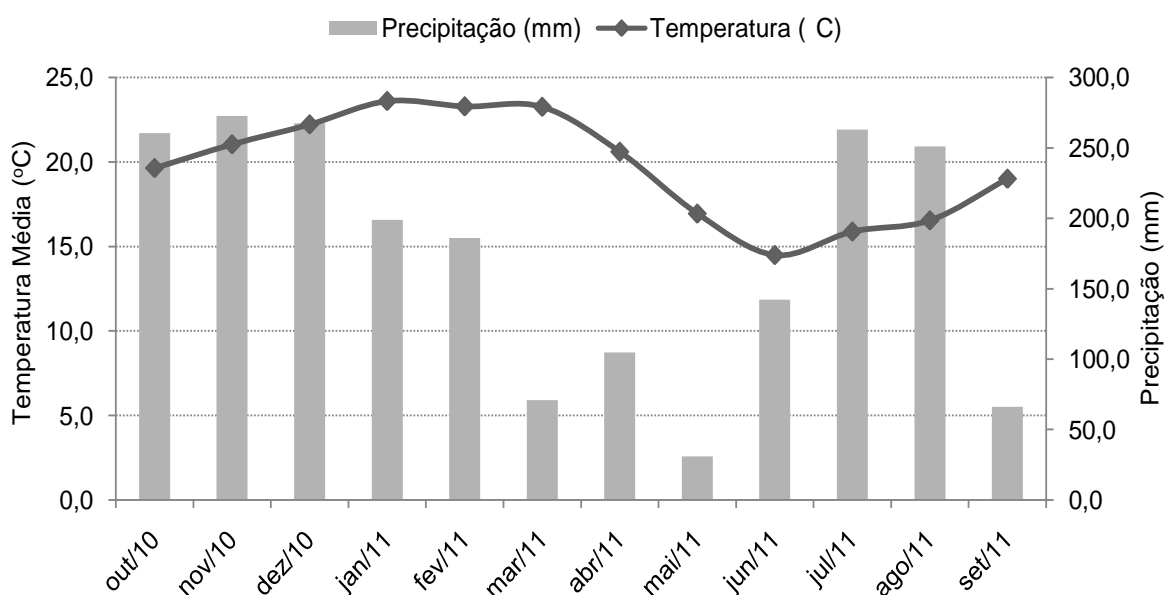


Figura 6 - Dados climáticos de Temperatura Média e Precipitação Acumulada de out/10 à set/2011

Fonte: Estação metereológica localizada na UTFPR – Campus Dois Vizinhos (2010-2011)

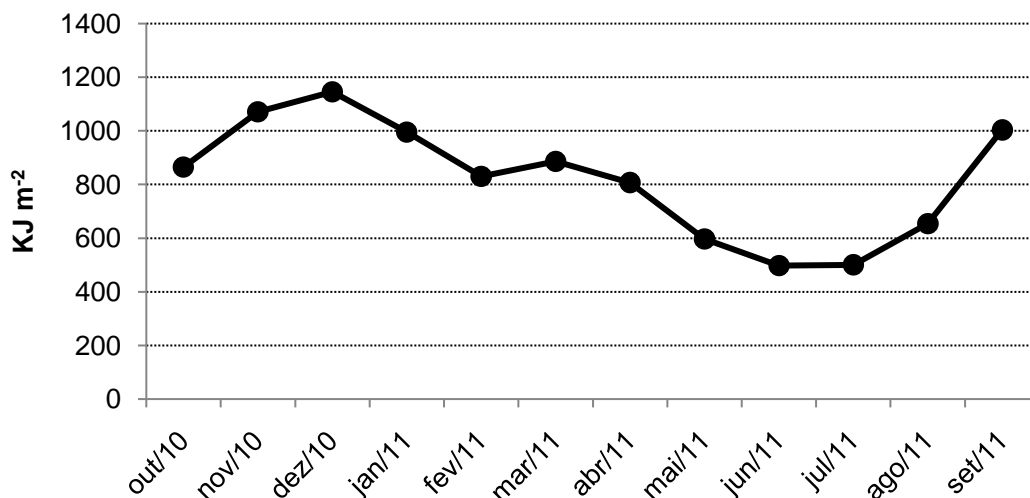


Figura 7 - Dados de radiação solar média de out/10 à set/11

Fonte: Estação metereológica localizada na UTFPR – Campus Dois Vizinhos (2010-2011)

O mês de junho de 2011 apresentou o menor teor médio de óleo essencial (0,16%), sendo estatisticamente inferior aos demais tratamentos. Como era inverno, a planta havia perdido a maioria das folhas, como demonstra Figura 8, e as gemas estavam agora em estado de dormência vegetativa, e voltariam a brotar somente na primavera, quando o clima fosse mais adequado para seu desenvolvimento. O mês de junho foi o mais frio do ano de 2011, com registros de baixa temperatura (14,5 °C) e baixa radiação (496,8 kJ m⁻²). Verificou-se, portanto que, a produção de óleo essencial tende a diminuir quando a temperatura e radiação são menores, sendo a radiação um importante fator que interfere diretamente sobre o crescimento e desenvolvimento da planta através da fotossíntese, da modulação do fotoperíodo, da qualidade da luz, e indiretamente, pelos efeitos na temperatura, que intervêm na produção de biomassa e na qualidade dos óleos essenciais (SANGWAN et al., 2001, p. 3-21). Isso evidencia que as condições climáticas podem influenciar o teor dos princípios ativos nas plantas medicinais (CORRÊA JUNIOR; GRAÇA; SCHEFFER, 2004 p.194).

Provavelmente, isso ocorreu devido à ativação do mecanismo natural de economia energética, que prioriza o metabolismo primário em detrimento ao metabolismo secundário quando há queda de temperatura (TAIZ; ZEIGER, 2009, p. 389).



Figura 8 - *A. citriodora* com acentuada perda de folhas no inverno (esquerda), e com densa folhagem no verão (direita), 2011
Fonte: Autoria própria

4.2 COMPONENTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *A. citriodora*

A identificação dos componentes químicos do óleo essencial foi realizada em nove diferentes meses de coleta, que estão explanados na Tabela 1. Dentre os componentes determinados nas amostras analisadas, os de maior concentração em todas as épocas foram o geranial (26,11 a 37,35%), neral (18,02 a 29,31%), limoneno (9,21 a 15,77%) e nerolidol (2,20 a 24,34%), sendo estes os constituintes de maior interesse para indústria farmacêutica, de cosméticos e alimentícia. Este resultado está de acordo com Sartoratto et al. (2004, p. 275-280), Cavassin et al. (2000, p. 138) e Gomes et al. (2006, p. 133).

O citral (geranial + neral), componente de maior proporção do óleo de *A. citriodora* variou de 44,13% em junho a 66,47% em janeiro. Resultado semelhante foi verificado por Silva (2005, p. 31), que em análise química das folhas de *A. citriodora* encontrou presença de 50% de citral. Do mesmo modo, Bellakhdar et al. (1994 p. 523) pesquisando esta espécie encontraram como composto majoritário o citral, que equivaleu de 10 a 40% do óleo.

Verificou-se que a época do ano de maior síntese de óleo essencial (fev/11), foi também a que apresentou maior número de componentes químicos (19). Todos pertencentes à classe dos terpenos, que atuam na defesa contra herbívoros. Os terpenos constituem a maior classe de metabólitos secundários, e são armazenados nos tricomas glandulares (TAIZ; ZEIGER, 2009, p.356).

Verificou-se que os teores de citral aumentaram nos meses em que a temperatura foi mais elevada (jan e mar/11), e diminuíram nos meses de maio e junho, quando houve decréscimo da temperatura, radiação solar e comprimento do dia (Figura 5 e 6; Tabela 1). A temperatura e a radiação solar são fatores importantes para a atividade enzimática. Elas variam de acordo com a sazonalidade, podendo justificar o aumento do rendimento de óleo essencial, e também da produção de certos constituintes, como o citral, em épocas do ano que há temperaturas mais elevadas. Comparativamente, Nagao et al. (2004, p. 355-360) em Pentecostes - CE, obtiveram maior quantidade de citral (54,5%) de *Lippia Alba*, planta da mesma família de *A. citriodora*, quando colhidas nas horas mais quentes do dia.

Os terpenóides, como o citral, apresentam diversas funções nos vegetais, sendo as mais comuns a proteção contra herbívoros, agentes microbianos e atração de polinizadores. Porém, há outras funções ainda pouco estabelecidas para estes, que envolvem efeitos de termo-proteção, foto-respiração à altas temperaturas e foto-proteção (OWEN; PEÑUELAS, 2005 p.424).

Em maio e junho além da diminuição na proporção de citral, houve decréscimo no teor de limoneno e, aumento de nerolidol (Tabela 1). Isto pode ter ocorrido devido as plantas através de mecanismos de controle da rota biossintética favorecem a produção de determinados constituintes, dependendo de suas necessidades (TAIZ; ZEIGER, 2009, p. 368). Isto pode ter ocorrido porque neste período as temperaturas médias foram mais baixas, e a planta estava entrando em dormência vegetativa, período onde há abscisão das folhas, e por consequência diminuição no teor de óleo essencial e componentes do mesmo, pois a planta prioriza o metabolismo primário.

Tabela 1 - Componentes químicos do óleo essencial de *A. citriodora* em diferentes épocas de colheita com densidade de plantio de 1m² planta⁻¹

Componentes	nov/10	dez/10	jan/11	fev/11	mar/11	mai/11	jun/11	ago/11	set/11
	%								
geranial	36,96	35,17	37,16	31,11	37,35	29,39	26,11	35,80	35,50
neral	28,60	28,19	29,31	25,13	29,04	20,30	18,02	27,80	27,10
Citral (neral + geranial)	65,56	63,36	66,47	56,24	66,39	49,69	44,13	63,60	62,60
limoneno	14,24	14,10	13,82	15,77	13,35	9,21	11,20	9,70	12,80
nerolidol	4,58	5,23	6,58	2,68	6,14	14,90	24,34	2,30	2,20
acetato geranila	2,72	2,32	2,35	1,24	2,70	1,87	2,98	2,00	2,10
linalool	0,93	0,87	0,92	0,87	1,05	0,67	0,72	0,70	0,60
terpinen-4ol	0,71	1,01	0,75	1,07	0,77	0,85	0,61	1,50	1,70
trans oxido limoneno	0,81	0,81	1,01	0,74	0,68	0,44	0,53	1,30	1,50
cis oxido limoneno	0,33	0,31	0,37	0,29	0,29	0,27	0,33	0,30	0,40
ar-curcumeno	1,42	*	1,62	1,42	1,09	6,24	2,36	2,70	2,20
a-pineno	*	*	0,60	0,64	*	*	*	0,10	0,10
b-pineno	0,71	0,74	*	1,81	0,73	0,83	1,38	0,90	1,40
cariofileno	2,57	2,56	*	2,27	1,79	1,70	0,54	2,80	2,20
a*terpineol	*	0,44	0,36	1,06	*	1,45	0,53	0,40	0,30
E-B-ocimeno	0,62	0,96	0,48	2,40	0,47	*	*	2,10	1,60
zingibereno	0,80	0,95	0,22	2,33	0,27	*	*	2,10	1,40
sabineno	*	*	*	1,75	*	0,34	*	*	*
germacreno d	*	1,66	*	1,72	*	*	*	*	*
mircenol	*	*	*	0,44	*	*	*	0,40	0,40

* Componente químico ausente naquela época

Fonte: Autoria própria

4.3 DENSIDADE DE PLANTIO

Conforme os resultados da Figura 9 constata-se que, com a densidade de plantio 1m² planta⁻¹ se obteve o maior teor médio de óleo essencial (0,35%), os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, com teores de 0,28 e 0,27% para as densidades 0,8 e 0,6m² planta⁻¹, respectivamente. Nas condições que o estudo foi desenvolvido, o maior espaçamento entre plantas proporcionou maior teor de óleo e, contribuiu para o crescimento das mesmas em altura e conseqüentemente em massa verde (Tabela 2).

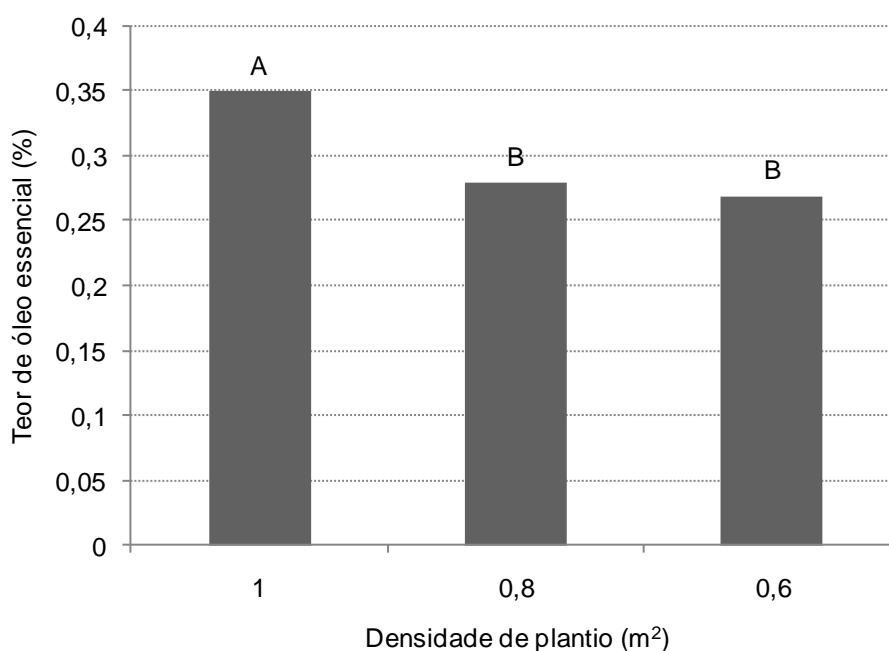


Figura 9 - Teor de óleo essencial de *A. citriodora* em função da densidade de plantio a campo

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, $p < 0,05$.

Com relação a produção de massa fresca e óleo essencial por área, constatou-se que o maior rendimento de massa fresca se obteve com a densidade de plantio $1 \text{ m}^2 \text{ planta}^{-1}$ ($12.660 \text{ kg ha}^{-1}$), mesmo tendo menor quantidade de plantas por unidade de área (Tabela 2). Isso demonstra que o plantio menos adensado para essa cultura, proporcionou maior ganho de biomassa nas plantas, além de maior produção de óleo essencial ($39,88 \text{ L ha}^{-1}$).

Tabela 2 - Rendimento de massa fresca (kg ha^{-1}) e produção de óleo essencial (L ha^{-1}) de *A. citriodora* cultivada em três densidades de plantio a campo

Densidade de plantio ($\text{m}^2 \text{ planta}^{-1}$)	Densidade populacional (plantas ha^{-1})	Massa verde (Kg ha^{-1})	Óleo essencial (L ha^{-1})
1	10.000	12.660 a	39,88 a
0,8	12.500	10.150 b	25,58 b
0,6	16.667	7.233 c	17,58 c

*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, $p < 0,05$

Estes resultados condizem com Monteiro et al. (2011 p.405); Marco et al. (2006 p. 32) e Melo et al. (2011 p. 233) estudando menta, capim citronela e alecrim pimenta, respectivamente. Onde, a densidade de plantio que produziu mais fitomassa também produziu maior quantidade de óleo.

Porém, é importante salientar que a escolha da densidade de plantio deve levar em consideração a cultivar a ser estudada, pois cada espécie se comporta de maneira peculiar. *A. citriodora* é uma planta perene e arbustiva, que possui muitas ramificações laterais, portanto, necessita de densidades de plantio menores para expressar seu potencial produtivo.

5 CONCLUSÕES

- Conclui-se que a época de colheita é determinada em função da sazonalidade e das condições climáticas do local;

- O mês de fevereiro resultou em maior teor de óleo essencial de *Aloysia citriodora*;

- Em relação ao comportamento fenológico da espécie foi observado que em outubro, novembro e dezembro ocorre o período de floração. Em janeiro e fevereiro se dá o fim do florescimento com presença de apenas algumas flores nos ramos terminais. De março a maio, com a chegada do outono, ocorre perda mais acentuada de folhas. Nos meses de junho e julho a planta fica sem folhas, em estágio de dormência vegetativa, causada pelas baixas temperaturas. Em setembro a planta sai desta dormência, apresentando novas folhas e brotações, causada pelo aumento da temperatura, saída do inverno e entrada da primavera.

- A densidade de plantio de 1 m² planta⁻¹ resultou em maior produção de óleo essencial (39,88 L ha⁻¹) e fitomassa fresca (12.660 kg ha⁻¹);

- A quantidade dos componentes químicos do óleo essencial de *A. citriodora* varia de acordo com as épocas de colheita, tendo como componente majoritário o Citral em todas as épocas de extração.

REFERÊNCIAS

ABIFISA - Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico. **Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde**. 2007. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br>>. Acesso em: 15 nov. 2012.

ATTI, Serafini L, et al. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. grown in southern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.4, p. 72-74, 2002.

BASTOS, Valéria Delgado; COSTA, Letícia Magalhães da. **Déficit comercial, exportações e perspectivas da indústria química brasileira**. Química *BNDES Setorial* 33, p 163-206, 2010.

BATALHA, Mário Otávio, et al. Plantas medicinais no Estado de São Paulo: situação atual, perspectivas e entraves ao desenvolvimento. **Florestar Estatístico**, v. 6, n. 15. Botucatu, SP, p. 27-36, agosto, 2003.

BELLAKHDAR, J.; IDRISSE, A. I.. Composition of lemon verbena (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) oil of Moroccan origin. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, p. 523-526. 1994.

BHERING, Silvio Barge, et al. **Mapa de solos do Estado do Paraná: legenda atualizada**. 1. ed. Rio de Janeiro : *EMBRAPA/IAPAR*. 2008. 74p.

BIZZO, Humberto R.; HOVELL, Ana Maria C. e REZENDE, Cláudia M.. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo. v.32, n.3, p.588-594, 2009.

BORÉM, Aluizio; MIRANDA, Glauco Vieira. **Melhoramento de plantas**. 4.ed. Viçosa: Editora UFV, 2005. 525 p.

BRANT, Renata Silva, et al. Teor do óleo essencial de cidrão [*Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton] em função da variação sazonal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.2, p.83-88, 2008.

CAMÉLO, Lídia Cristina Alves et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de ervacideira- brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br]. **Scientia Plena**, v. 7, n. 5, 2011 p 1-8.

CASTRO, Paulo Roberto de Camargo; KLUGE, Ricardo Alfredo; PERES, Lázaro Eustáquio Pereira. **Manual de Fisiologia Vegetal: Teoria e Prática**. Piracicaba: editora Agronômica Ceres , 2005, 650 p.

CAVASSIN, Tânia Alencar, et al. Caracterização química de óleo essencial de parte aérea de *Aloysia citriodora*, Britton, Verbenácea, via CG/MS-MSD e sua conseguinte descrição anátomo-morfológica. **Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. n. 16., Recife UFPE, 2000.150 p.

CHAGAS, Jorge Henrique; PINTO, Jose Eduardo Brasil Pereira; BERTOLUCCI, Suzan Kelly Vilela; SANTOS, Fúlvia Maria do. Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função da idade e época de colheita em plantas de hortelã-japonesa. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.3, p. 412-417. 2011.

CORRÊA JUNIOR, Cirrino GRAÇA, Luiz Roberto; SCHEFFER, Marianne Christina. **Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnóstico e perspectivas**. Curitiba: PR; Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 272 p.

CZEPAK, Márcio Paulo; CRUCIOL, Carlos Alexandre Costa. Produtividade e composição do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF) em diferentes arranjos espaciais. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: DIAGNÓSTICO E PERSPECTIVAS. Campinas. **Anais...** Instituto Agrônômico, p.113, 2003.

FERRAZ, José Bento Stermann, et al. Perfumes da floresta Amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. **Ciência e Cultura**, v. 61, n. 3, p. 45-53, 2009.

FERREIRA, Sérgio Henrique. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Rio de Janeiro: **Academia Brasileira de Ciências**, p. 133, 1998 Disponível em: <<http://www.abc.org.br/arquivos.html>>. Acesso em: 15 mai. 2012.

FERREIRA, M. S. C. **Estudo farmacológico do *Cymbopogon citratus* (D>C>) Stapf**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, p. 46, 2003.

GUPTA, Shiv K; et al. Morphogenetic variation for artemisin and volatile oil in *Artemisia annua*. **Industrial Crops and Products**, v.16. p. 217-224, 2002.

GOMES, Paulo C. S., et al. Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of lemon verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.8, n.esp., p.130-135, 2006.

KESSLER, André.; BALDWIN, Ian T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. **Science**,. v.291, n.5511, p.2141-2144, 16 mar, 2001.

LEAL, T.C.A.B. et al. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, n.2, p.61-64, 2003.

LORENZI, Harri.; MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2.ed. p.523, 2008.

MARCO, Cláudia Araújo; et al. Influência de espaçamento, altura e época de corte no rendimento da biomassa e óleo essencial na cultura de capim citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.). **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.32-36, 2006.

MARTINS, Ernane Ronie; et al. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária. 1994. 220p.

MARQUES, Márcia Ortiz Mayo. **Bioprospecção do potencial aromático de espécies nativas do bioma Mata Atlântica no estado de São Paulo: ocorrência, taxonomia, caracterização química, genética e fisiológica de populações**. BV-CDI FAPESP, SAA São Paulo, IAC e Natura Inovação e Tecnologia de Produtos Ltda. Cajamar, SP, p. 29, 2008.

MATTOS, Sérgio H.; INNECCO, Renato. Idade ideal de corte da *Mentha arvensis* L. como produtora de óleo essencial e mentol para o Estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 1, p. 15-18, 2002.

MELO, M. Túlio P; et al. Produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) em diferentes espaçamentos de plantio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.13, n.2. p. 230-234, 2011.

MING, Lin Chau; et al. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**: avanços na pesquisa agronômica. Botucatu: Unesp, v. 1, p. 165-191, 1998.

MING, Lin Chau; et al. Produção sazonal de óleo essencial em uma população natural de *Piper aduncum* L. em Adrianópolis – PR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p. 11, jul. 2002.

MONTEIRO, Rodrigo et al . Desenvolvimento vegetativo de *Mentha campestris* Schur e produção de mentol em diferentes espaçamentos de plantio e épocas de colheita. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p.401-407, 2011.

MORAIS, Lilia Aparecida Salgado de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 3299-3302, ago. 2009. 1 CD-ROM. Suplemento.

MURTAGH, G. John; SMITI, G. Rashid. Month of harvest and yield components of tea tree. II. Oil concentration, composition, and yield. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 47, p. 817 – 827, 1996.

NAGAO, Eduardo O.; et al. Efeito do horário de colheita sobre o teor e constituintes majoritários de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br., quimiotipo citral-limoneno. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, n.2, p. 355 – 360, 2004.

NOGUEIRA, Marisa Alves, et al. Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná. **Revista Ciência Farmacológica Básica Apl**, v. 28, n.3, p.273 – 278, 2007.

OWEN, Susan M.; PEÑUELAS, Josep. Opportunistic emissions of volatile isoprenoids. **Trends Plant Sci**. Barcelona, Espanha, v. 10, p. 420 – 426, 2005.

PINTO, José E. B. P.; BERTOLUCCI, Suzan K. V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA, p.47, 2002.

PORTAL DA SAÚDE. **Fitoterapia no SUS**. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=40816&janela=1. Acesso em: 28 dez 2012.

SANGWAN, Nidhi Shukla, et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**. v 34, p: 3-21. 2001.

SARTORATTO, Adilson, et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 275-280. dez, 2004.

SARTÓRIO, Maria Luiza, et al. **Cultivo orgânico de plantas medicinais**. Viçosa, MG. Editora Aprenda Fácil, p.260, 2000.

SAS. **SAS Software**. Version 9.1. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 1999.

SILVA, Renata da. **Crescimento e teor de óleo essencial de *Aloysia citriodora* (L'Hérit) Britton (Verbenaceae), em função da adubação orgânica, sazonalidade, horário de colheita e processamento pós-colheita**. (Dissertação de Mestrado), Lavras : UFLA, p. 78, 2005.

SIMÕES, Cláudia M.O.; et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 5ª ed. UFRGS Editora. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS, 2003, p.467.

SOUZA, Manoel Ferreira de et al. Influência do Sombreamento na Produção de Fitomassa e Óleo Essencial em Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 108-110, jul, 2007.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed. 848p, 2009.

TAVEIRA, Francisca S.N., et al. **Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla***. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.31, n.1, p. 69-75, 2003.

TRADE. Serviço de busca de negócios. **Comércio Exterior Brasil do SH 33 óleos essenciais**. Disponível em: <http://trade.nosis.com/pt/Comex/Importacao-Exportacao/Brasil/Essential-oils-resinoids-perfumery-cosmetic-toilet-preparations/BR/33>. Acesso em: 30 nov. 2012.