

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

ROMULO MARINHO DE MELLO

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ERVA-BALEEIRA (*Varronia curassavica* Jacq.) EM
DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NPK**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2020

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

ROMULO MARINHO MELLO

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ERVA-BALEEIRA (*Varronia curassavica* Jacq.) EM
DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NPK**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2020

ROMULO MARINHO DE MELLO

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ERVA-BALEEIRA (*Varronia curassavica* Jacq.) EM
DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NPK**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Abramo Marchese

PATO BRANCO

2020

M527p Mello, Romulo Marinho de.
Produção de biomassa, teor e composição de óleo essencial de erva-
baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em diferentes níveis de adubação
NPK / Romulo Marinho de Mello. -- 2020.
68 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. José Abramo Marchese
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2020.
Inclui bibliografia.

1. Plantas medicinais. 2. Essenciais e óleos essenciais. 3. Matéria
médica vegetal. I. Marchese, José Abramo, orient. II. Universidade
Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em
Agronomia. III. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO DE DISSERTAÇÃO Nº 212

A Dissertação de Mestrado intitulada “Produção de biomassa, teor e composição de óleo essencial de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em diferentes níveis de adubação NPK” defendida em sessão pública pelo candidato Romulo Marinho de Mello, no dia 06 de maio de 2020, foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitotecnia, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-graduação em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques - IAC/Campinas

Dra. Silvia Scariotto - UTFPR/Pato Branco

Dra. Taciane Finatto - UTFPR/Pato Branco

Dr. José Abramo Marchese - UTFPR/Pato Branco

A via original deste documento encontra-se arquivada na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação após a entrega da versão corrigida do trabalho.

Assinado eletronicamente por

ALCIR JOSÉ MODOLO

Coordenador do Programa de Pós-graduação em Agronomia

Aos meus pais, que desde cedo me ensinaram os verdadeiros valores humanos. A todos os amigos que fiz durante minha jornada de estudos e trabalho com as plantas medicinais, e a todos que ainda farei.

AGRADECIMENTOS

Deus nos coloca a frente dos desafios e nos dá força para vencê-los, a Ele, toda minha gratidão.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e paciência que tiveram no meu processo de aprendizado e crescimento profissional.

Aos meus amores Vivian e Alice, que nos momentos difíceis sempre tinham palavras reconfortantes e me davam confiança para seguir em frente e acreditar nos meus sonhos.

Ao amigo, mentor, orientador e professor Abramo, pela oportunidade dada em mostrar meu trabalho e por me ensinar a ser uma pessoa e profissional melhor, dia após dia, agradeço do fundo do meu coração.

Aos demais professores, que participaram da minha trajetória dentro do mestrado na UTFPR, que me auxiliaram a criar um olhar crítico para as situações que vivemos. Prof. Thiago Vargas, Prof. Godoy, Prof. Marisa, Prof. Geocris, Prof. Gazolla, Prof. Moisés e todos os demais que colaboraram no meu crescimento profissional, o meu muito obrigado.

Ao amigo Prof. Paulo Moreno, da USP, que por acaso cruzou meu caminho no Simpósio Internacional de Óleos Essenciais na França, e desde então vem me auxiliando com ideias, materiais, análises cromatográficas e boas conversas em nossos encontros.

Ao amigo Felipe Puton, pelas conversas, conselhos e por abrir as portas da sua casa e me receber como um irmão durante minha estadia em Pato Branco.

As amigas Carol, Michelle, Silvia e Cyntia que colaboraram sempre comigo.

Aos alunos de IC e funcionários da UTFPR, que sempre estavam a postos e colocando a mão na massa para auxiliar nas tarefas braçais do meu trabalho.

A todas as pessoas que indiretamente me auxiliaram e que passaram na minha vida durante essa trajetória, o meu muito obrigado.

“Observe profundamente a natureza, e então você entenderá tudo
melhor.”

Albert Einstein

RESUMO

MELLO, Romulo Marinho. Produção de biomassa, teor e composição de óleo essencial de erva-baleeira (*Varronia curassavica* jacq.) em diferentes níveis de adubação NPK. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2020.

A erva-baleeira é uma planta nativa brasileira pertencente à família Boraginaceae. Suas folhas sintetizam óleo essencial rico em α -humuleno, sesquiterpeno ao qual é conferido o poder anti-inflamatório da espécie. O fitomedicamento Acheflan® foi desenvolvido a partir do seu óleo essencial, o que alavancou sua importância econômica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho a campo de plantas de erva-baleeira submetidas a diferentes níveis de adubação visando melhorar o rendimento de biomassa, teor e qualidade do óleo essencial. O experimento foi conduzido a campo, durante os anos 2019 e 2020. Os tratamentos consistiram em diferentes doses de adubação (meia dose, uma dose e duas doses, além de controle sem adubação). A dosagem utilizada como parâmetro inicial de cálculos para uma dose foi de: N - 40 kg ha⁻¹; P₂O₅ - 43,75 kg ha⁻¹; K₂O - 22,5 kg ha⁻¹, nas formulações de ureia, super fosfato simples e cloreto de potássio. Além disso, também foram testados dois métodos diferentes de extração do óleo essencial, hidrodestilação e destilação por arraste de vapor. Foram analisados os seguintes parâmetros: fisiológicos (trocas gasosas e teor de clorofila); parâmetros biométricos de produção (massa seca de folhas, massa seca de ramos, massa seca da parte aérea, produtividade de óleo essencial e teor de óleo essencial em relação ao peso seco); parâmetros de qualidade (concentração dos principais compostos do óleo essencial). Os resultados obtidos demonstraram que a aplicação de diferentes doses de adubação em plantas de erva-baleeira não apresentou diferença estatística sobre a produção de biomassa seca, contudo a utilização de duas doses tende a produzir mais massa seca de folhas por área. O teor de óleo essencial foi maior no tratamento sem adubação para a primeira colheita. Para a segunda colheita não ocorreu diferença estatística significativa sobre esta variável. A aplicação de diferentes doses de adubação em plantas de erva-baleeira apresentou diferença estatística sobre o teor de α -humuleno, a maior concentração obtida foi com a aplicação de uma dose de adubação. Em relação aos demais compostos não houve diferença estatística. Os principais compostos obtidos no óleo essencial foram α -humuleno, α -pineno e α -santaleno. A utilização de diferentes doses de adubo não apresentou influência estatística significativa sobre a produtividade de óleo essencial. O alto rendimento de óleo essencial para o tratamento duas doses foram devido a maior produção de massa seca de folhas por área, porém sem diferir dos demais tratamentos. Não houve diferença significativa de rendimento na obtenção do óleo essencial em diferentes métodos de extração.

Palavras-chave: Erva-baleeira. α -humuleno. Plantas Medicinais. Boraginaceae.

ABSTRACT

MELLO, Romulo Marinho. Biomass production, content, yield and composition of black sage (*Varronia curassavica* Jacq.) essential oil at different NPK fertilization levels. 68 f. Dissertation (Masters in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Crop), Federal University of Technology - Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2020.

Black-sage belongs to the Boraginaceae family and it's a native Brazilian plant. Its leaves synthesize essential oil rich in α -humulene, sesquiterpene to which the specie's anti-inflammatory power is conferred. Acheflan® phytomedicine was developed from its essential oil, which leveraged its economic importance. The study aimed to evaluate the field performance of black-sage plants submitted to different levels of fertilization in order to improve the biomass yield, content and essential oil quality. The experiment was conducted in the field, during the years 2019 and 2020. The treatments consisted of different doses of fertilization (half dose, one dose and two doses, in addition a control without fertilization). The initial calculation parameter for a dose was: N - 40 kg ha⁻¹; P₂O₅ - 43,75 kg ha⁻¹; K₂O - 22,5 kg ha⁻¹, in formulations of urea, super simple phosphate and potassium chloride. In addition, two different methods of extracting the essential oil were also tested: hydrodistillation and steam distillation. The following parameters were also analyzed: physiological (gas exchange and chlorophyll content); biometric production parameters (dry leaf weight, dry mass of branches, dry weight of aerial part, essential oil yield and essential oil content in relation to dry weight); quality parameters (concentration of the main essential oil compounds). The obtained results showed that the application of different fertilization doses in plants of black-sage did not present statistical difference on the production of dry biomass, however the use of two doses tends to produce more dry mass of leaves per area. For the first harvest, the essential oil content was higher in treatment without fertilization. There was no statistically significant difference on this variable for the second harvest. Different fertilizer doses in black-sage plants showed a statistical difference on the α -humulene content and the highest concentration obtained was with the application of one dose. In relation of other compounds, there was no statistical difference. The main compounds obtained in the essential oil were α -humulene, α -pinene and α -santalene. The use of different fertilizer doses did not have a statistically significant influence on essential oil productivity. The high yield of essential oil for two doses fertilizer were due to the greater production of dry leaf mass per area, but without differing from the other treatments. There was no significant difference of yield in obtaining essential oil in different extraction methods.

Keywords: Black-sage. α -humulene. Medicinal Plants. Boraginaceae.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Valor em dólar americano das exportações nacionais de óleos essenciais no período de 2000 a 2017.	20
Figura 2 – Destilaria utilizada na fase inicial do projeto de extração de óleo essencial de erva-baleeira para desenvolvimento de ACHEFLAN®. CPQBA – Paulínia – SP – Brasil.	21
Figura 3 – Estruturas químicas das substâncias de α -humuleno e trans-cariofileno.	22
Figura 4 – Unidade produtora de óleo essencial de erva-baleeira. A propriedade implementou plantio de oito hectares da cultura, com colheita 100% mecanizada. LEGEÉ Óleos essenciais – Estiva Gerbi – SP.	24
Figura 5 – Poda drástica e adubação realizada para iniciar a condução do experimento a campo (A). Desenvolvimento inicial da cultura após poda drástica e adubação (B).	28
Figura 6 – Massa seca de folhas (MSF), massa seca de ramos (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).	33
Figura 7 – Massa seca de folhas (MSF), massa seca de ramos (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 2ª colheita (370 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).	34
Figura 8 – Produtividade de óleo essencial de erva-baleeira (kg ha^{-1}), massa seca de folhas (T ha^{-1}) e teor de óleo essencial (%) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação). Ajuste modelo quadrático para a variável teor de óleo essencial ($y = 0.32 - 0.21x^2 + 0.8x$, $R^2 = 76$)	36
Figura 9 – Produtividade de óleo essencial de erva-baleeira (kg ha^{-1}), massa seca de folhas (T ha^{-1}) e teor de óleo essencial (%) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 2ª colheita (370 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).	37
Figura 10 – Variação do teor de óleo essencial de erva-baleeira obtido por meio de diferentes mecanismos de extração, equipamento em escala pré-industrial (Linax) e Clevenger.	39
Figura 11 – Variação da composição química do óleo essencial de erva-baleeira submetida a diferentes níveis de adubação N, P e K. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).	40
Figura 12 – Teores de clorofilas A, B e total em função de diferentes doses de adubação aplicados nas plantas erva-baleeira. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).	43
Figura 13 – Trocas Gasosas: Eficiência do uso de água (WUE, mmol/mol), taxa de assimilação de carbono (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E, $\text{mmolH}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$) e concentração de CO_2 intracelular (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) em função de diferentes níveis de adubação NPK aplicados nas plantas erva-baleeira. Dados da 2ª colheita (370 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Doses aplicadas de N, P e K, para os tratamentos de adubação. UTFPR, Pato Branco - PR, 2020.	27
Tabela 2 - Características químicas do solo antes da aplicação dos tratamentos. UTFPR, Pato Branco - PR, 2020.....	28

LISTA DE SIGLAS, ACRÔNIMOS E ABREVIATURAS

CAS	Chemical Abstracts Service
CGEN	Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
CPQBA	Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas
DMAPP	Dimetilalil Difosfato
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FPP	Farnesil Difosfato
GGPP	Geranilgeranil Difosfato
GPP	Geranil Difosfato
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IPP	Isopentenil Difosfato
ISO	International Organization for Standardization
MVA	Ácido mevalônico ou Mevalonato
MEP	Metileritritol fosfato
NCM	Nomenclatura Comum do Mercosul
PR	Unidade da Federação – Paraná
QT	Quimiotipo
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS
SUS	Sistema Único de Saúde
SP	Unidade da Federação – São Paulo
TPS	Terpeno sintases
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 ERVA-BALEEIRA – <i>Varronia curassavica</i> Jacq.	18
3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS	19
3.3 ÓLEO ESSENCIAL DE ERVA-BALEEIRA.....	21
3.4 INFLUÊNCIA DE NUTRIENTES NO DESENVOLVIMENTO VEGETAL E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 MATERIAL VEGETAL	27
4.2 CONDUÇÃO EXPERIMENTAL.....	27
4.3 COLHEITA	29
4.4 ANÁLISE BIOMÉTRICAS	29
4.5 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL	29
4.6 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL	30
4.7 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL	31
4.8 ANÁLISES DE CLOROFILAS.....	31
4.9 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS	32
4.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
6 CONCLUSÕES	47
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Apesar da erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.), ter ganhado evidência no mercado de ativos provenientes de plantas nativas brasileiras através de seu óleo essencial, após o desenvolvimento da pomada anti-inflamatória ACHEFLAN®, pelo laboratório ACHÉ (ERENO, 2005), a espécie já possuía vasta utilização na medicina popular brasileira e uma de suas formas de uso era através da aplicação tópica do extrato bruto feito com a parte aérea da planta (GILBERT; FAVORETO, 2012).

O principal componente medicinal encontrado em seu óleo essencial é o α -humuleno (ERENO, 2005), um sesquiterpeno indispensável na composição química do óleo essencial, quando este é obtido e destinado à indústria farmacêutica com finalidade anti-inflamatória (FERNANDES et al., 2007).

No Brasil, a grande biodiversidade disponível ainda é sub explorada quando se fala em composição química e aplicações, e o aprofundamento nos estudos de espécies nativas, com a finalidade de obtenção de produtos medicinais podem colocar o país em situação promissora na participação do mercado de itens que derivam de produtos naturais (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

Os óleos essenciais estão entre a grande diversidade de compostos orgânicos voláteis produzidos pelas plantas, os quais permitem sua interação no ambiente em que estão inseridas. Esses compostos auxiliam em sua defesa contra patógenos, parasitas, herbívoros e tem a importante função de atrair polinizadores (DUDAREVA et al., 2013).

Embora o óleo essencial de erva-baleeira ser bastante utilizado comercialmente, ainda não há consenso sobre o manejo e cultivo da espécie. Agricultores em diferentes regiões do Brasil variam espaçamento, adubação e época de colheita em busca de qualidade e resultados financeiros efetivos. Empresas como LEGEÉ e CENTROFLORA são exemplos de produtores do óleo essencial da espécie.

O conhecimento aprofundado de cada espécie pode aperfeiçoar o teor e rendimento de compostos de interesse, produzindo matérias primas de alta qualidade para diferentes tipos de indústrias (CANTER et al., 2005).

Como todas as plantas, a erva-baleeira reage de diferentes formas quando submetidas a diferentes condições nutricionais, alterando sua diferenciação, o teor e a composição química do óleo essencial contido nas folhas (ARRIGONI-

BLANK et al., 1999, ARAÚJO, 2007).

Como a espécie ainda é pouco estudada em relação ao seu manejo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho a campo de plantas de erva-baleeira submetidas a diferentes níveis de adubação, visando melhorar o rendimento de biomassa, teor e qualidade do óleo essencial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho a campo de plantas de erva-baleeira submetidas a diferentes níveis de adubação, visando melhorar o rendimento de biomassa, teor e qualidade do óleo essencial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a influência dos diferentes níveis de adubação sobre os parâmetros biométricos das plantas de erva-baleeira.

Avaliar a influência dos diferentes níveis de adubação no teor, rendimento e composição química do óleo essencial contido nas folhas.

Realizar a comparação de eficiência entre os métodos de extração de óleo essencial laboratorial e comercial.

Avaliar os índices de clorofila A, B e totais em diferentes níveis de adubação.

Avaliar os parâmetros fisiológicos de trocas gasosas e possíveis interações entre os tratamentos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ERVA-BALEEIRA – *Varronia curassavica* Jacq.

A espécie pertencente à família Boraginaceae é popularmente chamada por diferentes nomes comuns, entre eles o mais conhecido: erva-baleeira. Em algumas regiões é denominada: camarinha, catinga-de-barão, cordia, erva-baliera, balieira cambará, erva-preta, maria-milagrosa (LORENZI; MATTOS, 2002). Sua utilização é histórica e há relatos de que os povos indígenas faziam o extrato bruto a partir da parte aérea das plantas para aplicação tópica (GILBERT; FAVORETO, 2012).

A planta é considerada nativa do país. Possui flores brancas de pequeno porte que estão dispostas em formato de espiga, as quais podem atingir entre 10 e 15cm e evoluem para frutos vermelhos quando maduros. A espécie também possui as seguintes sinónimas botânicas: *Cordia salicina*, *Cordia curassavica*, *Cordia cylindristachya*, *Lithocardium fresenii*, *Lithocardium salicinum*, *Lithocardium verbenaceum* (LORENZI; MATOS, 2002).

A erva-baleeira tem característica arbustiva, ramificada, ereta, e alcança alturas entre 1,5 até 2,5 m de altura. Possui dois tipos de tricomas glandulares pedunculados, um apresenta cabeça globular e outro em formato reniforme. Há outros dois tipos de tricomas não-glandulares, um deles possuindo cristólito. A lâmina foliar é hipostomática e o mesófilo é dorsiventral (LEAL-COSTA; AMÉLIA, 2017).

Geralmente a propagação da espécie é feita pela germinação de sementes, as quais podem ser feitas através da semeadura em bandejas com areia. Para a obtenção de sementes viáveis devem ser coletados os frutos vermelhos, já maduros. A floração da espécie é mais evidente nos meses mais quentes do ano (primavera e verão), entretanto pode ocorrer nos meses mais frios e durante a época de inverno (junho). (MONTANARI JÚNIOR, 2011; OLIVEIRA et al., 2020).

Outra forma utilizada para propagação da espécie é a vegetativa, por meio da obtenção de estacas de matrizes adultas da espécie. Isso permite a uniformização de plantio e clonagem de interesse comercial, pois possuem aspectos agrônômicos e composição química conhecida (BISCHOFF et al., 2017; MONTANARI JÚNIOR, 2011).

Os extratos vegetais e óleos essenciais oriundos das partes aéreas da planta apresentam alguns benefícios já apoiados por dados científicos, entre eles: atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas (CARVALHO et al., 2004; HERNANDEZ, 2007) atividade antifúngica na inibição de *Colletotrichum truncatum* (SILVA et al., 2012), atividade protozoaricida (NIZIO, 2015), analgésica (SERTIÈ et al., 2005), atividade antiulcerogênica (ROLDÃO et al., 2008), e anti-inflamatória (FERNANDES et al., 2007). Também figura na lista das 71 plantas de interesse do SUS, chamada RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS) corroborando com seu potencial terapêutico (SUS, 2009).

Com base nas evidências científicas, a tendência é que a importância econômica da espécie cresça. Entretanto, para que a planta se torne uma opção agrícola segura, são necessários cuidados ao implantar cultivos comerciais. Seleção de genótipos de alta qualidade, local de plantio adequado, tratamentos culturais, colheita e pós colheita, podem garantir a excelência em produção de biomassa e na qualidade dos princípios ativos de interesse comercial (MONTANARI JÚNIOR, 2011; MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são originados a partir de moléculas de 5 carbonos, isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP). Ambos são produzidos em rotas metabólicas distintas do metabolismo especializado, a do metileritritol fosfato (MEP) e do ácido mevalônico ou mevalonato (MVA). Essas substâncias carbônicas de cadeia curta são condensadas, unindo-se e inicialmente formam outros substratos de 10 carbonos geranyl difosfato (GPP), 15 carbonos farnesil difosfato (FPP), e 20 carbonos geranylgeranyl difosfato (GGPP). Essas moléculas são utilizadas pelas terpeno sintases (TPS), para gerar os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos. Porém, vale ressaltar que monoterpenos e sesquiterpenos, oxigenados ou não, são encontrados nos óleos essenciais (DUDAREVA et al., 2013).

Os óleos essenciais, portanto, são substâncias naturais, complexas e compostas por terpenos e fenilpropanóides (EDRIS, 2007; DUDAREVA et al., 2013).

Possuem dezenas de constituintes com estrutura química distinta, cada uma apresentando um odor característico e diferentes efeitos no organismo (TISSERAND; YOUNG, 2014). Esses compostos após produzidos são armazenados interna ou externamente em vários locais das plantas, como por ex: células parenquimáticas diferenciadas, bolsas esquizógenas ou lisígenas, canais oleíferos e tricomas glandulares (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

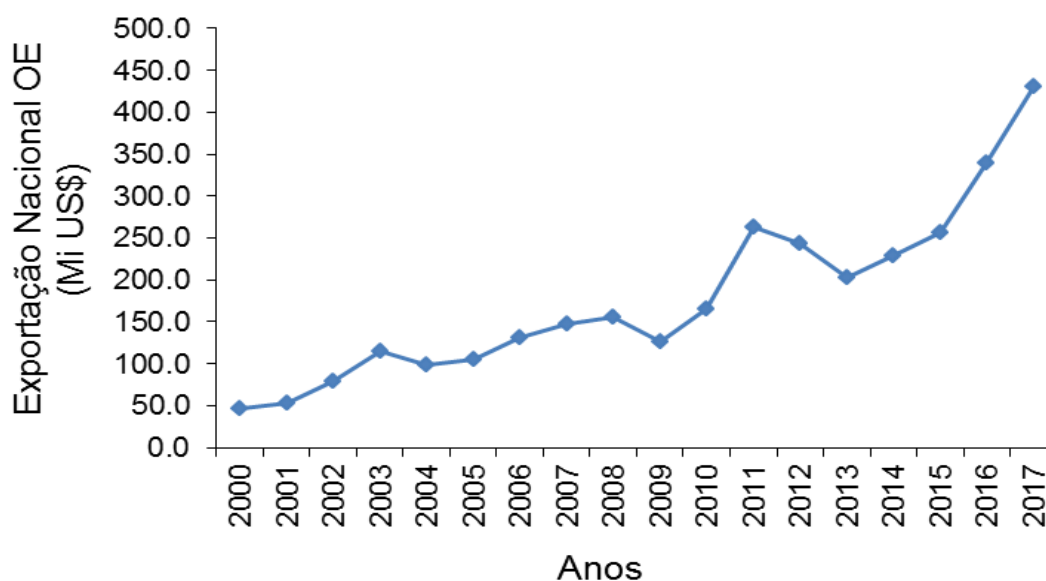
Segundo a ISO 9235 (2013) os óleos essenciais são extraídos a partir de matérias-primas vegetais, por meio de diferentes processos. Entre esses processos estão a hidrodestilação e a destilação por arraste de vapor. Na hidrodestilação o material vegetal permanece imerso ou em contato com água durante o processo, e na destilação à vapor o material não entra em contato direto com a água.

O Brasil, apesar de ser um dos países mais atuantes na produção de óleos essenciais no mundo, ainda sofre com falta de padronização e baixa qualidade. Não há uma representatividade efetiva do setor e essa ainda é uma cadeia produtiva de baixos investimentos governamentais, os quais seriam de extrema importância para colaboração entre centros de pesquisas e produtores, garantindo um desenvolvimento tecnológico mais eficaz, promovendo atuação ainda mais efetiva do país no mercado mundial (BIZZO et al., 2009).

Contudo, algumas situações acabam deixando obscuros os reais números de exportações de determinados óleos essenciais que estão sendo gradativamente inseridos no mercado internacional. Exemplo disso, o óleo essencial de erva-baleeira ainda não possui uma Nomenclatura Comum do Mercosul (NCM) exclusivo, e acaba sendo enquadrado pelo número 3301.29.90 (outros óleos essenciais, exceto cítricos). Isso não nos permite saber qual o valor a espécie movimentada e gera de lucros efetivos para o país em exportações (BRASIL, 2019).

Todavia, apesar das dificuldades, o setor teve crescimento notório em valores de exportação de óleos essenciais, conforme mostra o gráfico da (Figura 1). A partir de 2013, é possível observar um crescimento significativo nas exportações dos óleos essenciais brasileiros, após queda entre os anos de 2011 e 2013.

Figura 1 – Valor em dólar americano das exportações nacionais de óleos essenciais no período de 2000 a 2017.



Fonte: BRASIL (2019).

3.3 ÓLEO ESSENCIAL DE ERVA-BALEEIRA

A importância econômica do óleo essencial obtido da espécie ganhou evidência após o desenvolvimento do medicamento fitoterápico ACHEFLAN®, pelo laboratório ACHÉ, que após anos de pesquisas foi lançado como o primeiro anti-inflamatório tópico feito a partir de uma planta brasileira. No início, os pesquisadores acreditavam que o efeito era proveniente da artemitina, uma substância do grupo dos flavonoides. Entretanto, no decorrer do trabalho o α -humuleno foi classificado como marcador químico principal e substância mais eficaz para efeito anti-inflamatório (ERENO, 2005).

Quando destinado à indústria farmacêutica com essa finalidade, o óleo essencial deve apresentar o mínimo de 2,3% do componente em sua composição (QUISPE-CONDORI 2008), podendo o α -humuleno sofrer variações em diferentes condições de cultivo, como diferentes níveis de adubação mineral, os quais promoveram variações entre 2,80% até 6,05% (ARAÚJO 2007).

Na fase inicial de desenvolvimento do projeto, foram implantados 12 hectares de plantio da espécie e destilaria experimental (Figura 2) para atender a demanda do laboratório (ERENO, 2005).

Figura 2 – Destilaria utilizada na fase inicial do projeto de extração de óleo essencial de erva-baleeira

para desenvolvimento de ACHEFLAN®. CPQBA – Paulínia – SP – Brasil.

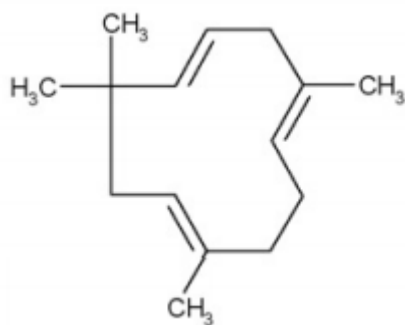


Fonte: O autor (2020).

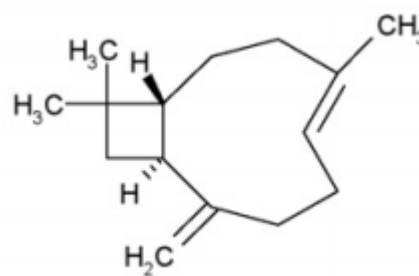
O composto, também chamado de α -cariofileno, possui mais de um isômero e é um sesquiterpeno monocíclico. Está registrado no CAS (Chemical Abstracts Service), sob o número 6753-98-6 e pode ser encontrado em outros óleos essenciais obtidos de plantas aromáticas, como por exemplo: lúpulo (36,7%), maconha (4,5-7,4%), copaíba (2,7-6,1%), gerânio (0-6%) e alecrim QT cineol (0,1-5,4%) (TISSERAND; YOUNG, 2014). Outra função conferida ao α -humuleno obtido a partir do óleo essencial de *Salvia fruticosa*, é a preservação de astrócitos, uma classe de células gliais que protegem os neurônios contra o estresse oxidativo. Esse tipo de estresse está associado a patologias causadas por doenças neurodegenerativas, o que pode colocar o α -humuleno como possível suplemento nutracêutico para combate, prevenção ou atenuação dessa classe de doenças (ELMANN et al., 2009).

Além do α -humuleno, outra substância de suma importância na composição química do óleo essencial de erva-baleeira é o trans-cariofileno (Figura 3). Ambas, quando administradas via oral demonstraram efeitos anti-inflamatórios eficazes em modelos de testes in vivo, realizados em roedores. (PASSOS et al., 2007).

Figura 3 – Estruturas químicas das substâncias de α -humuleno e trans-cariofileno.



α -humuleno



trans-cariofileno

Fonte: Adaptado de Passos (2007).

O fitomedicamento se enquadra na classe de anti-inflamatórios tópicos e é utilizado em casos de tendinite crônica e dor miofascial (QUISPE-CONDORI 2008). Tornou-se líder em prescrições de seu segmento em 2016, com mais de 1 milhão de unidades vendidas, resultando em faturamento de 30,3 milhões de reais. Hoje, já é exportado para Japão, Chile, México, Costa Rica, Equador e Peru, o que representa cerca de 10% de seu faturamento (OLIVEIRA, 2017).

O projeto de desenvolvimento do ACHEFLAN® teve início antes da medida provisória N° 2.186-16 do ano de 2001, que instaurou várias exigências sobre o CTA (Conhecimento Tradicional Associado) e ao Acesso ao Patrimônio Genético Brasileiro, com a criação do CGEN (Conselho de Gestão do Patrimônio Genético). Essa medida provisória acabou criando certa insegurança jurídica ao laboratório, que resolveu se antecipar a possíveis sanções e entrou na justiça com um pedido judicial para a obtenção de declaração de que a legislação não era aplicável ao fitomedicamento, por se tratar de um caso retroativo. Entretanto, enquanto aguardava a definição judicial, a ACHÉ recebeu um auto de infração do IBAMA no valor de 25 milhões de reais, sob alegação da falta de repartição de benefícios sobre o valor obtido com a comercialização do mesmo (DIAFÉRIA, 2012).

Algumas marcas nacionais já comercializam o óleo essencial de erva-baleeira, tanto no atacado (grades quantidades) quanto no varejo (pequenas quantidades), o que muda substancialmente o valor do produto. No atacado, destilarias como LEGEÉ (Figura 4) vendem 1 litro do óleo essencial por R\$ 3.200,00 (LEGEÉ, 2020) e a distribuidora FERQUIMA, vende 500 mL do óleo por R\$ 2.730,00 (FERQUIMA, 2020). Marcas varejistas atuantes no ramo de cosmética natural e

aromaterapia como Oshadhi (2020) e Harmonia Natural (2020), vendem frascos com 5 mL ou 10 mL do óleo essencial de erva-baleeira, podendo totalizar um valor bruto de R\$15.980,00 por litro de óleo essencial. Apesar da métrica utilizada para cálculos de teor e rendimento de óleo essencial ser massa/massa, grade parte das marcas brasileiras costumam vender seus óleos essenciais em litros ou mililitros.

Figura 4 – Unidade produtora de óleo essencial de erva-baleeira. A propriedade implementou plantio de oito hectares da cultura, com colheita 100% mecanizada. LEGEE Óleos essenciais – Estiva Gerbi – SP.



Fonte: O autor (2020).

3.4 INFLUÊNCIA DE NUTRIENTES NO DESENVOLVIMENTO VEGETAL E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL

Teor e composição química do óleo essencial de erva-baleeira podem sofrer mudanças dependendo de seus genótipos e sua interação com o ambiente em que estão inseridos (MATIAS et al, 2016; OLIVEIRA et al., 2020). Queiroz et al. (2016) não observou mudanças no teor de óleo essencial em diferentes horários de colheita, entretanto há relatos para maiores teores em colheitas realizadas as 18h (SOUZA, 2011) e recentemente pesquisas mostraram maiores teores de óleo essencial em plantas colhidas as 12h (TONIAL et al., 2020).

Quando expostas à deficiências nutricionais, as plantas também podem apresentar distúrbios metabólicos que implicam em suas funções vitais, afetando diretamente seu desenvolvimento (BROETTO et al., 2017). Alguns trabalhos demonstraram diferentes respostas no teor e qualidade de óleo essencial em plantas

submetidas a diferentes tipos de fertilizantes e métodos de aplicação, evidenciando sua interferência no metabolismo especializado (TAWFEEQ et al., 2016; GROUH; BORROOMAND, 2012). Plantas de erva-baleeira submetidas à estresse hídrico tiveram aumento no teor do óleo essencial (BOLINA, 2015), assim como, em estudo de avaliação morfoagronômica em diferentes genótipos da espécie, o teor de óleo essencial variou entre 0,85 a 3,2%. (OLIVEIRA et al., 2020).

A massa seca dos vegetais é composta por elementos minerais considerados como macronutrientes (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg e Si) e micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn). Esses constituem 99,5% e 0,5% da massa seca dos vegetais, respectivamente (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Um dos elementos mais exigidos pelas plantas é o nitrogênio (N), constituinte de inúmeros componentes da célula vegetal, os quais incluem aminoácidos e ácidos nucleicos. Sua deficiência pode inibir o crescimento vegetal e ser notado com o aparecimento de clorose. Em situações em que as deficiências são mais severas, as folhas tornam-se totalmente amarelas e caem. O potássio (K), atua na regulação de potencial osmótico das células vegetais e está ligado à ativação de enzimas envolvidas na respiração e fotossíntese. O fósforo (P) é um componente que integra fosfato-açúcares e fosfolipídios. Ambos têm funções importantes nas células vegetais, sendo intermediários da respiração e fotossíntese, compondo também membranas vegetais. É indispensável no metabolismo energético das plantas pois compõe nucleotídeos envolvidos nesse processo, sendo igualmente importante no metabolismo de DNA e RNA. Sua deficiência pode gerar decréscimo no desenvolvimento das plantas (TAIZ et al., 2017).

A biossíntese de compostos oriundos do metabolismo especializado está intimamente ligada ao metabolismo primário e os precursores energéticos das rotas responsáveis pela produção dos terpenos são o fosfoenolpiruvato e gliceraldeído-3-fosfato. As rotas metabólicas do MEP E MVA, além da produção de terpenos, geram ampla variedade de componentes orgânicos voláteis. (DUDAREVA et al., 2013).

A alta conectividade entre os metabolismos primário e especializado, entretanto, gera uma concorrência desses assimilados. Em condições cômodas, as plantas não são induzidas a produzir os metabólitos especializados o que pode gerar muita biomassa e baixo teor de óleos essenciais, por exemplo. Quando submetidas a grande estresse, as plantas geralmente têm alta produção desses compostos, mas

com baixa produção de biomassa, não significando um efetivo aumento no rendimento total por área cultivada. (MARCHESE; FIGUEIRA, 2005)

No cultivo de *Artemisia annua* em casa de vegetação, identificou-se sensibilidade a deficiência de N, P, K e calagem em relação à produção de biomassa. Baixos níveis desses nutrientes resultaram em decréscimo de 80%, 48,1% e 30,5%, respectivamente, na produção de parte aérea da planta (FERREIRA, 2007). Em diferentes cultivares de *Mentha spicata*, a deficiência em Mn foi determinante para a queda no teor de óleo essencial (SINGH et al., 2001).

Para erva-baleeira a calagem e adubação são essenciais para seu crescimento. Deficiências em N, K e B causaram quedas na produção de folhas, local da planta onde é encontrado seu princípio ativo. Baixos níveis de Zn, Fe e P não promoveram efeitos sobre o crescimento da espécie (ARRIGONI-BLANK et al., 1999).

Plantas da espécie cultivadas em casa de vegetação, em vasos utilizando areia lavada como substrato e soluções nutritivas como fonte de nutrientes, quando omitidos o fornecimento de N, tiveram maiores limitações de desenvolvimento, resultando em menores taxas de crescimento e rendimento de massa seca de folhas, caule e raiz (ARAÚJO, 2007).

Paulilo et al. (2010) avaliou o desenvolvimento de erva-baleeira em diferentes intensidades luminosas com dois substratos distintos. A espécie apresentou maior desenvolvimento foliar em substrato com maior fertilidade, não havendo alterações significativas no crescimento de raízes, caules e folhas em relação aos diferentes níveis de luminosidade.

Percebe-se portanto, que não há padrão ou regra para cultivo das plantas medicinais, sendo essencial monitorar a quantidade e qualidade do material vegetal produzido em detrimento aos tratos culturais utilizados, entre eles adubação, o que pode otimizar os resultados obtidos à campo (CANTER et al., 2005; MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado no experimento foi obtido através do programa de seleção do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP e cedido a empresa ClonAgri – SP, que fez a replicação através de micropropagação, gerando mudas clonais. A exsicata do material vegetal utilizado está depositada no herbário da UNICAMP sob o registro UEC 112744.

4.2 CONDUÇÃO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido a campo durante os anos 2019 e 2020, na área experimental do Curso de Agronomia da UTFPR, Campus Pato Branco – PR, localizada em latitude 26°07' S, longitude 52°41' W, altitude de 760m, clima subtropical úmido (Cfa) (ALVARES et al., 2013), segundo classificação de Koppen, em latossolo vermelho distrófico típico (BHERING et al., 2008).

O delineamento experimental foi em blocos completamente casualizados, com três repetições cada tratamento, sendo cada repetição composta por cinco plantas, sendo três plantas úteis e duas bordadura (6,75 m² de área útil), e quatro tratamentos com diferentes níveis de adubação N, P e K, nas formulações de ureia, super fosfato simples e cloreto de potássio e testemunha (sem adubação), formando os tratamentos com meia dose, uma dose e duas doses (Tabela 1).

Tabela 1 – Doses aplicadas de N, P e K, para os tratamentos de adubação. UTFPR, Pato Branco - PR, 2020.

Doses / Adubação	Nitrogênio	Fósforo	Potássio
Meia dose	20,00 kg ha ⁻¹	21,88 kg ha ⁻¹	11,25 kg ha ⁻¹
Uma dose	40,00 kg ha ⁻¹	43,75 kg ha ⁻¹	22,50 kg ha ⁻¹
Duas doses	80,00 kg ha ⁻¹	87,50 kg ha ⁻¹	45,00 kg ha ⁻¹

Fonte: O autor (2020).

Por não haver consenso sobre a adubação ideal para a cultura na literatura e com base em resultados prévios obtidos pelo grupo de pesquisa, em que

cada planta gera cerca de 500 g de massa seca, totalizando aproximadamente 2,5 t ha⁻¹ por colheita, o que totalizaria em torno de 8 a 10 t ha⁻¹ de biomassa anualmente, foi particionada a recomendação da dose total do milho, pois a cultura rende aproximadamente 10 t ha⁻¹ de massa seca. A adubação foi realizada em covas na projeção da copa da planta (fevereiro/2019). Previamente a aplicação dos tratamentos (60 dias), foi realizada a calagem para a correção da acidez do solo, elevando a saturação de bases para 60%, utilizando calcário filler (PRNT 94%), a lanço, entre as linhas, pois a cultura já estava previamente instalada a campo (dezembro/2015). Análises de solo foram realizadas previamente às aplicações dos tratamentos para identificar suas características químicas (Tabela 2).

Tabela 2 - Características químicas do solo antes da aplicação dos tratamentos. UTFPR, Pato Branco - PR, 2020.

pH – CaCl ₂	Índice SMP	MO	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺ +AL ³⁺	CTC	V	m
		g dm ⁻³	mg dm ⁻³				cmol _c dm ⁻³			%	
4,71	5,69	41,88	7,93	0,19	4,02	2,13	0,23	6,42	12,78	49,24	4,38

MO= matéria orgânica; V= saturação por bases; m= saturação por alumínio.

O espaçamento utilizado foi de 1,5 m entre plantas e 1,5 m entre linhas, totalizando 4.444 plantas por hectare. Ao iniciar a condução do experimento a campo foi realizada capina. No dia da aplicação dos tratamentos foi realizada a poda drástica nas plantas (Figura 5).

Figura 5 – Poda drástica e adubação realizada para iniciar a condução do experimento a campo (A). Desenvolvimento inicial da cultura após poda drástica e adubação (B).



Fonte: O autor (2020).

4.3 COLHEITA

As plantas foram colhidas com auxílio de tesouras de poda, retirando-se a totalidade da parte aérea que estivesse superior a 40 cm do solo. Foram realizadas duas colheitas durante a experimentação agrícola. A primeira, 75 dias após a adubação, na data de 30/04/2019. A segunda, dez meses após a primeira colheita, na data de 19/02/2020. Foram feitas capinas conforme necessidade para manter o experimento sem interferência de plantas daninhas e na segunda colheita não houve reaplicação de adubação.

Após a colheita, as plantas foram secas em ambiente ventilado até adquirirem massa constante, sendo sempre mexidas para evitar a degradação do material e a proliferação de micro-organismos. O grande volume de plantas obtidas no experimento impossibilitou a secagem em estufa.

4.4 ANÁLISE BIOMÉTRICAS

Foram avaliados os seguintes parâmetros: Massa seca de folhas (MSF; t ha⁻¹) e massa seca de ramos (MSR; t ha⁻¹), multiplicando a produção média das plantas por tratamento, pelo número de plantas por hectare. Massa seca da parte aérea (MSPA; t ha⁻¹), pesando-se o total da parte aérea colhida e multiplicando a produção média das plantas por tratamento, pelo número de plantas por hectare. Produtividade de óleo essencial (POE; kg ha⁻¹), multiplicando-se o teor de óleo essencial extraído da biomassa foliar seca dos tratamentos pela estimativa de biomassa seca de plantas por hectare.

4.5 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial de erva-baleeira foi extraído em dorna experimental (marca Linax, modelo D20, Votuporanga – SP, Brasil) com capacidade máxima de extração de 20 quilos de folhas frescas. Possui condensador multitubular e vaso separador, todos construídos em aço inox 304. A geração de vapor foi realizada

através de fogareiro acoplado, com controle automático do nível de água do reservatório gerador de vapor. Todas as extrações foram fixadas em 1h30min, contado a partir do início de acúmulo de óleo essencial no vaso separador. As plantas foram pesadas e extraídas separadamente na primeira colheita. Na segunda, foram pesados 250 g de massa seca de folhas de três plantas que compunham cada repetição dentro dos tratamentos. A escolha do equipamento para avaliação se deu pelo motivo de tentar aproximar ao máximo as extrações comerciais de óleos essenciais.

Na segunda colheita, o óleo essencial também foi extraído em Clevenger para um comparativo de eficiência entre os métodos de extração. Após finalizada as extrações, os óleos essenciais foram coletados com pipeta graduada, pesados e armazenados em frasco de vidro âmbar em geladeira.

O teor de óleo essencial foi determinado com base no peso de matéria seca das plantas e pela seguinte equação:

$$TOE (\%) = \frac{OE \times 100}{MSF}$$

Onde:

Teor de óleo essencial extraído (*TOE*);

Óleo essencial extraído (*OE*) em gramas;

Massa seca de folhas utilizada para extração (*MSF*) em gramas.

4.6 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL

A análise do óleo essencial das folhas de erva-baleeira foi realizada no laboratório do Instituto de Botânica, São Paulo – SP, apenas para a primeira colheita do experimento. As amostras foram diluídas em acetona p.a. (Merck) na razão de 1:99 (V/V). Para análise quantitativa, foi injetado 1,0 µL da amostra diluída, com razão de divisão de fluxo de 1/20, em um cromatógrafo Varian®, modelo CP 3380, com coluna DB-5 (30 m x 25 µm x 0,25 µm) equipado com um detector de ionização de chamas (CG-DIC).

As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas para 250 e 290 °C, respectivamente. A identificação dos componentes foi feita por cromatografia a gás, acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM), em um cromatógrafo

Agilent®, serie 6890, com um analisador de massas quadripolar (Agilente® 5973 Network Mass Seletive Detector) e equipado com uma coluna HP-5MS (30m x 25 µm x 0,25 µm). Para a análise em CG-EM, o injetor foi programado no modo sem divisão de fluxo com temperatura de 250 °C e o volume de injeção foi de 1,0 µL da amostra diluída.

O programa de temperatura das análises cromatográficas foi ajustado com temperatura inicial de 40°C, sofrendo um incremento de 3 °C por minuto até 240 °C por 10 minutos. Em ambas as análises foi utilizado hélio como gás de arraste com uma pressão de 80 kPa e velocidade de 1 mL min⁻¹. Na análise por CG-FID, foram ainda utilizados como gases auxiliares, nitrogênio, ar sintético e hidrogênio na razão de 1:1:10, respectivamente.

4.7 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL

A identificação dos componentes do óleo foi baseada na comparação entre o índice de retenção linear e o espectro de massas de amostras autênticas e de dados retirados da literatura ou, ainda, por comparação com espectros de massas registrados nos bancos de dados (ADAMS, 2007). Para o cálculo do índice de retenção linear foi utilizada a equação de Van Den Dool e Kratz (1963). Para tanto, foi injetada uma série homologa de *n*-alcanos (C5 a C29) nas mesmas condições cromatográficas das amostras.

4.8 ANÁLISES DE CLOROFILAS

Para medição dos teores de clorofilas, foram feitas 10 leituras de folhas presentes no terço médio das plantas de cada repetição. As medições foram realizadas utilizando-se um clorofilômetro da marca Falker (ClorofiLOG®, modelo CFL 1030, Porto Alegre - RS), equipamento que mede a absorção de luz pela folha em comprimentos de onda específicos.

4.9 ANÁLISES DE TROCAS GASOSAS

As trocas gasosas foram avaliadas entre 08:30h e 11h da manhã em folhas saudáveis de todas as plantas disponíveis nos tratamentos e repetições, utilizando analisador de gases portátil por infravermelho LI-6400XT (LI-COR, LINCOLN, NEBRASKA - USA). As condições microclimáticas na câmara de medidas foram mantidas em ± 26 °C de temperatura, $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de PAR (Radiação fotossinteticamente ativa), UR 61%, e 400 ppm CO₂. A câmara de leitura utilizada foi de 6 cm² com fonte de luz vermelho e azul (6400-02B). Foi avaliada uma folha por planta, em três plantas por tratamento. As folhas foram limpas e secas com papel-toalha, e nelas foram feitas leituras em triplicata.

Os parâmetros avaliados foram: taxa assimilatória líquida de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração intracelular de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e taxa de transpiração (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Após a coleta dos dados citados, foi possível quantificar a eficiência no uso de água (EUA mmol mol^{-1}), calculada pela razão A/E, e a eficiência instantânea da carboxilação (EiC, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), calculada pela razão A/ C_i (TONIAL et al., 2020).

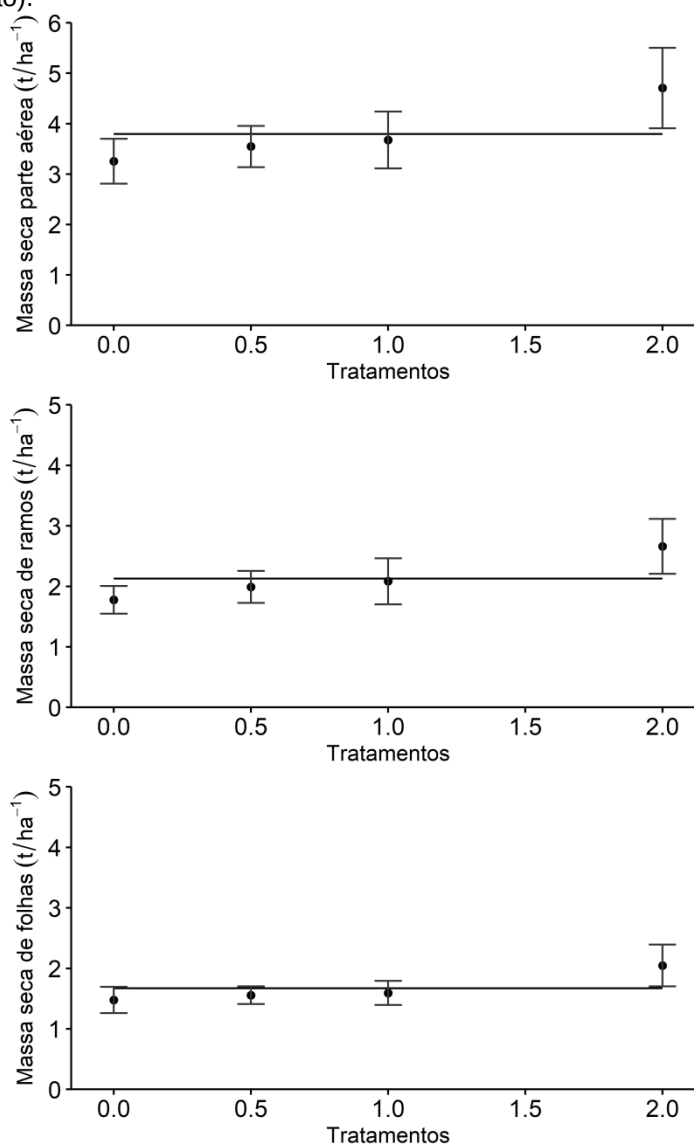
4.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos à análise de normalidade dos resíduos, pelo teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variância pelo teste de Oneillmathews. Atendido aos pressupostos matemáticos, foram submetidos à análise da variância pelo teste F a 5% de probabilidade, quando significativas foram submetidas à análise de regressão linear múltipla e a testes de comparação múltipla de médias. Através da equação de grau 2 ($y=a\pm bx\pm cx^2$) foi empregado o modelo matemático $X= -b_1/2b_2$, na estimativa da máxima eficiência técnica (MET). Em que: X = ponto da máxima eficiência técnica; b_1 e b_2 = coeficientes da equação. Todas as análises estatísticas e gráficos foram realizadas utilizando-se linguagem R e os packages ExpDes.pt e ggplot2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

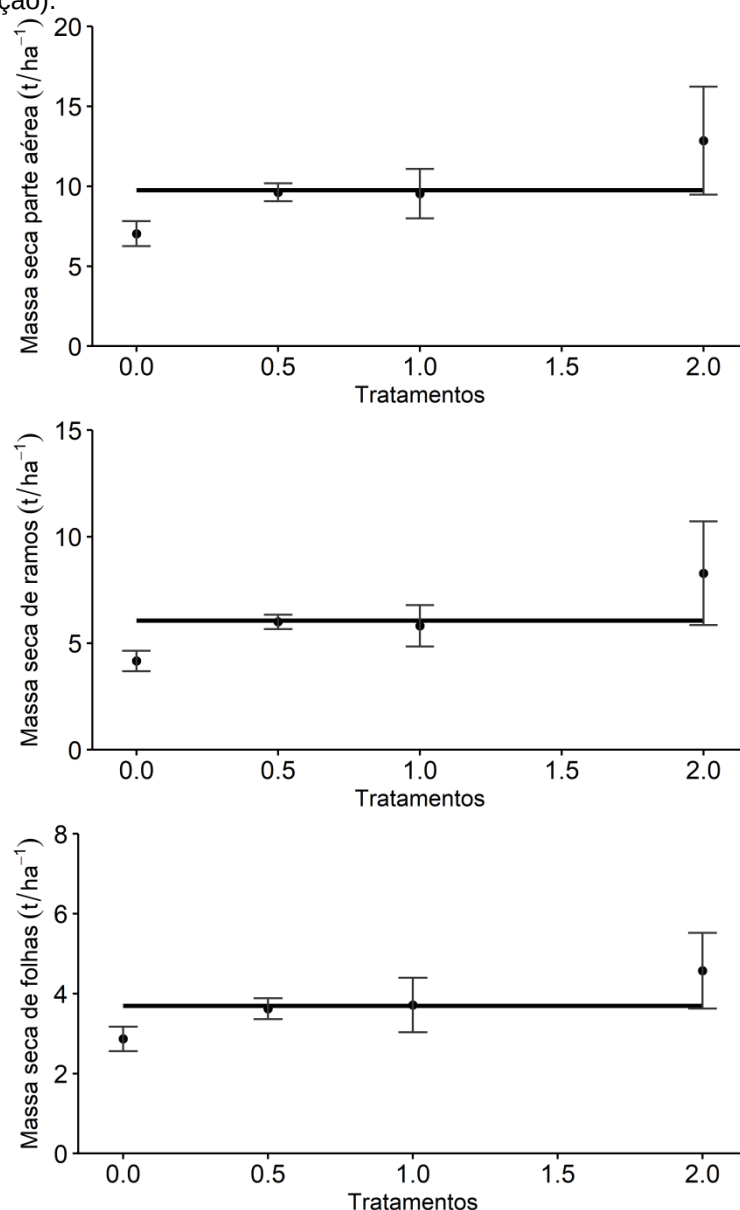
Maiores níveis de adubação N, P, K influenciaram positivamente o acúmulo das variáveis biométricas de MSF, MSR e MSPA na primeira (Figura 6) e segunda colheita (Figura 7) (Apêndices A, B, C e D). Todavia, não houve diferença significativa para essas variáveis (Apêndices B, C e D).

Figura 6 – Massa seca de folhas (MSF), massa seca de ramos (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).



Fonte: O autor.

Figura 7 – Massa seca de folhas (MSF), massa seca de ramos (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 2ª colheita (370 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).



Fonte: O autor.

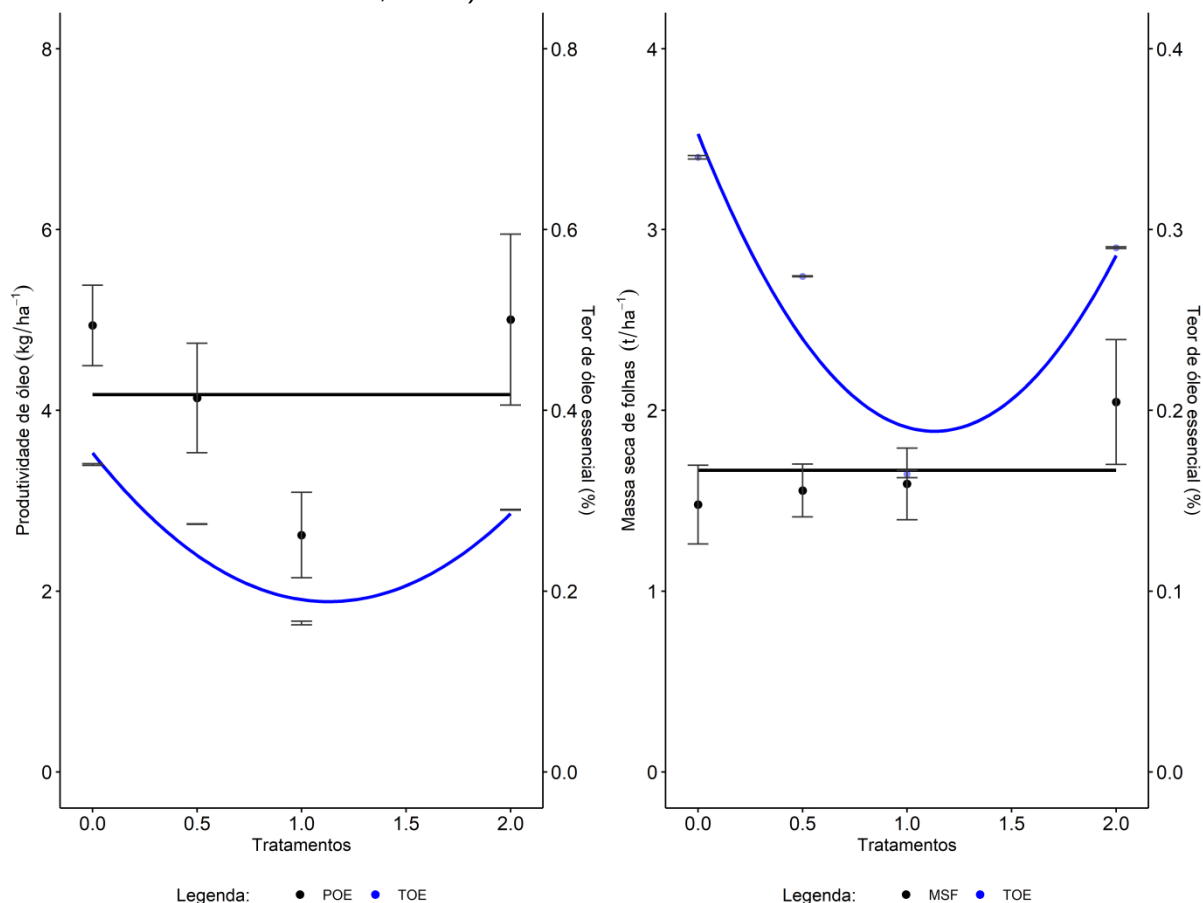
Resultados similares para essa tendência (apesar da não significância) de aumento de biomassa aérea, quanto maior a quantidade de nutrientes, foram encontrados por com Araújo (2007). A omissão de N em plantas cultivadas em vasos utilizando areia lavada como substrato e soluções nutritivas como fonte de nutrientes ocasionou limitações de crescimento em erva-baleeira, exemplificadas por: menor altura das plantas, menor quantidade de massa de folhas, caule e raiz. Da mesma

forma, Arrigoni-Blank et al. (1999) encontraram resultados que corroboram com os nossos, e relatam a queda de produção de folhas para a espécie quando omitidos N, K e B, o que também causa queda de rendimento de óleo essencial, por ser o local onde ele é armazenado. Apesar de não haver diferença estatística, a maior produtividade de biomassa por hectare na primeira colheita (Figura 6) foi observada no tratamento duas doses, apresentando 2,04 t ha⁻¹ para MSF e 2,66 t ha⁻¹ de MSR, totalizando 4,71 t ha⁻¹ de MSPA. Capaz (2017) obteve resultados similares com produção de biomassa de 5,69 t ha⁻¹ em plantas colhidas com 60 dias e dispostas em solo com nível de adubação médio. Entretanto, a pesquisa foi realizada em Parnaíba - PI, região mais quente, o que pode ter favorecido no desenvolvimento da cultura. Na segunda colheita (Figura 7), a maior produção de biomassa observada foi no tratamento duas doses, sendo 4,57 t ha⁻¹ para MSF e 8,28 t ha⁻¹ de MSR, gerando 12,85 t ha⁻¹ de MSPA, evidenciando a tendência de maior desenvolvimento de biomassa para a espécie em maiores doses de adubação. O tratamento controle gerou apenas 2,86 t ha⁻¹ de MSF e 4,17 t ha⁻¹ de MSR, totalizando 7,03 t ha⁻¹ de MSPA (Figura 7).

Com relação ao teor de óleo essencial, na primeira colheita, obteve-se o maior resultado no tratamento controle, com 0,337% ($p = 0,000065$) (Figura 8) (Apêndice F). Resultado semelhante foi observado para a espécie, onde maior teor de óleo essencial foi obtido em tratamentos com menores doses de adubação (ARAÚJO, 2007). Sodré (2013), verificou maior teor de óleo essencial em *Melissa officinalis* no tratamento controle, em detrimento a doses de adubação mineral e orgânica. Silva (2001) também relata maiores teores de óleo essencial obtidos em plantas de *Bacharis trimera* que não tiveram adubação.

Por outro lado, os resultados obtidos na primeira colheita mostram que com aplicação de duas doses de adubação o teor de óleo essencial nas folhas voltou a crescer, chegando a 0,287% (Figura 8) em relação ao peso de folhas secas utilizadas na destilação, todavia, significativamente inferior ao controle sem adubo. Araújo (2007) obteve em seu estudo, um acréscimo de teor de óleo essencial com solução nutritiva rica em N para a espécie, quando comparado com solução pobre em N. Todavia, a maior [N] não diferenciou significativamente da solução completa de SARRUGE.

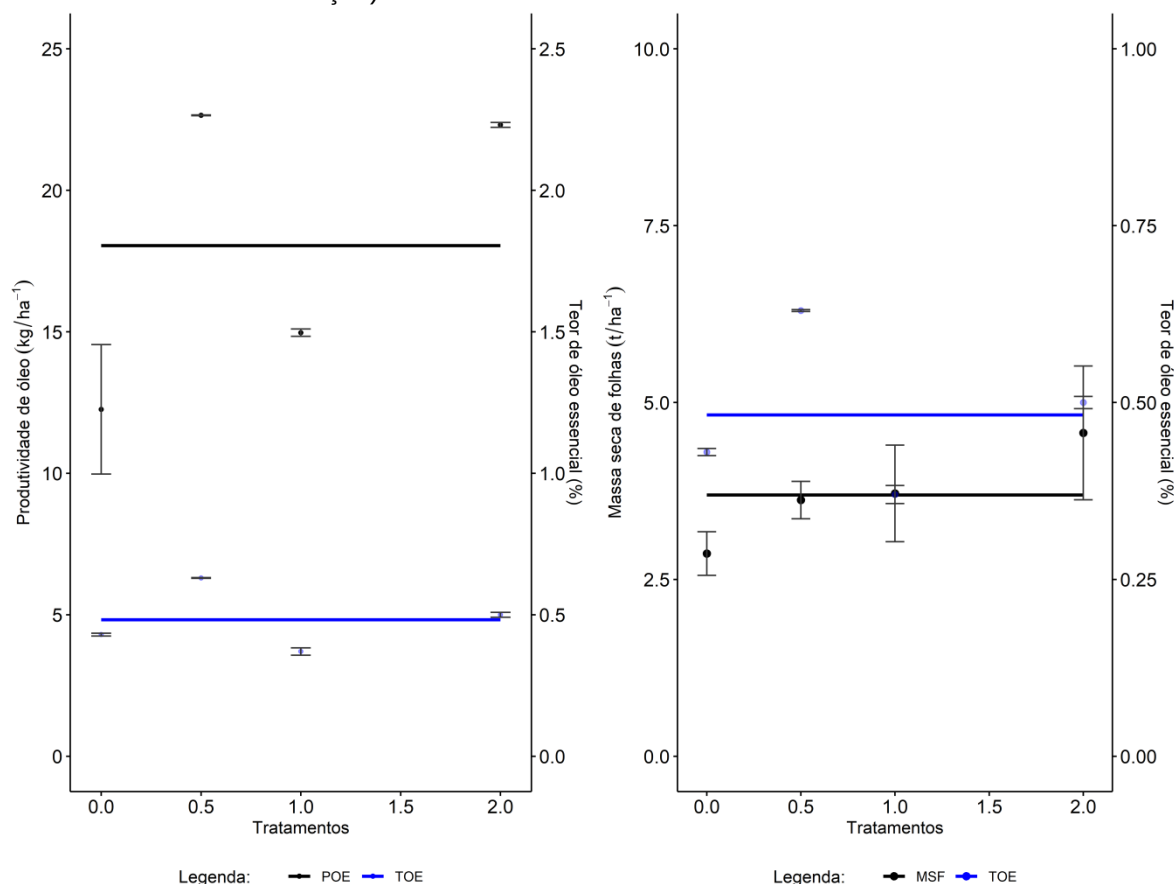
Figura 8 – Produtividade de óleo essencial de erva-baleeira (kg ha^{-1}), massa seca de folhas (T ha^{-1}) e teor de óleo essencial (%) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação). Ajuste modelo quadrático para a variável teor de óleo essencial ($y = 0.32 - 0.21x^2 + 0.8x$, $R^2 = 76$)



Fonte: O autor.

O maior valor para biomassa aérea foi em duas doses de N, P e K, que aliada ao ligeiro aumento do teor de óleo essencial gerou o maior rendimento de óleo essencial por hectare também para duas doses, todavia, não diferiu estatisticamente para o controle, sem adubação na primeira colheita. A maior produção de MSF gerou incremento nos valores de rendimento de óleo essencial apenas para o tratamento duas doses, sendo que nos tratamentos meia dose e uma dose o rendimento de óleo essencial foi menor mesmo com maior produção de MSF. A produtividade de óleo essencial estimado no tratamento controle e duas doses foi de: $4,94 \text{ kg ha}^{-1}$ e de $5,00 \text{ kg ha}^{-1}$ respectivamente, em plantas colhidas após 75 dias de adubação (Figura 8).

Figura 9 – Produtividade de óleo essencial de erva-baleeira (kg ha^{-1}), massa seca de folhas (T ha^{-1}) e teor de óleo essencial (%) em função de diferentes doses de adubação N, P e K aplicados nas plantas de erva-baleeira. Dados da 2ª colheita (370 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).



Fonte: O autor.

Plantas colhidas após dez meses de desenvolvimento no campo (370 dias após adubação) tiveram produtividade óleo essencial de $12,27 \text{ kg ha}^{-1}$ e $22,46 \text{ kg ha}^{-1}$ para o tratamento controle e duas doses, respectivamente, sem diferir significativamente (Figura 9). Maiores teores de óleo essencial devido a utilização de adubação também foram observados em manjerição, onde a utilização de taxas crescentes de nitrogênio contribuiu significativamente para o aumento da produção de óleo essencial. (KANDIL et al. 2009, NURZYĚSKA-WIERDAK; BOROWSKI 2011). Ainda na segunda colheita, (Figura 9), a baixa produção de MSF em plantas do tratamento controle pode gerar o decréscimo abrupto na produtividade de óleo essencial em relação ao tratamento duas doses. Com relação ao teor de óleo essencial de erva-baleeira, Capaz (2017) sugere que folhas mais velhas podem gerar decréscimo de óleo essencial, por senescência delas. Entretanto, o presente estudo

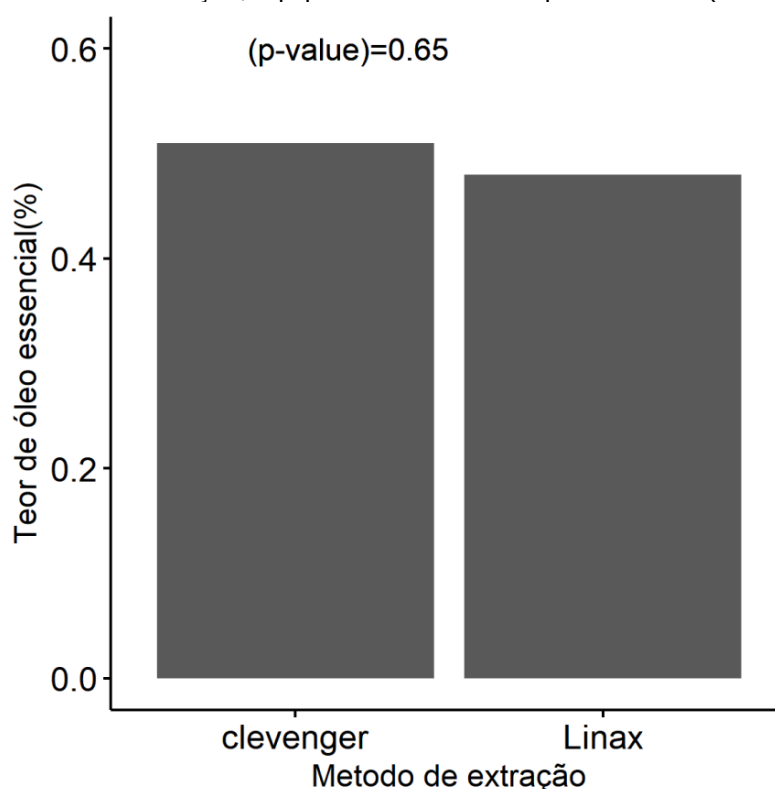
avaliou que plantas com maior tempo a campo apresentaram incremento no teor de óleo essencial em relação a primeira colheita, com o tratamento controle e duas doses alcançando 0,43% e 0,50% respectivamente, em relação a MSF de erva-baleeira extraídas em equipamento pré-industrial. O maior teor de óleo essencial na segunda colheita foi observado no tratamento meia dose, com 0,63%, porém não diferiu significativamente dos demais tratamentos (Apêndice F).

Há grande importância em encontrar as melhores condições de desenvolvimento para espécies medicinais, já que os óleos essenciais vêm sendo utilizados em diversas áreas da indústria e têm sido cada vez mais difundidos. Como consequência disso, há um aumento significativo de cultivos comerciais para suprir uma crescente demanda de mercado (DO et al., 2015).

Vitti e Brito (2003), observam que em plantios para produção de óleo essencial de eucalipto, é utilizada a técnica de talhadia (corte raso para rebrota de parte aérea), processo similar ao realizado neste estudo. Em função da exportação de nutrientes juntamente com a massa de parte aérea nas colheitas, haveria a necessidade de constante adubação na área de plantio. Entretanto, deve-se observar os possíveis impactos ambientais que altas doses de adubos podem causar, como por exemplo a contaminação de lençóis freáticos por nitratos, os quais podem causar envenenamento dos ecossistemas por eutrofização dos mananciais, causando crescimento exagerado de algas e plantas subaquáticas, dificultando a penetração de luz, oxigenação da água e conseqüente abalo no ecossistema (RESENDE, 2002).

Nas avaliações entre os métodos de obtenção, o equipamento em escala pré-industrial (Linax), que mimetiza o mecanismo de extração de destilarias de grande porte foi comparado ao aparato de Clevenger (Figura 10). Durante os processos de extração, são observadas algumas particularidades, como por exemplo: a exsudação do óleo essencial proveniente dos tricomas glandulares até a superfície do material vegetal e a transferência deste exsudato para a corrente de vapor circundante no leito de extração, o que pode interferir na quantidade de óleo essencial extraído em diferentes tipos de equipamentos e até mesmo alterar o número de compostos químicos presentes no óleo essencial (BUSATO et al., 2014; STEFFENS, 2010). Entretanto, não houve diferenças significativas de teor pelo teste T entre os métodos de extração.

Figura 10 – Variação do teor de óleo essencial de erva-baleeira obtido por meio de diferentes mecanismos de extração, equipamento em escala pré-industrial (Linax) e Clevenger.

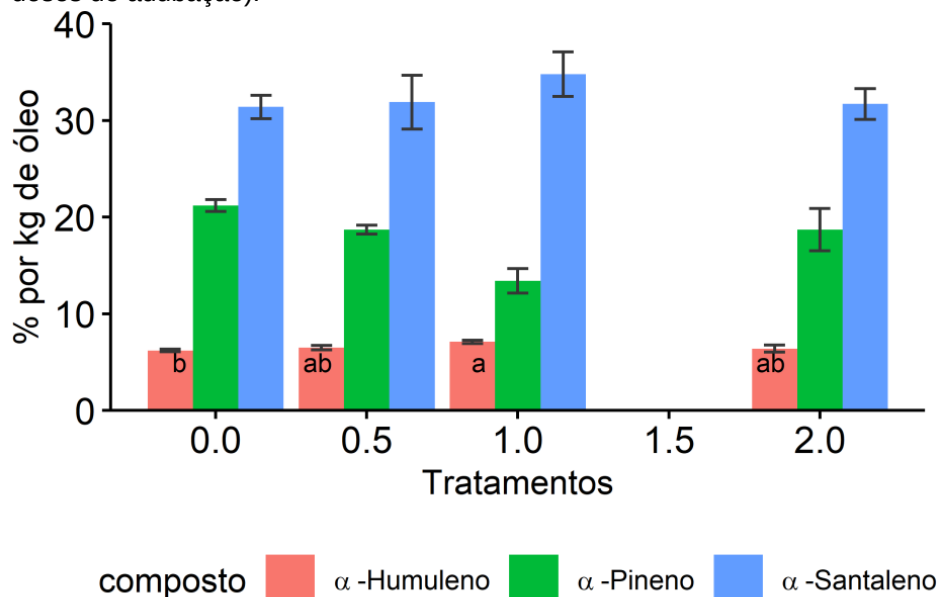


Fonte: O autor.

Em diferentes tratamentos nutricionais, não se verificou variabilidade entre os compostos majoritários, sendo os principais componentes encontrados: α -santaleno, α -pineno e α -humuleno (Figura 11). Já em relação à concentração dos compostos somente o α -humuleno apresentou diferença estatística entre os tratamentos, sendo que o tratamento uma dose, apresentou maior concentração, contudo sem diferir dos tratamentos meia dose e duas doses. Esse aumento na concentração dos compostos de interesse com a utilização da adubação, principalmente nitrogenada, também foi observado em abóbora medicinal (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*), onde os resultados indicaram que a fertilização nitrogenada aumentou o nível de β -sitosterol nas sementes (AROIEE; OMIDBAIGI, 2002). Em manjeriço, também foram observadas diferenças na composição do óleo quando utilizando adubação nitrogenada. Zheljzakov et al. (2008) relatam que o nitrogênio modificou significativamente a porcentagem de linalol, eugenol, acetato de bornila e eucaliptol no óleo essencial de manjeriço. A concentração de linalol e eugenol é a mais alta quando a menor taxa de nitrogênio é aplicada ($0,2 \text{ g N}\cdot\text{dm}^{-3}$),

enquanto a porcentagem de eucaliptol e o acetato de bornila são os mais altos nas maiores taxas (0,6 g N₂m⁻³) (NURZYŒSKA-WIERDAK; BOROWSKI 2011).

Figura 11 – Variação da composição química do óleo essencial de erva-baleeira submetida a diferentes níveis de adubação N, P e K. Dados da 1^a colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).



Fonte: O autor.

Além destes, também foram encontrados: α -cis-bergamoteno, β -bisaboleno, β -farneseno, sesquitujeno, (*E*)- α -santalal e (*E*)- α -bergamotenal, os quais somados representam cerca de 83,35% da concentração total de substâncias voláteis contidas no óleo essencial de erva-baleeira no tratamento controle, 81,13% no tratamento meia dose, 82,91% no tratamento uma dose e 83,18% no tratamento duas doses (Apêndices H, I, J, K e L).

Vale ressaltar que os componentes minoritários limoneno e canfeno não foram observados no tratamento uma dose. Segundo Gilbert e Favoreto (2012) o principal marcador químico do óleo essencial da espécie, o α -humuleno deve estar presente em concentrações mínimas de 2,3% das amostras, mostrando que todos os tratamentos estavam em conformidade em relação ao α -humuleno, que esteve presente em quantidades superiores ao recomendado para óleo essencial de erva-baleeira obtido com finalidade de utilização em formulações fitoterápicas, sendo esse também, o único componente a apresentar diferença estatística entre os tratamentos, com maior acúmulo no tratamento uma dose, com 7,08% (Apêndice K).

Todavia, o *trans*-cariofileno, uma substância comumente encontrada no óleo essencial de erva-baleeira e associada à função anti-inflamatória, não teve sua presença identificada nas análises cromatográficas realizadas. O fato pode ser explicado, devido ao índice de retenção muito próximo entre esta substância e o α -santaleno, as quais podem apresentar co-eluição de picos, sem que seja possível identificar exatamente qual dos componentes estão presentes nas amostras (UTCZÁS et al., 2016).

Outro fator de variabilidade química foi demonstrado em estudo desenvolvido por Matias et al. (2016) onde foi avaliada a composição química do óleo essencial em relação a sazonalidade de colheita da planta. Os autores observaram a ausência de *trans*-cariofileno, em amostras de óleo essencial destilado de plantas colhidas entre os meses de maio a setembro, coincidindo com o período da primeira colheita desse experimento.

Em pesquisas recentes sobre investigação da fração volátil de erva-baleeira, 53 componentes químicos foram relatados. Pela primeira vez, foram identificados (*E*)- α -santalal e (*E*)- α -bergamotenal, além da identificação de α -santaleno em quantidades maiores em relação ao *trans*-cariofileno (SCIARRONE et al., 2017). A identificação de novos componentes e a melhoria nos métodos analíticos, auxilia em pesquisas e pode proteger o mercado de adulterações nos óleos essenciais, problema crescente devido ao aumento da demanda e ao alto preço dessa classe de produtos naturais (DO et al., 2015).

Variações de composição química, mesmo não significativas, e no rendimento de óleos essenciais submetidos a diferentes níveis de fertilização já são reportados em algumas espécies na literatura (ONOFREI et al., 2018; NURZYNSKA-WIERDAK, 2013; SANGWAN et al., 2001), entretanto, as diversas correlações nutricionais podem interferir no desenvolvimento de uma planta a campo, tornando-se complexo o entendimento das respostas fisiológicas geradas sem avaliação dos nutrientes isolados entre si (TAIZ et al., 2017). O nitrogênio por exemplo, está implicado em diversas funções essenciais para a sobrevivência das plantas, sendo parte importante desde a formação de clorofilas, purinas e pirimidinas, encontradas em ácidos nucleicos de DNA e RNA, as quais tem papel fundamental na síntese de proteínas, evidenciando o grau de conectividade entre metabolismo primário e

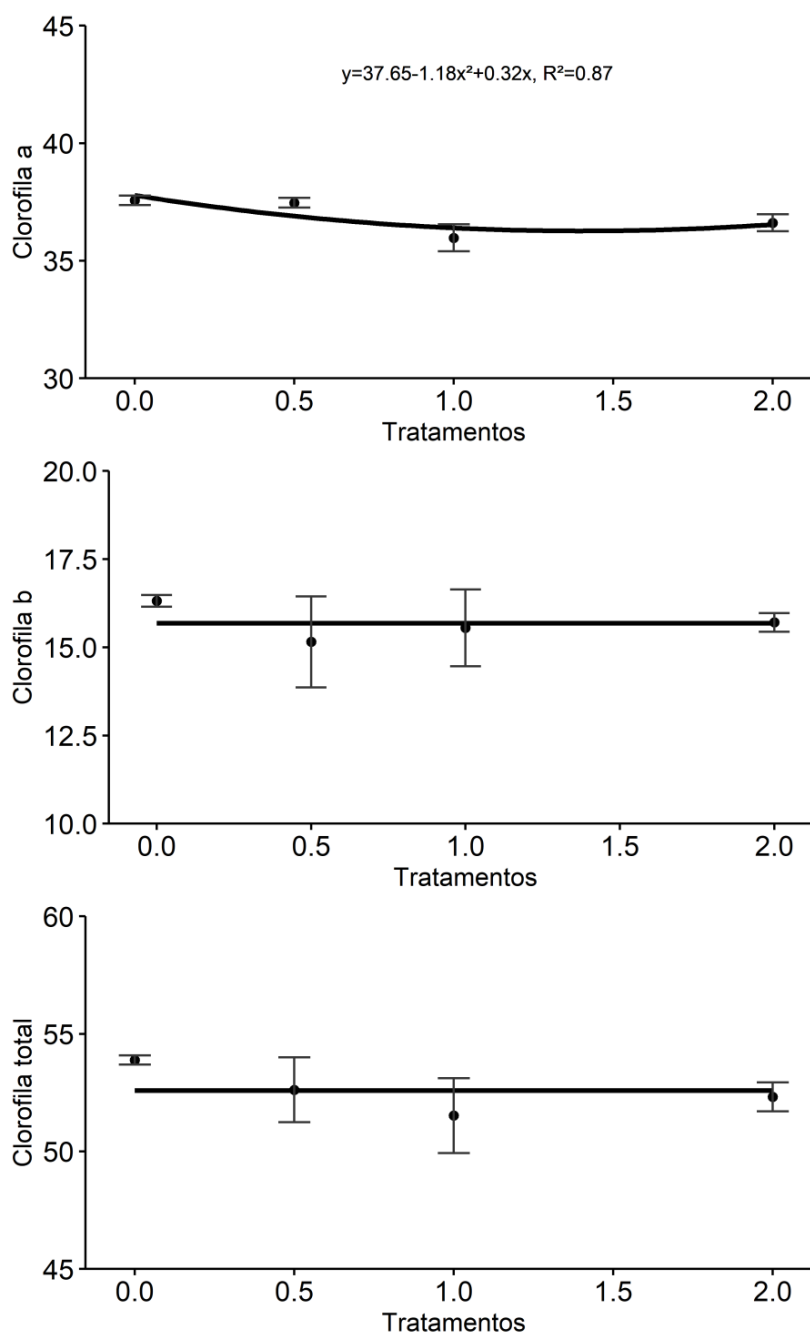
especializado (SAID-AL et al., 2009).

Durante a primeira colheita foram avaliados os teores de clorofilas e com base nos resultados obtidos, foram observadas diferenças somente para o teor de clorofila A. Houve um efeito quadrático das doses de NPK sobre o teor de clorofila a, a dose de máxima eficiência técnica é 1.8 de NPK o que corresponde a um valor de clorofila de 34.40 (Figura 12). Clorofilas B e Total não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos avaliados com aumento de doses de adubação (Figura 12 e Apêndice N). Resultados diferentes foram obtidos por Aroiee e Omidbaigi (2002) com abóbora medicinal (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*), onde os resultados indicaram que a fertilização nitrogenada aumentou a quantidade de clorofilas e teor de N das folhas em relação ao controle.

Maiores níveis de clorofila geralmente estão associados à maiores doses de N, medida essa que apresenta correlação positiva ao acúmulo de massa seca e pode ser um indicador de avaliação do estado nutricional das plantas para teor de N (SILVEIRA et al., 2013; VALE; PRADO, 2009). Entretanto, algumas espécies não reagem da mesma forma. *Achillea millefolium*, conhecida popularmente como “mil folhas”, adubada com diferentes doses de N apresentou acúmulo de massa seca de folhas, mas não demonstrou diferença significativa nas quantidades de clorofilas entre os tratamentos, sugerindo que as doses iniciais de N já foram suficientes para suprir as necessidades metabólicas da planta (LIMA et al., 2011).

A concorrência entre metabólitos secundários e o teor de clorofila se encaixa bem com a previsão do modelo de competição proteica, de que o conteúdo de metabólitos secundários é controlado pela competição entre a biossíntese de proteínas, a via de metabólitos secundários e sua regulação de metabólitos. A relação negativa entre os metabólitos secundários e a clorofila é um sinal de mudança gradual do investimento da produção de proteínas para polifenóis (MEYER et al., 2006). A mesma descoberta foi obtida por Harvaux e Kloppstech (2001) sobre flavonóides e teor de clorofila em *Arabidopsis*, que sugere que a produção de metabólitos secundários compete com a proteína de captação de luz quando o nível de nitrogênio do solo era baixo. Neste trabalho podemos observar que os níveis de nitrogênio presentes no solo eram suficientes para espécie, pois mesmo no tratamento controle não ocorreu decréscimo nos teores de clorofila.

Figura 12 – Teores de clorofilas A, B e total em função de diferentes doses de adubação aplicados nas plantas erva-baleeira. Dados da 1ª colheita (75 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).

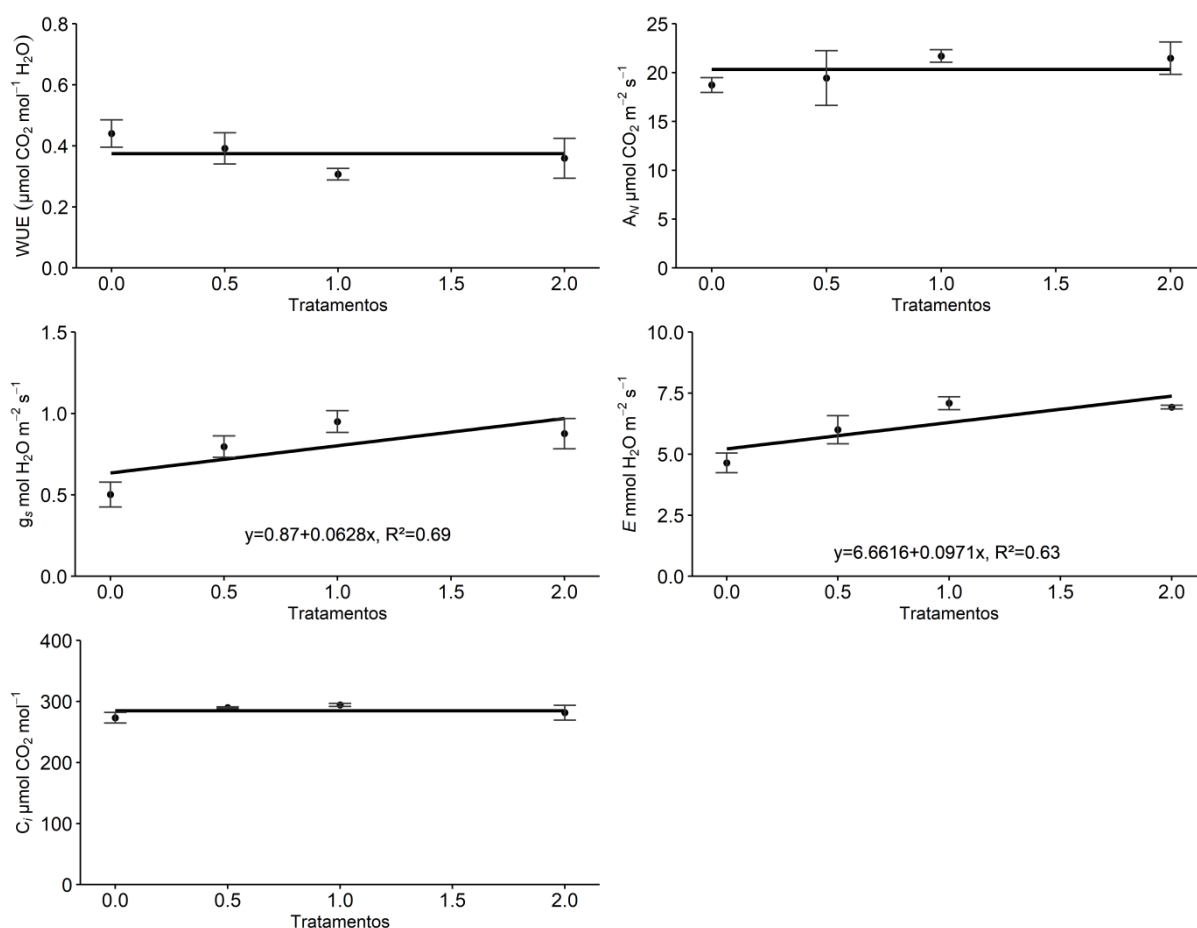


Em erva-baleeira submetida à diferentes tratamentos de estresse hídrico, também não foi observado diferença significativa dos índices de clorofila (BOLINA, 2015), evidenciando que mesmo sob estresse nutricional ou hídrico a planta

não apresenta variações significativas para teor de clorofila.

Na segunda colheita deste estudo (Figura 13 e Apêndice O), foram avaliadas as trocas gasosas em plantas de erva-baleeira, pois conhecer e estudar os efeitos que a temperatura, umidade relativa do ar e radiação solar exercem sobre os parâmetros das trocas gasosas nas plantas pode ser um caminho importante para traçar práticas de manejo diferenciadas, otimizando produtividade a campo (DALASTRA, 2014).

Figura 13 – Trocas Gasosas: Eficiência do uso de água (WUE, mmol/mol), taxa de assimilação de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração de CO_2 intracelular (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) em função de diferentes níveis de adubação NPK aplicados nas plantas erva-baleeira. Dados da 2ª colheita (370 dias após a aplicação de diferentes doses de adubação).



Não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos de adubação e as variáveis mensuradas para trocas gasosas, na segunda colheita do presente trabalho. Entretanto, houve um efeito linear das doses

de NPK sobre as variáveis condutância estomática e taxa de transpiração. Nos tratamentos uma e duas doses, a condutância estomática (g_s) e a taxa de transpiração (E) estavam mais elevadas, coincidindo com os menores teores de óleos essenciais. Isso pode ocorrer devido ao desvio do fluxo de carbonos para o metabolismo primário. Em situações que ocorrem deficiências ou suprimento de nutrientes abaixo do ideal, inicialmente é mais provável que ocorra uma redução do crescimento celular e da área foliar, antes que haja qualquer redução na fotossíntese líquida (CHAPIN et al., 1987; MARCHESI; FIGUERA, 2005). Este fato pode ser observado neste trabalho, onde ocorreu uma redução da massa seca produzida no tratamento controle em relação aos demais.

Em recente estudo com erva-baleeira, observou-se a redução nas variáveis de condutância estomática (g_s) e taxa de transpiração (E) em tratamentos com aplicação de elicitores, principalmente entre 72h e 144h após a aplicação, resultando em fechamento estomático e conseqüentemente afetando a taxa de assimilação de carbono (A), concentração de carbono intracelular (Ci) e taxa de transpiração (E). Os maiores teores de óleos essenciais foram encontrados nessas condições (TONIAL et al., 2020).

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, destilarias com grande capacidade de processamento de material vegetal podem utilizar adubação mais rica e fazer menos cortes ao ano, enquanto que destilarias de pequeno porte podem fazer podas frequentes como a primeira colheita desse estudo, em plantas pouco adubadas, que irão gerar menos biomassa com teores de óleo essencial elevados devido ao estresse nutricional, diminuindo custos de produção.

Cada agricultor deve adaptar-se ao seu processo produtivo de acordo com a sua realidade, portanto é necessária uma análise ampla em cada cenário escolhido pelos produtores, levando-se em conta desde os tratos culturais e implementos disponíveis até a capacidade de processamento da matéria prima coletada.

Outro fator importante é a qualidade do óleo essencial, sendo que para a primeira colheita, foram realizadas seis análises cromatográficas por tratamento, visando minimizar erros de identificação dos componentes químicos presentes nos óleos essenciais extraídos para o presente trabalho. A segunda colheita não foi

avaliada quimicamente por falta de tempo hábil em obter os resultados das análises cromatográficas.

A partir de valores de atacado obtidos por fabricantes de óleo essencial da espécie (R\$ 3.200,00) e sabendo que o produto obtido atende as especificações para produção de fitoterápicos, quando relacionados ao melhor resultado de produção de biomassa a campo (duas doses) obtidos nas duas colheitas realizadas durante o ano agrícola em que o experimento foi conduzido, o melhor cenário poderia gerar, por hectare, uma receita bruta de R\$ 87.872,00 em vendas de óleo essencial no atacado.

6 CONCLUSÕES

A utilização de diferentes doses de adubo não apresentou influência estatística significativa sobre a produtividade de óleo essencial. Todavia, há tendência de maior produção de massa seca de folhas por área em plantas de erva-baleeira quando aplicadas duas doses de adubação.

O teor de óleo essencial foi maior no tratamento sem adubação para a primeira colheita. Para a segunda colheita não ocorreu diferença estatística significativa sobre esta variável.

A aplicação de diferentes doses de adubação em plantas de erva-baleeira apresentou diferença estatística sobre o teor de α -humuleno, sendo a maior concentração obtida com uma dose de adubação. Em relação aos demais compostos não houve diferença estatística.

Os principais compostos obtidos no óleo essencial de erva-baleeira na primeira colheita foram α -humuleno, α -pineno e α -santaleno.

Não houve diferença significativa na obtenção de óleo essencial entre os métodos de hidrodestilação e arraste de vapor.

Teores de clorofila não diferiram entre si com a aplicação de diferentes níveis de adubação N, P e K.

Não houve diferença estatística entre os parâmetros fisiológicos de trocas gasosas avaliados no presente trabalho.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O experimento mostrou-se desafiador pela falta de informações existentes sobre o manejo da cultura de erva-baleeira.

A erva-baleeira é uma planta que possivelmente irá configurar grande interesse econômico no futuro, pois seus benefícios medicinais são comprovados e pesquisas vêm sendo desenvolvidas para a flexibilização de uso em diversas áreas industriais.

O cultivo perene de erva-baleeira avaliado no presente estudo teve aumento de biomassa e leve incremento de teores de óleos essenciais com os maiores níveis de adubação aplicados, portanto novos trabalhos podem ser conduzidos com níveis superiores de adubação aos sugeridos, para verificar a melhor eficiência técnica entre massa seca de folhas e teores de óleo essencial presentes nas mesmas.

Interações ainda desconhecidas em plantios perenes de erva-baleeira, em relação a dosagens de micro e macronutrientes merecem ser estudadas.

Apesar do potencial anti-inflamatório evidente da espécie, que já figura como um importante ativo da economia nacional no mercado de óleos essenciais, poucos estudos sobre o manejo da cultura têm sido relatados.

No Brasil, há pequenos produtores que realizam o plantio consorciado da espécie para otimização da área, e que colhem manualmente suas plantas.

Há também, grandes indústrias produtoras de óleo essencial que já possuem suas próprias metodologias de plantio de erva-baleeira, com base na adaptação dos insumos utilizados em colheita mecanizada, não levando em conta melhores cenários de produtividade de campo, mas sim a praticidade de utilização das ferramentas que estão disponíveis.

Vários são os perfis químicos encontrados em óleos essenciais de erva-baleeira, e hoje fala-se muito mais em padronização para a indústria farmacêutica, apesar das demais utilizações que este óleo essencial possui.

Quando o óleo essencial produzido não se encaixa em um padrão de consumo, esse pode ser utilizado para outras finalidades por ter complexidade química na sua composição.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Gruver: Allured Publishing Corporation Carol Stream, 2007. 698p.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**. v. 22, n. 6, p. 711-728. 2013.
- ARAÚJO, J. S. **Desenvolvimento vegetal, produção e composição Química do óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) em função do fornecimento de N, P, K e B e da aplicação de ácido jasmônico**. 2007. 85f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Campinas, Campinas, 2007.
- ARRIGONI-BLANK, M. F.; FAQUIN, V.; PINTO, J. E. B. P.; BLANK, A. F.; LAMEIRA, O. A. Adubação química e calagem em erva-baleeira. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 211-215, 1999.
- AROEIE, H.; OMIDBAIGI, R. Effects of nitrogen fertilizer on productivity of medicinal pumpkin. In: **XXVI International Horticultural Congress: The Future for Medicinal and Aromatic Plants**, v. 629, p. p. 415-419, 2002.
- BHERING, S.B.; SANTOS, H.G.; BOGNOLA, I.A.; CÚRCIO, G.R.; MANZATTO, C.V.; CARVALHO JUNIOR, W.; CHAGAS, C.S.; ÁGLIO, M.L.D.; SOUZA, J.S. **Mapa de solos do Estado do Paraná: legenda atualizada**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CIAPAR. 2008. 74 p.
- BIASI, L. A; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009. 160p.
- BISCHOFF, A. M.; VENDRAMIM, D. W.; GOMES, E. N.; RIBAS, K. C. Z.; ENGEL, M. L.; MAGGIONI, R. A. Enraizamento de estacas de erva-baleeira em função de diferentes concentrações de ácido indol butírico e número de folhas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 1, p. 41-47, 2017.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BOLINA, C. O. **Metabolismo, desenvolvimento e composição química de *Varronia curassavica* Jacq. em função da supressão da irrigação**. 2015, 89f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA ECONOMIA. NCM - **Nomenclatura Comum do Mercosul**. 2019. Disponível em: <http://receita.economia.gov.br/orientacao/aduaneira/classificacao-fiscal-de-mercadorias/ncm>. Acesso em: 10 abr. 2020.

BROETTO, F.; GOMES, E.R.; JOCA, T. A. C. **O estresse das plantas: teoria & prática**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2017.

BUSATO, N. V.; SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O. S; COSTA JUNIOR, E. F. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v.44, n.9, p.1574-1582, 2014

CHAPIN, F.S.; BLOOM, J.J.; FIELD AND, C.B.; WARING, R.H. Plant responses to multiple environmental factors. **BioScience**. v. 37, p. 49-57, 1987.

CANTER, P.; Thomas, H.; Ernst, E. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 4, p. 180-185, 2005.

CAPAZ, R. P. S. **Avaliação da rebrota de erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) cultivada em Parnaíba, PI e Botucatu, SP, na produtividade de biomassa e teor de alfa-humuleno do óleo essencial**. 2017. 55f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

CARVALHO, JR. A.; RODRIGUES A, R. F. O.; SAWAYAA, A. C. H. F.; MARQUES, M. O. M.; SHIMIZUA, M. T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D.C. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 1, p. 297-301, 2004.

DALASTRA, G. M.; ECHER, M.M.; GUIMARÃES, V. F.; HACHMANN, T. L.; INAGAKI, A.M. Trocas gasosas e produtividade de três cultivares de meloeiro conduzidas com um e dois frutos por planta. **Bragantia**, v. 73, n. 4, p. 365-371, 2014.

DIAFÉRIA, A. A Riqueza da biodiversidade brasileira e o desafio para um novo regime jurídico. **Revista Facto**, v. 6, n. 33, p. 13-15, 2012.

DO, T. K. T.; HADJI-MINAGLOU, F.; ANTONIOTTI, S.; FERNANDEZ, X. Authenticity of essential oils. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 66, p. 146-157, 2015.

DUDAREVA, N.; ANTJE, J. K.; MUHLEMANN, K.; KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16-32, 2013.

EDRIS, A. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 1, p. 308-

323, 2007.

ELMANN, A.; MORDECHAY, S.; RINDNER, M.; LARKOV, O.; ELKABETZ, M.; RAVID, U. Protective Effects of the essential oil of *Salvia fruticosa* and its constituents on astrocytic susceptibility to hydrogen peroxide-induced cell death. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 57, p. 6636-6641, 2009.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p

ERENO, D. **Da natureza para a farmácia**. Pesquisa FAPESP, v. 110, n. 1, p. 78-81, 2005.

FALKER. **Como o índice ICF é calculado?** Disponível em: https://www.falker.com.br/base/article/AA_00299/0/Como_o_índice_ICF_é_calculado.htm. Acesso: 04 abr 2020.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-transcaryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, n. 2, p. 228-236. 2007.

FERQUIMA. **Erva Baleeira**. Disponível em: <http://vendas.ferquima.com.br/ervabaleeira500.html>. Acesso em: 10 abr. 2020.

FERREIRA, J. Nutrient deficiency in the production of artemisinin, dihydroartemisinic acid, and artemisinic acid in *Artemisia annua* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55; n. 5, p. 1686-1694, 2007.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Cordia verbenacea* DC Boraginaceae. **Revista Fitos**, v. 7, n. 1, p. 17-25, 2012.

GROUH, M. A. H.; BORROOMAND, N. Macroelements nutrition (NPK) of medicinal plants: A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 12, p. 2249-2255, 2012.

HARMONIA NATURAL. **Óleo essencial de Erva baleeira (*Cordia verbenacea*)**. Disponível em: <http://www.lojavirtual.harmonianatural.net/categoria/oleos-essenciais-8/erva-baleeira-46/1>. Acesso em: 10 abr. 2020.

HERNANDEZ, T.; CANALES, M.; TERAN, B.; ÁVILA, O.; DURAN, A.; GARCIA, A. M.; HERNANDEZ, H.; ANGELES-LOPEZ, O.; FERNANDEZ-ARAIZA, M.; ÁVILA, G. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 4, p. 137-141, 2007.

ISO. **ISO 9235: Aromatic natural raw materials. 2013.** Disponível em: <https://www.iso.org/standard/51017.html>. Acesso em: 10 abr. 2020.

KANDIL, M.A.M.; KHATAB, M.E.; AHMED, S.S.; SCHNUG, E. Herbal and essential oil yield of Genovese basil (*Ocimum basilicum* L.) grown with mineral and organic fertilizer sources in Egypt. **Journal für Kulturpflanzen**. v. 61, n. 12, p. 443-449. 2009.

LEAL-COSTA, M. V.; AMÉLIA, R. P. Anatomia foliar de *Varronia curassavica* Jacq. (Cordiaceae). **Revista Fitos**, v. 11, n. 1, p. 111-118, 2017.

LEGEÉ. **Óleo essencial de Erva Baleeira (*Cordia verbenacea*)**. Disponível em: <https://www.legeearomas.com.br/oleo-essencial-de-erva-baleeira>. Acesso em: 10 abr. 2020.

LIMA, M. C.; AMARANTE, L.; MARIO, M. P.; SERPA, R. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, v.41, n.1, 2011.

LORENZI, H.; MATTOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

MATIAS, E. F.; ALVES, E. F.; SILVA, M. K.; CARVALHO, V. R.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, J. V.; COUTINHO, H. D. M.; SILVA, J. M. F. L.; FILHO, J. R.; COSTA, J. G. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 45-53, 2016.

MEYER, S.; CEROVIC, Z.G.; GOULAS, Y.; MONTPIED, P., DEMOTES, S.; BIDL, L.P.R.; MOYA, I.; DREYER, E. Relationship between assessed polyphenols and chlorophyll contents and leaf mass per area ratio in woody plants. **Plant Cell Environment**, v. 29, p. 1338-1348, 2006.

HARVAUX, M.; KLOPPSTECH, K. The protective functions of carotenoids and flavonoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis*. **Planta**, v. 213, n. 6; p. 953-966, 2001.

MONTANARI JUNIOR, I. **Variabilidade genética em uma população de *Cordia verbenacea* DC. para características agrônômicas e fitoquímicas**. 2011. 77f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

NIZIO, D. A. C. **Estudo fitoquímico e atividades antifúngica e antiprotozoária do**

óleo essencial de genótipos de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). 2015. 109f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2015.

NURZYŃSKA-WIERDAK R.; BOROWSKI B. Changes in the content and chemical composition of sweet basil essential oil under the influence of fertilization of plants with nitrogen and potassium. **Pharmacia**24, v. 3, n. 15, p. 133-145, 2011.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R. Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants? **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, v. 12, n. 5, p. 3-16, 2013.

OLIVEIRA, M. **Laboratório em renovação.** Pesquisa FAPESP, v. 255, n. 2, p. 74-77, 2017.

OLIVEIRA, B. M. S.; BLANK, A. F.; NIZIO, D. A. C.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; NASCIMENTO, L. F. A.; SÁ FILHO, J. C. F. Morpho-agronomic characterization of *Varronia curassavica* germplasm conserved "ex situ". **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 353-363, 2020.

ONOFREI, V.; BENCHENNOUF, A.; JANCHEVA, M.; LOUPASSAKI, S.; OUARET, W.; BURDUCEA, M.; LOBIUC, A.; TELIBAN, G. C.; ROBU, T. Ecological foliar fertilization effects on essential oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivated in a field system. **Scientia Horticulturae**, v. 239, p. 104-113, 2018.

OSHADHI. **Erva Baleeira - Óleo Essencial Selvagem.** Disponível em: <https://www.oshadhi.com.br/produto/erva-baleeira-oleo-essencial-selvagem-5ml/>. Acesso em: 10 abr. 2020.

PASSOS, G. F.; FERNANDES, E. S.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Antiinflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323-333, 2007.

PAULILO, M. T. S.; LAPA, F. S.; FALKENBERG, M. de B. Effect of light intensity and growth substratum on plant development and production of secondary metabolites in *Cordia curassavica* (Jacq.) Roem. & Schult. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 417-423, 2010.

QUEIROZ, T. B.; MENDES, A. D. R.; SILVA, J. C. R. L.; FONSECA, F. S. A.; MARTINS, E. R. Teor e composição química do óleo essencial de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.) em função dos horários de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, supl. I, p.356-362, 2016.

QUISPE-CONDORI, S.; FOGGIO, M. A.; ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Obtaining β -caryophyllene from *Cordia verbenacea* de Candolle by supercritical fluid extraction.

The Journal of Supercritical Fluids, v. 46, p. 27-32, 2008.

RESENDE, Á. V. **Agricultura e qualidade da água**: contaminação da água por nitrato. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 29, 2002.

ROLDÃO, E. F.; WITAICENIS, A.; SEITO, L. N.; HIRUMA-LIMA, C. A.; DI STASI, L. C. Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 1, p. 94-98, 2008.

SAID-AL, H. A. H.; OMER, E.A.; NAGUIB, N. Y. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. **International Agrophysics**, v. 23, p. 269-275, 2009.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A., SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 3-21, 2001.

SCIARRONE, D.; GIUFFRIDA, D.; ROTONDO, A.; CALIZZI, G.; ZOCCALI, M. S.; PANTÒC, S.; DONATO, P.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; MONDELLO, L. Quali-quantitative characterization of the volatile constituents in *Cordia verbenacea* D.C. essential oil exploiting advanced chromatographic approaches and nuclear magnetic resonance analysis. **Journal of Chromatography**, v. 1524, n. 1, p. 246-253, 2017.

SERTIÈ, J. A. A.; WOISKY, R. G.; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and toxicity of a crude leaf extract. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 338-344, 2005.

SILVA, A. C.; SOUZA, P. E.; PINTO, J. E. B. P. Essential oils for preventative treatment and control of Asian soybean rust. **European Journal of Plant Pathology**, v. 134, n. 2, p. 865-871, 2012.

SILVA, F. G. **Estudos de calogênese in vitro e dos efeitos do manejo fitotécnico no crescimento e produção de óleo essencial em plantas de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.]**. 2001. 128f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

SILVEIRA, P. M.; BRAZ, A. J. B. P.; DIDONET, A. D. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1083-1087, 2003.

SINGH, P.; MISRA, A.; SRIVASTAVA, N. Influence of mn deficiency on growth, chlorophyll content, physiology, and essential monoterpene oil(s) in genotypes of spearmint (*Mentha spicata* L.). **Photosynthetica**, v. 39, n. 1, p. 473-476, 2001.

SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE – SUS. **MS elabora relação de plantas medicinais de interesse ao SUS.** Disponível em:

http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf. Acesso em: 09 abr. 2020.

SODRÉ, A. C. B. **Biomass, yield and composition of Melissa officinalis essential oil as a function of organic and mineral fertilization**. 2007. 48f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

SOUZA, M. F.; MANGANOTTI, S. A.; SOUZA, P. N. S.; MESSULAN RODRIGUES MEIRA, M. R.; MATOS, C. C.; MARTINS, E.R. Influência do horário de coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. **Biotemas**, v. 24, n. 1, p. 9-14, 2011.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. 2010. 68f. Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

UTCZÁS, M.; MICALIZZI, G.; MONDELLO, L. **Characterization of the volatile fraction of Brazilian essential oil, namely *Cordia verbenaceae***. Shimadzu Corporation. 2016. Disponível em: <https://www.shimadzu.com/an/literature/gcms/jpo216088.html>. Acesso em: 20 jun. 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TAWFEEQ, A; CULHAM, A.; MARTIN, F.; REEVES, M. Does the type of fertilizer and the method of application cause significant differences in the yield and composition of the essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)? **Elsevier**, v. 88, n. 3, p. 17-22, 2016.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. **Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals**. United States: Churchill Livingstone, 2014. 784p.

TONIAL, C. H.; RODRIGUES, M. F. F.; BOSSE, M. A.; SOUSA, I. M.O. LIMA, J. D.; CUNHA, M. A. A.; FOGGIO, M. A.; MARQUESE, M. O. M.; MARCHESE, J. A. Technical and economic evaluation of cultivation and obtaining of *Varronia curassavica* Jacq. essential oil. **Industrial Crops & Products**, v. 154 p. 112650, 2020.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, n. 1, p. 463-471, 1963.

VALE, D. W.; PRADO, R. M. Adubação com NPK e o estado nutricional de 'citrumelo' por medida indireta de clorofila. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 2, p. 266-271,

2009.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de eucalipto**. Documentos florestais, n. 17, p. 26, 2003.

ZHELJAZKOV V.D.; CANTRELL C.L.; EBELHAR M.W.; ROWE D.E.; COKER CH. Productivity, oil content, and oil composition of sweet basil as a function of nitrogen and sulphur fertilization. **Horticulture Science**, v. 43, n. 5, p. 1415-1422, 2008.

ÍNDICE DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Massa seca de folhas (MSF; t ha ⁻¹), massa seca de ramos (MSR; t ha ⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA; t ha ⁻¹), teor de óleo essencial em relação ao peso seco extraído em Clevenger (TOE CLEV %), teor de óleo essencial em relação ao peso seco extraído em escala piloto (TOE LINAX %) produtividade de óleo essencial em relação ao peso seco extraído em escala piloto (POE; kg ha ⁻¹).....	59
APÊNDICE B - Quadro da análise de variância para a variável massa seca de folhas (t ha ⁻¹).....	59
APÊNDICE C - Quadro da análise de variância para a variável massa seca de ramos (t ha ⁻¹).....	60
APÊNDICE D - Quadro da análise de variância para a variável massa seca de parte aérea (t ha ⁻¹).....	60
APÊNDICE E – Quadro da análise de variância para a variável produtividade de óleo kg ha ⁻¹	61
APÊNDICE F – Quadro da análise de variância para a variável teor de óleo essencial (%).	61
APÊNDICE G – Análise de solo após a segunda colheita de acordo com as doses de nitrogênio, fósforo e potássio aplicadas no solo.	62
APÊNDICE H - Quadro da análise de variância para as variáveis teor de compostos em óleo essencial de erva-baleeira.	62
APÊNDICE I – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento controle da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.	63
APÊNDICE J – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento meia dose da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.	64
APÊNDICE K – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento uma dose da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.	65
APÊNDICE L – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento duas doses da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.	66
APÊNDICE M – Análise foliar dos tratamentos na primeira colheita.....	67
APÊNDICE N – Quadro da análise de variância para as variáveis teor de clorofila A, B e total da primeira colheita.	67
APÊNDICE O – Quadro da análise de variância para as variáveis teor de WUE $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$, A $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; g $\text{mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; C $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ da segunda colheita.....	68

APÊNDICES

APÊNDICE A – Massa seca de folhas (MSF; t ha⁻¹), massa seca de ramos (MSR; t ha⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA; t ha⁻¹), teor de óleo essencial em relação ao peso seco extraído em Clevenger (TOE CLEV %), teor de óleo essencial em relação ao peso seco extraído em escala piloto (TOE LINAX %) produtividade de óleo essencial em relação ao peso seco extraído em escala piloto (POE; kg ha⁻¹).

1ª colheita				
	Controle	Meia dose	Uma dose	Duas doses
MSR	1,78±0,23	1,99±0,26	2,08±0,382	2,66±0,45
MSF	1,48±0,22	1,57±0,15	1,59±0,20	2,045±0,35
MSPA	3,25±0,44	3,546±0,41	3,68±0,56	4,71±0,79
TOE LINAX	0,337±0,009	0,7±0,002	0,166±0,02	0,287±0,004
POE LINAX	4,94±0,44	4,14±0,61	2,62±0,47	5,00±0,94
2ª colheita				
	Controle	Meia dose	Uma dose	Duas doses
MSR	4,17±0,48	6,00±0,33	5,82±0,97	8,28±2,44
MSF	2,86±0,31	3,62±0,26	3,71±0,68	4,57±0,95
MSPA	7,03±0,78	9,63±0,56	9,53±1,55	12,85±3,38
TOE CLEV	0,501±0,07	0,701±0,16	0,301±0,09	0,547±0,10
TOE LINAX	0,43±0,05	0,63±0,02	0,37±0,13	0,5±0,09
POE LINAX	12,27±2,29	22,65±1,18	14,97±9,75	22,46±9,00

APÊNDICE B - Quadro da análise de variância para a variável massa seca de folhas (t ha⁻¹).

Primeira colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.59011	0.196705	1.95614	0.22204
Bloco	2	0.0779	0.038948	0.38732	0.6947
Resíduo	6	0.60335	0.100558		
Total	11	1.27136			
C.V.				19,00%	
Segunda colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	4.3815	1.46049	1.95835	0.22171
Bloco	2	0.1087	0.05436	0.07289	0.93051
Resíduo	6	4.4746	0.74577		
Total	11	8.9648			
C.V.				23,38%	

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; Fc: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE C - Quadro da análise de variância para a variável massa seca de ramos (t ha⁻¹).

Primeira colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1.28417	0.42806	2.09912	0.20178
Bloco	2	0.19228	0.09614	0.47146	0.6454
Resíduo	6	1.22353	0.20392		
Total	11	2.69998			
C.V.				21,23%	

Segunda colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	25.762	8.5873	2.70927	0.13808
Bloco	2	2.67	1.3349	0.42115	0.67429
Resíduo	6	19.018	3.1696		
Total	11	47.449			
C.V.				29,33%	

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; FC: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE D - Quadro da análise de variância para a variável massa seca de parte aérea (t ha⁻¹).

Primeira colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	3.5932	1.19775	2.08586	0.20356
Bloco	2	0.514	0.25702	0.44759	0.6589
Resíduo	6	3.4453	0.57422		
Total	11	7.5526			
C.V.				19,96	

Segunda colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	51.24	17.08	2.52364	0.15426
Bloco	2	3.638	1.8188	0.26873	0.77308
Resíduo	6	40.608	6.768		
Total	11	95.486			
C.V.				26,65%	

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; FC: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE E – Quadro da análise de variância para a variável produtividade de óleo kg ha⁻¹.

Primeira colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	11.0726	3.6909	4.537	0.05495
Bloco	2	0.1696	0.0848	0.1042	0.90263
Resíduo	6	4.881	0.8135		
Total	11	16.1231			
C.V.			21,60%		
Segunda colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	279.39	93.13	1.42209	0.3257
Bloco	2	6.91	3.453	0.05273	0.94907
Resíduo	6	392.93	65.488		
Total	11	679.22			
C.V.			44,13%		

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; FC: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE F – Quadro da análise de variância para a variável teor de óleo essencial (%).

Primeira colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	3	0,032763	0,010921	62,213	0,000065
Bloco	2	0,000509	0,000255	1,451	0,306156
Resíduo	6	0,001053	0,000176		
Total	11	0,034326			
C.V.			5,3%		
Segunda colheita					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0,10383	0,034608	2,84452	0,12768
Bloco	2	0,0062	0,0031	0,25479	0,78306
Resíduo	6	0,073	0,012167		
Total	11	0,18302			
C.V.			22,86%		

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; FC: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE G – Análise de solo após a segunda colheita de acordo com as doses de nitrogênio, fósforo e potássio aplicadas no solo.

Doses	MO*	N	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	V	Sat.Al	SMP	pH
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³		%			CaCl ₂
Controle R1	46,91	2,35	12,32	0,19	5,90	3,80	1,95	5,76	9,89	63,19	16,47	5,80	5,00
Controle R2	58,97	2,95	15,27	0,14	5,60	3,20	0,05	7,13	8,94	55,63	0,56	5,60	4,90
Controle R3	52,27	2,61	17,40	0,23	5,60	2,70	0,05	7,79	8,53	52,27	0,58	5,50	4,70
Meia R1	53,61	2,68	44,27	0,35	7,20	4,20	0,00	3,84	11,75	75,37	0,00	6,30	5,80
Meia R2	49,59	2,48	14,75	0,12	5,00	3,10	0,05	5,76	8,22	58,80	0,60	5,80	4,80
Meia R3	40,21	2,01	39,53	0,13	4,20	2,10	0,35	9,00	6,43	41,67	5,16	5,20	4,30
Uma R1	46,91	2,35	5,95	0,14	4,40	2,50	0,25	7,76	7,04	47,57	3,43	5,40	4,50
Uma R2	58,97	2,95	7,93	0,14	3,80	2,30	0,19	8,50	6,24	42,33	2,94	5,40	4,40
Uma R3	45,57	2,28	11,85	0,18	4,20	2,10	0,17	8,36	6,48	43,67	2,56	5,30	4,40
Duas R1	53,61	2,68	17,40	0,31	7,40	3,20	0,09	8,50	7,50	46,88	1,19	5,40	5,50
Duas R2	45,57	2,28	20,27	0,21	5,30	2,30	0,00	5,01	10,91	68,53	0,00	6,00	4,50
Duas R3	57,63	2,88	11,85	0,30	4,60	2,60	0,15	7,20	7,81	52,03	1,88	5,50	4,50

MO: matéria orgânica; N: nitrogênio; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; H+Al: acidez potencial; SB: soma de bases; V: saturação de base; Sat.Al: saturação por alumínio; SMP: índice SMP (Shoemaker, Mac lean e Pratt); pH: potencial hidrogeniônico; R1: repetição 1; R2: repetição 2; R3: repetição 3.

APÊNDICE H - Quadro da análise de variância para as variáveis teor de compostos em óleo essencial de erva-baleeira.

α - humuleno					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	11,3315	3,7772	24,1885	0,0009
Bloco	2	0,7751	0,3875	2,4818	0,1639
Resíduo	6	0,9369	0,1562		
Total	11	13,0436			
C.V.			6,41%		
α - santaleno					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	22,3220	7,4408	3,3058	0,0991
Bloco	2	7,5950	3,7975	1,6872	0,2622
Resíduo	6	13,5050	2,2508		
Total	11	43,4220			
C.V.			4,63%		
α - pineno					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	98,5690	32,8560	3,8892	0,0739
Bloco	2	0,3650	0,1820	0,0216	0,9787
Resíduo	6	50,6880	8,4480		
Total	11	149,6230			
C.V.			16,13%		

GL: grau de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; FC: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE I – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento controle da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.

Pico	Substância	%	TR (min)	IRL calc	IRL lit
1	α -Pinoeno	22,04 \pm 1,86	8,18	938,05	932,00
2	Canfeno	0,15 \pm 0,02	8,77	953,43	946,00
3	Sabineno	0,49 \pm 0,10	9,76	979,39	969,00
4	β -Pinoeno	1,87 \pm 0,17	9,90	982,86	974,00
5	Mirceno	0,42 \pm 0,15	10,53	999,47	988,00
6	Limoneno	0,46 \pm 0,06	12,22	1037,98	1024,33
7	β -Felandreno	0,64 \pm 0,08	12,29	1039,66	1025,00
8	1,8-Cineol	0,95 \pm 0,18	12,42	1042,48	1026,00
9	Acetato de Bornila	0,92 \pm 0,04	24,04	1303,09	1287,00
10	Acetato de Citronelila	0,47 \pm 0,14	26,87	1369,96	1350,00
11	Ciclosativeno	0,26 \pm 0,02	27,07	1374,77	1371,50
12	α -Copaeno	0,28 \pm 0,03	27,41	1382,60	1374,00
13	β -Elemeno	0,63 \pm 0,05	28,14	1399,84	1389,00
14	7-epi-Sesquihujeno	0,21 \pm 0,05	28,48	1408,32	1390,00
15	Sesquihujeno	3,18 \pm 0,12	28,67	1413,10	1405,00
16	α -Cedreno	0,25 \pm 0,07	28,95	1420,22	1410,00
17	α -cis-Bergamoteno	6,10 \pm 0,69	29,19	1426,22	1411,00
18	α -Santaleno	31,08 \pm 1,37	29,48	1433,41	1416,00
19	α -trans-Bergamoteno	0,52 \pm 0,02	29,84	1442,20	1432,00
20	β -Bergamoteno	0,31 \pm 0,03	30,23	1452,07	1436,00
21	(Z)- β -Farneseno	3,18 \pm 0,12	30,79	1466,05	1440,00
22	α-Humuleno	6,12 \pm 0,31	30,91	1469,11	1452,00
23	Sesquisabineno	2,23 \pm 0,17	31,94	1494,80	1457,00
24	α -Zingibereno	0,27 \pm 0,02	32,45	1507,54	1493,00
25	α -Muuroleno	0,17 \pm 0,01	32,64	1512,77	1500,00
26	β -Bisaboleno	5,00 \pm 0,17	32,96	1521,31	1505,00
27	δ -Cadineno	0,37 \pm 0,03	33,39	1532,50	1522,00
28	(E)- γ -Bisaboleno	2,89 \pm 0,09	33,68	1540,18	1529,00
29	Óxido de Cariofileno	1,49 \pm 0,13	36,23	1607,53	1571,40
30	Humuleno Epóxido II	0,17 \pm 0,02	37,32	1637,46	1608,00
31	(E)- α -Bergamotenal	3,02 \pm 0,22	39,59	1699,62	1671,00
32	(E)- α -Santalal	3,63 \pm 0,36	39,93	1709,78	1680,00
33	(Z)- α -Santalol	0,20 \pm 0,02	41,43	1753,63	1694,00
34	(Z)- α -trans-Bergamotol	0,25 \pm 0,02	42,56	1786,92	1700,00
35	(Z)- α -Santalol acetato	0,22 \pm 0,03	42,97	1798,97	1777,00
Total		99,99			

TR: Tempo de retenção; IRL calc.: Índice de retenção linear calculado; IRL lit.: Índice de retenção linear literatura

APÊNDICE J – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento meia dose da 1^a colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.

Pico	Substância	%	TR (min)	IRL calc	IRL lit
1	α-Pineno	18,74±3,55	8,15	937,26	932,00
2	Canfeno	0,14±0,03	8,78	953,62	946,00
3	Sabineno	0,36±0,11	9,77	979,66	961,33
4	β-Pineno	1,41±0,54	9,90	983,01	972,33
5	Mirceno	0,37±0,11	10,54	999,81	997,25
6	Limoneno	0,39±0,00	12,23	1038,19	1024,00
7	β-Felandreno	0,56±0,25	12,30	1037,59	1025,00
8	1,8-Cineol	0,83±0,15	12,43	1040,45	1026,00
9	Acetato de Bornila	0,90±0,09	24,04	1303,16	1287,00
10	Acetato de Citronelila	0,46±0,05	26,88	1370,23	1350,00
11	Ciclosativeno	0,33±0,10	27,08	1374,83	1370,50
12	α-Copaeno	0,42±0,20	27,41	1382,63	1373,50
13	β-Elemeno	1,11±0,66	28,14	1399,95	1389,00
14	7-epi-Sesquithujeno	1,23±1,61	28,54	1409,93	1390,00
15	Sesquithujeno	3,16±0,19	28,67	1413,11	1405,00
16	α-Cedreno	0,24±0,08	28,95	1420,05	1410,00
17	α-cis-Bergamoteno	5,82±0,42	29,20	1426,32	1411,00
18	α-Santaleno	31,88±1,09	29,48	1433,40	1416,00
19	α-trans-Bergamoteno	0,63±0,12	30,14	1442,30	1432,00
20	β-Bergamoteno	0,27±0,03	30,24	1452,24	1436,00
21	(Z)-β-Farneseno	2,88±0,13	30,79	1466,08	1440,00
22	α-Humuleno	6,49±0,23	30,92	1469,21	1452,00
23	Sesquisabineno	2,23±0,00	31,95	1495,01	1457,00
24	α-Zingibereno	0,28±0,05	32,45	1507,79	1493,00
25	α-Muuroleno	0,21±0,04	32,64	1512,82	1500,00
26	β-Bisaboleno	4,90±0,27	32,97	1521,37	1505,00
27	δ-Cadineno	0,79±0,57	33,39	1532,60	1522,00
28	(E)-γ-Bisaboleno	2,69±0,19	33,68	1540,22	1529,00
29	Óxido de Cariofileno	1,69±0,22	36,24	1607,83	1582,00
30	Humuleno Epóxido II	0,37±0,44	37,33	1637,61	1608,00
31	(E)-α-Bergamotenal	3,28±0,40	39,59	1699,84	1671,00
32	(E)-α-Santalal	3,98±0,49	39,94	1710,07	1680,00
33	(Z)-α-Santalol	0,21±0,03	41,43	1753,77	1694,00
34	(Z)-α-trans-Bergamotol	0,32±0,09	42,56	1787,04	1700,00
35	(Z)-α-Santalol acetato	0,30±0,10	42,97	1799,07	1777,00
Total		99,99			

TR: Tempo de retenção; IRL calc.: Índice de retenção linear calculado; IRL lit.: Índice de retenção linear literatura

APÊNDICE K – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento uma dose da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.

Pico	Substância	%	TR (min)	IRL calc	IRL lit
1	α-Pineno	13,37±2,74	8,12	936,40	932,00
2	Canfeno	±	±	±	±
3	Sabineno	0,20±0,05	9,77	979,70	969,00
4	β-Pineno	1,06±0,21	9,89	982,80	974,00
5	Mirceno	0,25±0,00	10,55	1000,00	988,00
6	Limoneno	±	±	±	±
7	β-Felandreno	0,41±0,12	12,30	1039,73	1025,00
8	1,8-Cineol	0,51±0,12	12,45	1040,90	1025,83
9	Acetato de Bornila	0,90±0,03	24,05	1303,43	1287,00
10	Acetato de Citronelila	0,47±0,05	26,89	1370,37	1350,00
11	Ciclosativeno	0,28±0,01	27,08	1374,81	1371,00
12	α-Copaeno	0,31±0,03	27,41	1382,63	1374,00
13	β-Elemeno	0,68±0,09	28,14	1399,98	1389,00
14	7-epi-Sesquithujeno	0,99±1,54	28,52	1409,41	1390,00
15	Sesquithujeno	2,82±1,30	28,72	1414,30	1405,00
16	α-Cedreno	0,25±0,06	28,96	1420,32	1410,00
17	α-cis-Bergamoteno	6,60±0,79	29,20	1426,26	1411,00
18	α-Santaleno	34,78±1,47	29,48	1433,40	1416,00
19	α-trans-Bergamoteno	0,54±0,15	29,84	1442,30	1432,00
20	β-Bergamoteno	0,24±0,04	30,24	1452,21	1436,00
21	(Z)-β-Farneseno	2,43±1,15	30,70	1463,84	1440,00
22	α-Humuleno	7,08±0,19	30,92	1469,19	1452,00
23	Sesquisabineno	2,45±0,17	31,96	1495,03	1457,00
24	α-Zingibereno	0,24±0,10	32,46	1507,97	1493,00
25	α-Muuroleno	0,26±0,03	32,64	1512,92	1500,00
26	β-Bisaboleno	5,51±0,34	32,97	1521,44	1501,67
27	δ-Cadineno	0,45±0,05	33,40	1532,68	1522,00
28	(E)-γ-Bisaboleno	2,45±0,81	34,11	1539,79	1529,00
29	Óxido de Cariofileno	2,85±0,78	36,45	1608,54	1582,00
30	Humuleno Epóxido II	0,31±0,09	37,72	1637,23	1608,00
31	(E)-α-Bergamotenal	4,76±0,37	39,68	1700,56	1671,00
32	(E)-α-Santalal	5,56±0,46	40,22	1711,01	1680,00
33	(Z)-α-Santalol	0,32±0,04	41,63	1754,04	1694,00
34	(Z)-α-trans-Bergamotol	0,43±0,04	42,64	1787,35	1700,00
35	(Z)-α-Santalol acetato	0,41±0,04	43,30	1799,31	1777,00
Total		99,99			

TR: Tempo de retenção; IRL calc.: Índice de retenção linear calculado; IRL lit.: Índice de retenção linear literatura

APÊNDICE L – Composição química média de óleo essencial referente ao tratamento duas doses da 1ª colheita de erva-baleeira obtido por destilação de arraste de vapor (Linax) – Instituto de Botânica – São Paulo – SP 2020.

Pico	Substância	%	TR (min)	IRL calc	IRL lit
1	α-Pineno	18,41±2,71	8,15	937,19	932,00
2	Canfeno	0,14±0,00	8,78	953,69	946,00
3	Sabineno	0,29±0,04	9,77	979,68	969,00
4	β-Pineno	1,49±0,26	9,90	983,45	974,00
5	Mirceno	0,24±0,00	10,55	1000,00	988,00
6	Limoneno	0,52±0,00	12,31	1026,13	1024,00
7	β-Felandreno	0,51±0,21	12,35	1037,48	1025,00
8	1,8-Cineol	0,87±0,28	14,76	1094,90	1026,00
9	Acetato de Bornila	0,81±0,20	24,61	1316,65	1287,00
10	Acetato de Citronelila	0,41±0,07	26,93	1371,27	1350,00
11	Ciclosativeno	0,26±0,01	27,08	1374,81	1371,50
12	α-Copaeno	0,30±0,01	27,41	1382,63	1374,00
13	β-Elemeno	0,68±0,08	28,14	1399,88	1389,00
14	7-epi-Sesquithujeno	0,17±0,01	28,47	1408,12	1390,00
15	Sesquithujeno	3,18±0,20	28,67	1413,10	1405,00
16	α-Cedreno	0,21±0,02	28,95	1420,11	1410,00
17	α-cis-Bergamoteno	6,04±0,15	29,20	1426,35	1411,00
18	α-Santaleno	32,87±1,15	29,49	1433,51	1416,00
19	α-trans-Bergamoteno	0,55±0,04	29,84	1442,30	1432,00
20	β-Bergamoteno	0,27±0,02	30,24	1452,21	1436,00
21	(Z)-β-Farneseno	2,44±1,14	30,76	1465,20	1440,00
22	α-Humuleno	6,70±0,25	30,92	1469,18	1452,00
23	Sesquisabineno	2,39±0,11	31,95	1494,94	1457,00
24	α-Zingibereno	0,27±0,10	32,45	1507,90	1493,00
25	α-Muroleno	0,20±0,02	32,64	1512,77	1500,00
26	β-Bisaboleno	4,96±0,35	32,96	1521,31	1503,00
27	δ-Cadineno	0,44±0,03	33,39	1532,58	1522,00
28	(E)-γ-Bisaboleno	2,80±0,19	33,67	1539,95	1529,00
29	Óxido de Cariofileno	1,95±0,15	36,25	1608,10	1571,40
30	Humuleno Epóxido II	0,21±0,01	37,33	1636,89	1608,00
31	(E)-α-Bergamotenal	3,95±0,38	39,61	1700,19	1671,00
32	(E)-α-Santalal	4,63±0,62	39,96	1710,56	1680,00
33	(Z)-α-Santalol	0,26±0,04	41,43	1753,83	1694,00
34	(Z)-α-trans-Bergamotol	0,33±0,05	42,57	1787,21	1700,00
35	(Z)-α-Santalol acetato	0,29±0,04	43,30	1799,18	1777,00
Total		99,99			

TR: Tempo de retenção; IRL calc.: Índice de retenção linear calculado; IRL lit.: Índice de retenção linear literatura

APÊNDICE M – Análise foliar dos tratamentos na primeira colheita

Trat.	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Zn	Fe	Mn	B
	g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹				
Controle R1	31,54	2,91	15,00	35,90	9,81	3,47	23,33	11,38	110,65	115,15	80,93
Controle R2	30,66	2,95	12,00	29,42	8,64	3,12	20,46	11,60	126,73	119,47	77,07
Controle R3	32,41	2,75	15,00	25,36	7,75	5,08	20,71	12,54	230,60	141,64	85,74
Meia R1	35,92	2,90	17,00	33,60	7,70	4,29	21,44	13,83	160,27	119,00	69,77
Meia R2	32,41	2,91	13,50	32,09	9,47	3,12	20,93	12,58	138,76	130,61	76,11
Meia R3	35,04	2,82	18,50	28,43	6,26	4,22	28,43	13,23	354,34	158,09	81,89
Uma R1	32,41	2,40	17,50	29,45	8,44	3,52	17,94	11,32	88,40	139,42	78,04
Uma R2	35,22	2,82	19,00	32,83	6,55	3,80	24,37	11,74	201,54	178,33	73,22
Uma R3	30,66	2,77	14,00	32,36	9,81	3,47	19,11	11,93	202,94	139,30	70,33
Duas R1	35,92	2,83	17,50	29,47	8,19	3,58	21,69	10,51	153,41	137,13	77,07
Duas R2	34,16	2,49	20,50	26,02	6,46	3,45	18,03	13,03	117,46	113,42	62,62

N: nitrogênio; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; S: enxofre; Cu: cobre; Zn: zinco; Fe: ferro; Mn: manganês; B: boro; R1:repetição 1; R2:repetição 2; R3:repetição 3.

APÊNDICE N – Quadro da análise de variância para as variáveis teor de clorofila A, B e total da primeira colheita.

Clorofila A					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	5,1365	1,71217	9,9139	0,009673
Bloco	2	0,5875	0,29375	1,7009	0,259914
Resíduo	6	1,0362	0,1727		
Total	11	6,7602			
C.V.			1,13%		
Clorofila B					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2,104	0,70134	0,58399	0,64713
Bloco	2	1,6416	0,82081	0,68347	0,54025
Resíduo	6	7,2057	1,20094		
Total	11	10,9513			
C.V.			6,99%		
Clorofila Total					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	8,6855	2,8952	1,5984	0,28566
Bloco	2	3,6772	1,8386	1,0151	0,41714
Resíduo	6	10,8678	1,8113		
Total	11	23,2305			
C.V.			2,56%		

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio, Fc: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).

APÊNDICE O – Quadro da análise de variância para as variáveis teor de WUE $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$, A $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; g $\text{mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; C $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ da segunda colheita.

WUE $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0,0282	0,0094	2,1997	0,1890
Bloco	2	0,0020	0,0010	0,2379	0,7954
Resíduo	6	0,0257	0,0043		
Total	11	0,0559			
C.V.					17,46%
A $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	19,54	6,5132	1,4416	0,3209
Bloco	2	7,695	3,8477	0,8517	0,4725
Resíduo	6	27,108	4,5179		
Total	11	54,343			
C.V.					10,45%
g $\text{mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0,34735	0,1158	11,7030	0,0064
Bloco	2	0,01073	0,0054	0,5425	0,6073
Resíduo	6	0,05936	0,0099		
Total	11	0,41745			
C.V.					12,73%
E $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	773,15	257,7170	2,3095	0,1762
Bloco	2	26,46	13,2290	0,1186	0,8902
Resíduo	6	669,55	111,5910		
Total	11	1469,15			
C.V.					3,71%
C $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$					
Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	11,3315	3,7772	24,1885	0,0009
Bloco	2	0,7751	0,3875	2,4818	0,1639
Resíduo	6	0,9369	0,1562		
Total	11	13,0436			
C.V.					6,41%

GL: grau de liberdade; SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio, Fc: F calculado; Valor de p-value (Pr>Fc).