

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DA ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum
gratissimum* L.) EM RESPOSTA À ADIÇÃO AO SOLO DE
CAMA-DE-FRANGO E FÓSFORO**

SHEILA MAGALHÃES PESSOA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2011**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DA ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.)
EM RESPOSTA À ADIÇÃO AO SOLO DE CAMA-DE-FRANGO
E FÓSFORO**

SHEILA MAGALHÃES PESSOA
Bióloga

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. MARIA DO CARMO VIEIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2011

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

581.634 P475p	<p>Pessoa, Sheila Magalhães</p> <p>Produção de biomassa e composição do óleo essencial da alfavaca-cravo (<i>Ocimum gratissimum</i> L.) em resposta à adição ao solo de cama-de-frango e fósforo. / Sheila Magalhães Pessoa. – Dourados, MS : UFGD, 2011. 28p.</p> <p>Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Vieira Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Alfavaca-cravo. 2. Eugenol. 3. Planta medicinal. 4. Resíduo orgânico. 5. Superfosfato triplo. I. Título</p>
------------------	---

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DA ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.) EM
RESPOSTA À ADIÇÃO AO SOLO DE CAMA-DE-FRANGO E
FÓSFORO**

por

SHEILA MAGALHÃES PESSOA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM AGRONOMIA.

Aprovada em: 18/02/2010

Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Vieira
Orientadora – UFGD-FCA

Prof. Dr. Néstor Antonio Heredia Zárate
Co-Orientador – UFGD-FCA

Prof^ª. Dr^ª. Luciane Almeri Tabaldi
Bolsista DCR CNPq/UFGD

Prof. Dr. Roberto Fontes Vieira
Embrapa - Cenargen

Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Andrea Lima Cardoso
UEMS

Aos meus pais José Neuto e Silvia Helena.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Professora Maria do Carmo Vieira, pela confiança e oportunidade de convivência e aprendizado durante a orientação.

Ao Professor Néstor Antonio Heredia Zárate, pelos ensinamentos, orientações e pela disposição em tirar as inúmeras dúvidas.

Aos funcionários do Horto de Plantas Medicinais, pela incansável ajuda e alegria nos trabalhos de campo.

À Isabel, “mãe” e amiga de todas as horas.

À Luciane Tabaldi e Luan Ramos, pela companhia e inestimável amizade.

Às amigas do mestrado Victorina, Carmem e Inez, pela camaradagem.

À Anelise Samara, pela disposição e ajuda em tantos momentos.

Às professoras Cláudia Andréa de Lima Cardoso e Nilva Ré Poppi pela ajuda com as análises de laboratório.

À Elda, pela boa vontade e profissionalismo e à Marisa Ramos, pelas inúmeras dicas sobre plantas medicinais.

Ao Tiago pelo companheirismo, carinho e principalmente paciência.

Aos meus irmãos, avós e meu sobrinho, pela grande força.

À Capes, pela bolsa concedida.

Quando saímos de casa parece que sempre estamos procurando uma nova família e minha vida é assim cheia de mães, pais e irmãos e aqui deixo meu agradecimento a todos que de uma forma ou outra sempre tiveram comigo fazendo parte da minha grande família.

“Se vocês fossem isolados, se cada um de vocês fosse obrigado a agir por conta própria, seriam sem dúvida impotentes; mas ao ficarem unidos e organizarem suas próprias forças exclusivamente para a ação conjunta, orientados por um pensamento e uma atitude comum, e pelo esforço para um objetivo comum, vocês se tornarão invencíveis (Mikhail Bakunin)”.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1 INTRODUÇÃO	1
2 MATERIAL E MÉTODOS	4
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
4 CONCLUSÕES	17
5 REFERÊNCIAS.....	18

PRODUÇÃO DE BIOMASSA E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DA ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.) EM RESPOSTA À ADIÇÃO AO SOLO DE CAMA-DE-FRANGO E FÓSFORO

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a produção de biomassa e a composição do óleo essencial da alfavaca-cravo cultivada com adição ao solo de cama-de-frango e fósforo. O experimento foi realizado no Horto de Plantas Mediciniais – HPM, da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados-MS. Foram estudadas cinco doses de cama-de-frango semidecomposta (0, 5, 10, 15 e 20 t ha⁻¹), na ausência ou presença de fósforo (200 kg ha⁻¹), na forma de superfosfato triplo. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 5 x 2, dispostos no delineamento blocos casualizados, com quatro repetições. Foram medidas as alturas das plantas até 120 dias após o transplante e até 60 dias após a rebrota, épocas em que foram realizadas as colheitas das partes aéreas e avaliadas as áreas foliares e as massas frescas e secas das folhas, caules e inflorescências. Das folhas da rebrota foram avaliados também o teor, rendimento e composição química do óleo essencial feita por CG-EM. A altura das plantas na primeira colheita foi maior sob a dose de 15 t ha⁻¹ de cama-de-frango (34,42 cm), sendo maior sem o uso de fósforo (32,4 cm); na rebrota, a altura variou somente em função de épocas, sendo máxima (76,0 cm) aos 60 dias após a rebrota. A adubação fosfatada influenciou significativamente a área foliar da primeira colheita, que foi maior com fósforo (1.771 cm² planta⁻¹). As produções cresceram linearmente com as doses de cama-de-frango, sendo as máximas massas frescas de folhas, sob 20 t ha⁻¹, de 1.709 e 7.140 kg ha⁻¹ na primeira colheita e na rebrota, respectivamente. O teor de óleo essencial foi em média de 0,70% e o rendimento máximo de 24,6 L ha⁻¹ sob a dose de 4,16 t ha⁻¹ de cama-de-frango; apresentando como principal constituinte o eugenol, com teor médio de 71,65%. Recomenda-se o uso de cama-de-frango na dose de 20 t ha⁻¹, independente do uso de fósforo, para o cultivo e obtenção de maior massa e teor de óleo essencial da alfavaca-cravo.

Palavras-chave: alfavaca-cravo, eugenol, planta medicinal, resíduo orgânico, superfosfato triplo.

PRODUCTION OF BIOMASS AND COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Ocimum gratissimum* L. IN RESPONSE TO THE ADDITION TO SOIL OF POULTRY BED AND PHOSPHORUS

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the production of biomass and the composition of the essential oil of *O. gratissimum* (clove basil), grown with addition of semi-decomposed poultry bed and phosphorus. The experiment was carried out in the Medicinal Plant Garden, of Federal University of Grande Dourados–UFGD, in Dourados-MS. Five doses of semi-decomposed poultry bed were studied (0, 5, 10, 15 and 20 t ha⁻¹) in the absence or presence of phosphorus (200 kg ha⁻¹) in the form of triple superphosphate. The treatments were arranged in a factorial scheme 5 x 2, arranged in a randomized blocks, with four replications. Heights of plants were measured until 120 days after transplant and until 60 days after regrowth, when were carried the harvests of shoot and evaluated the leaf areas and fresh and dry weight of leaves, stems and inflorescences. Of the leaves of the regrowth were also evaluated the content and quality of essential oil made by CG-EM. Height of plants at first harvest was higher under the dose of 15 t ha⁻¹ of poultry bed (34.42 cm), and without the use of phosphorus (32.36 cm); in the regrowth, the height varied only in terms of time, being maximum (76.00 cm) to 60 days after regrowth. Phosphorus fertilization significantly influenced the leaf area of the first harvest, which was higher with phosphorus (1,771 cm² plant⁻¹). Productions increased linearly with doses of poultry bed, being the maximum fresh weight of leaves, under 20 t ha⁻¹, of 1,709 and 7,140 kg ha⁻¹ in the first harvest and regrowth, respectively. There was no significant change in the essential oil obtained as a function of cropping systems used, yielding an average content of 0.15%, being the eugenol the main constituent, with an average content of 71.65%. Therefore, it is recommended for the cultivation of clove basil the incorporation into the soil of poultry bed at a dose of 20 t ha⁻¹ without the use of phosphorus.

Keywords: tree basil, eugenol, medicinal plant, organic residue, triple superphosphate.

1 INTRODUÇÃO

Ocimum gratissimum L. (Lamiaceae) é conhecida como alfavaca-cravo, com origem na África e ocorrência em todo território brasileiro. A planta é perene, arbustiva e lenhosa, com porte de 0,50 até 2,5 m. Os ramos são quadrangulares e pubescentes e as folhas opostas e pecioladas, fortemente aromáticas. As inflorescências podem ser terminais ou axilares, de cor branca ou branco-esverdeadas e o fruto é uma cápsula seca com quatro sementes (ALBUQUERQUE et al., 1998).

Na medicina tradicional, a alfavaca-cravo é utilizada no tratamento de reumatismo, paralisia, epilepsia e doenças mentais, além de conter substâncias biologicamente ativas que são utilizadas naturalmente como inseticidas, nematocidas, fungicidas e antimicrobianas (EFFRAIM et al., 2001). O óleo essencial mostrou atividade frente a diversos micro-organismos de elevada patogenicidade, como *Staphylococcus aureus*, *S. typhimurium*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*, bactérias causadoras de diarreia (ADEBOLU e OLADIMEJI, 2005). Também apresentou ação larvicida contra *Aedes aegypti*, mosquito transmissor da dengue e ação repelente contra *Simulium damnosum*, mosquito transmissor de *Onchocerca volvulus*, na Nigéria (CAVALCANTI et al., 2004; USIP et al., 2006).

Os óleos essenciais da alfavaca-cravo podem ser classificados em três grupos químicos: eugenol, timol e geraniol. O tipo eugenol é o mais importante economicamente, possui odor forte e aromático, com reminiscência de odor de óleo de cravo e é destilado no Brasil, no Taiti e na Indonésia. O eugenol confere à alfavaca-cravo ação anti-séptica e anestésica local (MATOS et al., 2000); sendo utilizado como analgésico dental e também na substituição da essência de cravo-da-índia, síntese de vanilina e como atraente de insetos (FARM. BRAS. II, 1959; MERCK INDEX, 1996).

O bom desenvolvimento da parte aérea das plantas aromáticas é de fundamental importância para que se possa extrair o óleo essencial, garantindo seu rendimento e composição. O mecanismo de regulação da produção dos metabólitos secundários depende do controle genético inerente do caráter de cada espécie e de estímulos externos proporcionados pelo ambiente (TAIZ e ZEIGER, 2004), dentre eles, a nutrição mineral, que pode estar diretamente correlacionada com o aumento de biossíntese de óleo essencial (MAIRAPETYAN, 1999). Assim, a avaliação do crescimento e produção da alfavaca-cravo cultivada com cama-de-frango e fósforo pode

fornecer subsídios para melhores condições de cultivo, abrindo a oportunidade de incremento da renda de pequenos produtores de plantas medicinais no mercado de óleos essenciais.

A cama-de-frango é recomendada como adubo orgânico, uma vez que melhora as propriedades físicas e biológicas do solo, corrige possíveis deficiências de macro e micronutrientes (LEITE et al., 2005). Pode ser utilizada como fertilizante, por apresentar teores de nitrogênio, fósforo e potássio mais concentrados do que o esterco de outros animais domésticos, devido às características de serem mais secas, conter de 5 a 15% de água comparados com os 65 a 85% nos demais; possuir suas dejeções sólidas e líquidas misturadas e na maior parte das vezes serem provenientes de aves criadas com rações concentradas (TEDESCO et al., 2008).

Entre os macronutrientes essenciais, o fósforo apresenta grande importância para a planta, sendo componente integral de compostos das células vegetais, incluindo açúcares-fosfatados, intermediários da respiração e fotossíntese e os fosfolipídeos que compõem as membranas vegetais. É também componente de nucleotídeos utilizados no metabolismo energético das plantas, como ATP e no DNA e RNA. Participa de várias etapas da rota biossintética para a formação do óleo essencial a partir de mono e sesquiterpenos, como integrante de moléculas de enzimas ou de produtos de reações catalisadas por essas enzimas (MALAVOLTA, 1997; MARSCHNER, 1995; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Biasi et al. (2009), estudando o cultivo da alfavaca-cravo com a utilização de um composto de esterco de carneiro curtido e palha seca, nas doses 0, 4, 8 e 12 kg m⁻², em duas colheitas, constataram diferença no rendimento de biomassa apenas na primeira colheita, para massa fresca de flores e massa seca total e de flores (168,06; 166,46 e 37,82 kg m⁻², respectivamente) na dose 8 kg m⁻². Quanto ao rendimento de óleo essencial, não houve diferença entre os tratamentos nas duas colheitas; entretanto, ocorreram variações na composição do óleo essencial quando extraído das folhas e das flores, sendo o teor médio de eugenol de 90,4% nas folhas e 80,8% nas flores.

Ao examinarem a influência da cama-de-aviário, nas doses 0, 4, 8 e 12 kg m⁻² nas estações do outono e inverno, sobre a produção de folhas e rendimento de óleo essencial da alfavaca-cravo, Chaves et al. (2002a) não constataram diferenças estatísticas para produção de massa seca de folhas e rendimento de óleo essencial, em função do esterco, mas observaram no outono maior rendimento de óleo essencial e teor de eugenol (1,29 e 47,33%) do que no inverno (1,08 e 33,73%, respectivamente).

Foi verificada influência positiva na utilização de cinco doses de esterco de curral (0, 3, 6, 9 e 12 kg m⁻²) em *Hyptis marruboides* por Sales et al. (2009), que observaram maior massa seca das folhas (48,07 g) para a dose 11,47 kg m⁻²; porém não observaram diferenças no teor de óleo essencial. Luz et al. (2009), estudando cinco doses de cama-de-frango (2, 4, 6, 8 e 10 kg m⁻²) também não observaram diferenças significativas no teor de óleo essencial em dois genótipos de *Ocimum basilicum* L. (P 197442-S3 e NSL 6421-S3) verificando teor médio de óleo essencial na massa fresca de folhas de 1,86 e 4,31 %, respectivamente.

Em estudos realizados por Costa et al. (2008), observaram-se que diferentes doses de esterco bovino (0, 3, 6, 9 e 12 kg m⁻²) e cama-de-frango (0; 1,5; 3; 4,5; e 6 kg m⁻²) induziram aumento significativo da produção em *O. selloi*, obtendo-se as maiores produções de massa seca total da planta (66,3 g e 101,3 g) sob doses de 9,7 kg m⁻² e 4,3 kg m⁻² de esterco bovino e cama-de-frango, respectivamente. O rendimento de óleo essencial, extraído da massa seca foliar aumentou com as doses dos resíduos orgânicos, atingindo o máximo de 0,23 g planta⁻¹ com 8,1 kg m⁻² de esterco bovino e 0,31 g planta⁻¹ com 4,0 kg m⁻² de cama-de-frango.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a produção de biomassa e a composição do óleo essencial da alfavaca-cravo sob cultivo em solo com uso de diferentes doses de cama-de-frango, sem ou com adição de fósforo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A fase de campo do experimento foi desenvolvida no Horto de Plantas Medicinais – HPM (22°11'43.7"S e 54°56'08.5"W, altitude de 452 m), da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados-MS, de março a novembro de 2009. O clima, segundo a classificação de Köppen (1948) é do tipo Cwa (mesotérmico úmido). As precipitações totais e temperaturas máximas e mínimas do período de cultivo no campo estão apresentadas na Figura 1.

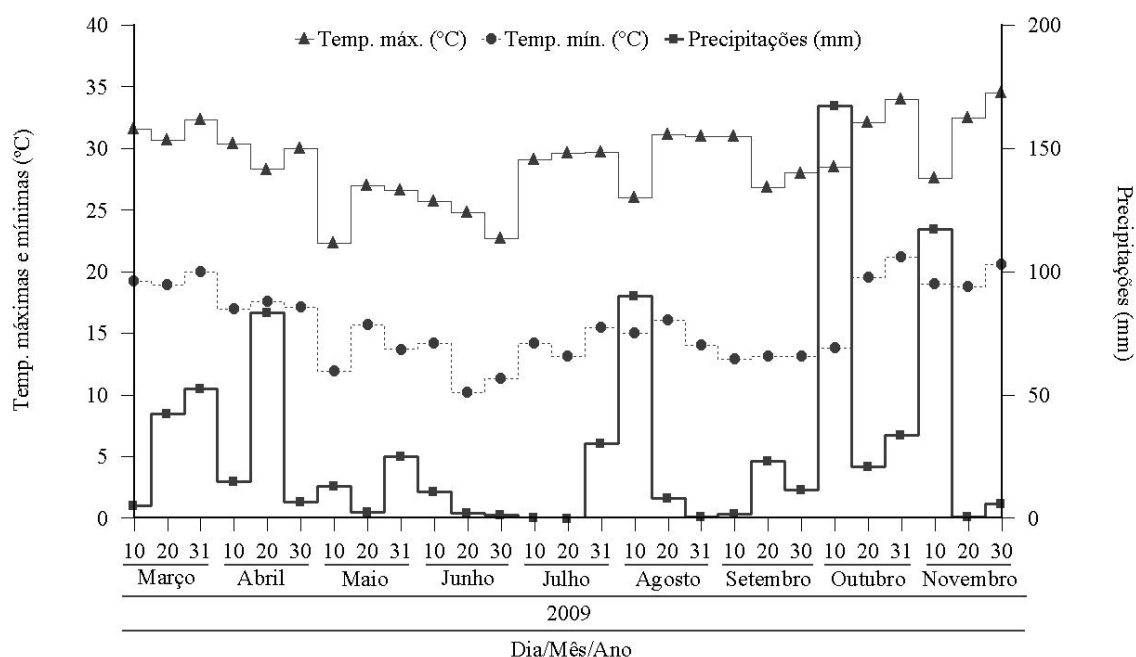


Figura 1. Precipitações e temperaturas máximas e mínimas, durante o ciclo de cultivo no campo da alfavaca-cravo. UFGD, Dourados – 2009.

O solo da área do experimento, originalmente sob vegetação de Cerrado, é de topografia plana e classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, de textura muito argilosa, cujas características químicas antes da implantação do experimento eram de 0,0; 7,7; 19,0; 40,0; 58,0; 66,7 e 124,7 mmol_c dm⁻³ de Al³⁺; K; Mg; Ca; H+Al; S.B. e CTC; de 34,0; 18,0; 65,6 e 77,3 mg dm⁻³ de P; Cu; Mn e Fe; 25,6 g dm⁻³ de M.O. 53% de saturação de bases; 5,1 de pH em CaCl₂ e 5,9 de pH em H₂O. As características químicas do solo em função dos tratamentos foram analisadas aos dois meses após a implantação da cultura e estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas das amostras do solo coletadas na área experimental dois meses após a adição da cama-de-frango e do fósforo (200 kg ha⁻¹ de P). UFGD, Dourados – 2009.

Características ^{1/}	Doses de cama-de-frango (t ha ⁻¹)/Ausência (0P) ou Presença de P (P)									
	0		5		10		15		20	
	0P	P	0P	P	0P	P	0P	P	0P	P
pH CaCl ₂	5,1	4,8	4,9	4,5	5,0	4,7	5,1	5,1	5,4	5,2
pH H ₂ O (1:2,5)	5,9	5,7	5,7	5,3	5,9	5,6	5,8	5,9	6,0	5,7
Al ³⁺ (mmol _c dm ⁻³) ^{2/}	0,0	1,2	1,2	2,5	0,0	1,2	0,6	0,0	0,0	0,6
P (mg dm ⁻³) ^{2/}	34,0	61,0	54,0	54,0	86,0	73,0	96,0	137,0	160,0	165,0
K (mmol _c dm ⁻³) ^{2/}	7,7	6,8	9,2	9,2	10,7	11,4	13,5	12,9	16,0	16,0
Mg (mmol _c dm ⁻³) ^{2/}	19,0	16,0	19,0	13,0	23,0	18,0	18,0	23,0	23,0	21,0
Ca (mmol _c dm ⁻³) ^{2/}	40,0	38,0	42,0	32,0	48,0	41,0	41,0	52,0	49,0	47,0
Cu (mg dm ⁻³) ^{2/}	18,0	17,2	18,2	16,4	18,4	18,1	17,8	19,3	18,4	18,6
Mn (mg dm ⁻³) ^{2/}	65,6	55,0	63,7	43,8	73,9	69,1	68,6	87,1	84,8	77,0
Fe (mg dm ⁻³) ^{2/}	77,3	71,3	76,2	66,8	69,8	68,3	55,7	61,9	56,1	72,8
Zn (mg dm ⁻³) ^{2/}	5,6	5,8	7,8	6,5	10,4	9,1	10,8	13,3	17,2	17,3
M.O. (g dm ⁻³) ^{2/}	29,0	26,5	28,4	27,7	29,0	29,0	29,0	32,2	33,4	32,2
(H+Al) (mmol _c dm ⁻³)	58,0	62,0	62,0	80,0	53,0	62,0	58,0	53,0	47,0	55,0
S.B. (mmol _c dm ⁻³)	66,7	60,8	70,2	54,2	81,7	70,4	72,5	87,9	88,0	84,0
CTC (mmol _c dm ⁻³)	124,7	122,8	132,2	134,2	134,7	132,4	130,5	140,9	135,0	139,0
Saturação de bases (%)	53	49	53	40	60	53	55	62	65	60

^{1/} Análises feitas no laboratório de solos da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) – UFGD

^{2/} EMBRAPA (1997)

Os fatores em estudo foram cama-de-frango semidecomposta (0, 5, 10, 15 e 20 t ha⁻¹), adicionada ao solo em forma incorporada e fósforo (sem adição ou com adição de 200 kg ha⁻¹), na forma de superfosfato triplo. Os tratamentos foram arrançados como fatorial 5 x 2, no delineamento experimental blocos casualizados, com quatro repetições. Cada parcela tinha área útil de 2,5 m² (2,5 m de comprimento e 1,0 m de largura), com 10 plantas arrançadas em fileiras duplas, com 0,50 m de espaçamento entre plantas e entre fileiras.

A composição química da cama-de-frango usada foi de 30,58; 1,6; 0,72; 3,27; 0,78 e 3,23 % de C_{orgânico}; Ca_{total}; Mg_{total}; P_{total}; K_{total} e N_{total} e 621,0; 7,1; 728,3; 41220,0; 0,15; 2,4 e 9,4 mg kg⁻¹ de Cu_{total}; Zn_{total}; Mn_{total}; Fe_{total}; Ni_{total}; Pb_{total} e Cr_{total} e 10/1 de relação C/N.

A excisada da alfavaca-cravo está depositada no Herbário DDMS, sob número 4663. As sementes foram obtidas de plantas cultivadas no HPM-UFGD e sua propagação foi realizada no mês de março por semeadura indireta, em bandejas de poliestireno de 128 células, com substrato Bioplant[®] para plantas, mantidas em ambiente protegido com sombrite[®] 50%, com irrigações diárias. O terreno foi preparado com trator, com uma aração e uma gradagem e, posteriormente, foram levantados os canteiros com rotoencanteirador. O superfosfato triplo e a cama-de-frango foram distribuídos a lanço e incorporados ao solo, a uma profundidade de 0-0,20 m, um dia antes do transplante, com nova passagem do rotoencanteirador. As plântulas foram transplantadas para o local definitivo em abril, quando atingiram cerca de 0,10 m de altura, trinta dias após o semeio. Os tratos culturais na fase de campo compreenderam irrigações, utilizando o sistema de aspersão, e capinas manuais com enxadas, sempre que necessárias.

Durante o ciclo de cultivo, foram medidas as alturas de todas as plantas das parcelas, em intervalos de 30 dias, a partir de 30 até 120 dias após o transplante, como parcelas subdivididas no tempo. Aos 120 dias após o transplante, quando as plantas apresentavam-se no estágio de pré-floração, usado como índice de colheita, foram colhidas todas as plantas das parcelas, cortando-se seus caules a 0,10 m do nível do solo, permitindo que rebrotassem. Foram avaliadas as massas frescas e secas das folhas e caules.

Após a rebrota, foram medidas as alturas de todas as plantas, em intervalos de quinze dias, a partir de quinze até 60 dias, como parcelas subdivididas no tempo, quando observou-se o início do florescimento e realizou-se nova colheita das partes

aéreas das plantas. Foram avaliadas as produções de massas frescas e secas das folhas, caules e inflorescências.

Nas duas colheitas, foram retirados 200 g das folhas de cada parcela utilizadas para obtenção da massa fresca e determinadas as áreas foliares medidas em integrador LICOR 3000. Para obtenção das massas secas, as folhas utilizadas para área foliar foram colocadas em estufa a 60°C, até a obtenção da massa constante. Em seguida, as amostras foram moídas e submetidas às análises químicas no Laboratório de Solos – FCA, utilizando-se extratos obtidos através da digestão sulfúrica para o N e nítrico-perclórica para o P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn. Após a digestão, foram realizadas a determinação do N pelo método micro-Kjedhal, P por espectrofotometria (600J Femto), K por fotometria de chama (B462 Micronal) e Ca, Mg e micronutrientes por espectrofotometria de absorção atômica (240FS Varian), segundo metodologia proposta por Malavolta et al. (1997).

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando houve significância pelo teste F, aos dados em função das doses de cama-de-frango e das alturas das plantas em função de épocas de avaliação, foram ajustadas equações de regressão, todos a 5% de probabilidade, usando o programa estatístico SAEG (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

Foi extraído óleo essencial no Laboratório de Plantas Medicinais da UFGD e análise cromatográfica no Laboratório de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) de 200 g das folhas frescas das plantas de cada tratamento, colhidas após a rebrota. A extração foi por meio da hidrodestilação por arraste a vapor em aparelho tipo Clevenger, segundo metodologia proposta por Charles e Simon (1990), utilizando-se 3 L de água, por 4 horas, considerando-se como início do processo a fervura. Ao final desta, fez-se a leitura do volume do óleo essencial, para em seguida ser colhido e armazenado em vidro e estocado em freezer até o momento da análise da sua composição química. O teor e o rendimento do óleo essencial foram calculados em base seca, sendo o teor de óleo essencial obtido pela seguinte fórmula: $\text{teor} = v(\text{ml}) \times 100 / m(\text{g})$, em que v = volume de óleo extraído em ml e m = massa seca em grama. As amostras do óleo essencial (1 µg/ml) foram preparadas em soluções de hexano grau cromatográfico e analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) empregando um cromatógrafo a gás, GC 3900 marca Varian, conectado a um espectrômetro de massas com detector de massas Saturn

2100 T/MS/MS, injetor automático CP 8410 e processador de dados MS 2.0 com banco de dados da NIST/02 com 147.198 espectros de massas.

Para a separação cromatográfica foi empregada uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de poli-dimetil-siloxana com 5% de fenila (ZB-5), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e fase de 0,25 μm . A temperatura inicial do forno foi de 50°C, seguido de um aquecimento de 50°C a 250°C a 3°C /min. Foi empregado como gás de arraste o hélio 99,999% (fluxo de 1 mL/min); volume de injeção de 1 μL e razão de split (1:20). As temperaturas do injetor e do detector ion-trap foram de 240 °C e 200°C, respectivamente, manifold a 70°C e linha de transferência 240 °C. Para o espectrômetro de massas foram empregadas a energia de ionização de 70 eV, com intervalo de massas de 40-450 m/z e um intervalo de varredura de 0.5s.

A identificação dos compostos foi realizada por comparação de seus índices de retenção (IR) e similaridade de seus espectros de massas com dados da literatura (ADAMS, 2001). O IR foi determinado pela adição de padrão de *n*-alcano (C₈-C₂₂) (ZHAO et al., 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura das plantas da alfavaca-cravo no primeiro ciclo de cultivo não foi influenciada significativamente pela interação doses de cama-de-frango e fósforo, mas sim pelas interações fósforo e épocas de avaliação (Figura 2a) e cama-de-frango e épocas de avaliação (Figura 2b). As alturas máximas foram de 32,4 cm sem o uso de fósforo e 34,4 cm sob dose de 15 t ha⁻¹ de cama-de-frango, aos 120 dias após o transplante. As menores alturas das plantas na presença de fósforo podem dever-se ao fato de as plantas terem utilizado mais fotossintatos para a produção de folhas, uma vez que as áreas foliares foram maiores na presença do nutriente (Tabela 2). Isso, porque o P funciona nas plantas, como regulador de P inorgânico (Pi) na fotossíntese, no metabolismo e na partição de assimilados nas folhas (MARSCHNER, 1995). O efeito positivo da cama-de-frango na altura das plantas de alfavaca-cravo foi provavelmente devido às suas características de manter o solo superficialmente mais úmido, facilitar a infiltração de água, manter os nutrientes mais disponíveis e conservar a bioestrutura do solo (SOUZA, 1998). Também, Costa et al. (2008) observaram aumento na altura das plantas de *Ocimum selloi* com o incremento das doses de esterco bovino, sendo o valor máximo de 67,3 cm atingido com a aplicação de 8 kg m⁻².

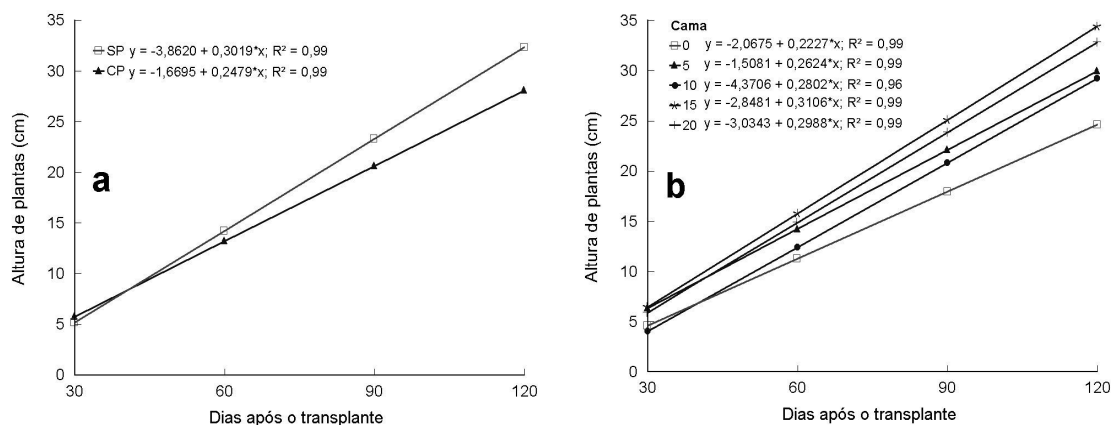


Figura 2. Altura de plantas de alfavaca-cravo em função de dias após o transplante, cultivadas sem (SP) e com (CP) adição de fósforo (a) e com cinco doses de cama-de-frango (b). UFGD, Dourados – 2009.

Tabela 2. Massas frescas e secas de folhas, caules e inflorescências e área foliar de alfavaca-cravo sem e com adubação fosfatada na primeira colheita e após a rebrota. UFGD, Dourados – 2009.

Fósforo 200 kg ha ⁻¹		Massa fresca (kg ha ⁻¹)			Área Foliar cm ² /planta
		Folha	Caule	Inflorescência	
Colheita 1	Sem	1.159,34 a	588,29 a	-	1.357,69 b
	Com	1.342,04 a	766,35 a	-	1.771,00 a
C.V. (%)		33,55	46,50	-	39,20
Colheita 2	Sem	5.805,56 a	4.137,12 a	1.629,29 a	6.855,99 a
	Com	6.346,29 a	4.468,99 a	1.848,73 a	7.442,99 a
C.V. (%)		20,20	21,25	23,90	19,73
		Massa seca (kg ha ⁻¹)			
Colheita 1	Sem	256,04 a	133,25 a	-	-
	Com	263,34 a	153,45 a	-	-
C.V. (%)		35,33	61,90	-	-
Colheita 2	Sem	1.274,61 a	1.397,70 a	458,70 a	-
	Com	1.400,52 a	1.470,35 a	515,99 a	-
C.V. (%)		26,35	22,32	26,91	-

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente pelo teste F, a 5% de probabilidade.

A altura das plantas após a rebrota não foi influenciada pela cama-de-frango nem pelo fósforo, mas sim pelas épocas de avaliação, com altura máxima de 76,0 cm aos 60 dias após a colheita inicial (Figura 3). A altura máxima após a rebrota superou em 41,6 cm àquela obtida nas plantas do primeiro ciclo. Essa diferença entre as alturas do primeiro ciclo e após a rebrota provavelmente seja devido ao fato de a planta já ter o sistema radicular desenvolvido e ter utilizado a maior parte dos fotossintatos produzidos para o desenvolvimento da parte aérea. Os resultados para altura das plantas obtidos neste experimento, após a rebrota, são semelhantes aos de Blank et al. (2005) que, avaliando os efeitos das adubações orgânicas e químicas em *Ocimum basilicum*, não detectaram efeitos das doses sobre a altura das plantas.

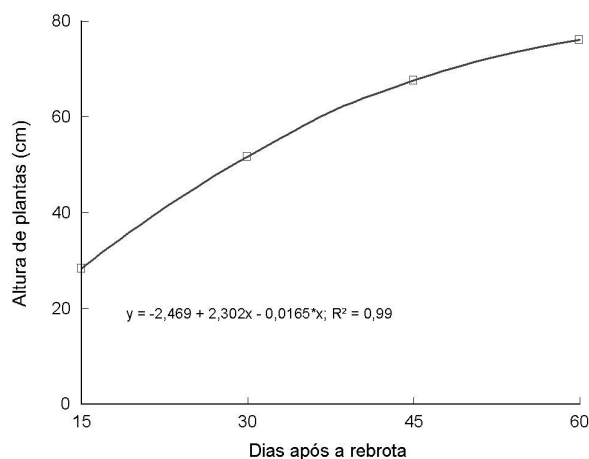


Figura 3. Altura de plantas de alfavaca-cravo em função de dias após a rebrota, cultivadas com cinco doses de cama-de-frango. UFGD, Dourados – 2009.

As massas frescas e secas de folhas, caules e inflorescências e a área foliar, obtidas na primeira colheita e na rebrota, não foram influenciadas significativamente pela interação doses de cama-de-frango e fósforo (Figura 4). Na primeira colheita, a cama-de-frango influenciou significativamente as produções de massas frescas e secas de folhas e massas frescas de caules, que aumentaram linearmente à medida que aumentaram as doses da cama-de-frango (Figura 4a). Também, na colheita da rebrota, as produções de massas frescas de folhas, massas frescas e secas de caules e áreas foliares (Figura 4b) cresceram linearmente com o incremento das doses da cama-de-frango.

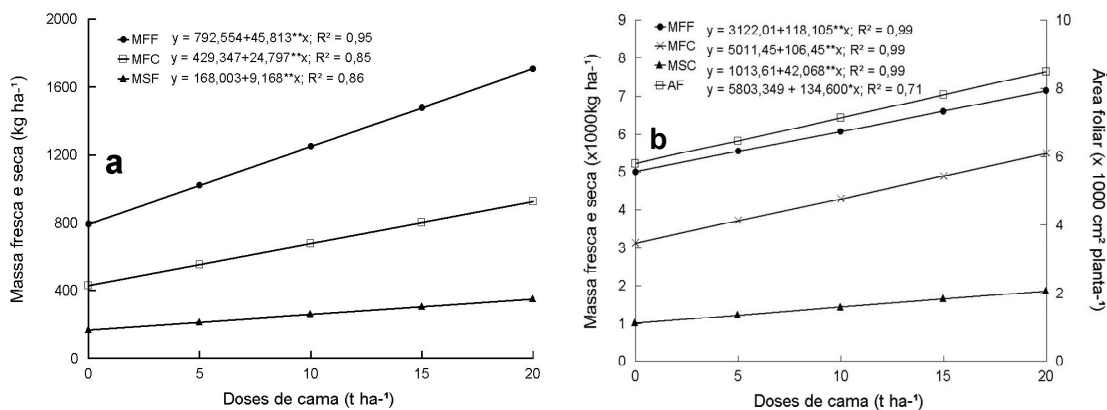


Figura 4. Massas frescas (MFF) e secas (MSF) de folhas; massas frescas (MFC) e secas (MSC) de caules e áreas foliares (AF) de plantas de alfavaca-cravo em função de diferentes doses de cama-de-frango na primeira colheita (a) e após a rebrota (b). UFGD, Dourados – 2009.

As maiores produções, obtidas com o uso de 20 t ha^{-1} de cama-de-frango, foram de $1.708,82$ e $7.140,41 \text{ kg ha}^{-1}$ de massas frescas de folhas e $925,29$ e $5484,11 \text{ kg ha}^{-1}$ de massas frescas de caules, na primeira colheita e na rebrota, respectivamente. As

massas secas de folhas só foram significativamente diferentes em função da cama-de-frango na primeira colheita, sendo de 351,37 kg ha⁻¹, e as massas secas de caules e área foliar somente na rebrota, com produção de 1854,80 kg ha⁻¹ e 8495,35 cm² planta⁻¹, respectivamente, sob 20 t ha⁻¹ de cama-de-frango. As maiores produções sob as maiores doses da cama-de-frango deveram-se, possivelmente, ao fato de o resíduo, ao ser incorporado, poder fornecer nutrientes para as plantas, proporcionar melhoria da estrutura física do solo, aumentar a retenção de água, diminuir as perdas por erosão, favorecer o controle biológico, além de aumentar a população microbiana e melhorar a capacidade tampão do solo (KIEHL, 2008).

A adição de fósforo influenciou significativamente apenas a área foliar na primeira colheita, superando em 413,31 cm² planta⁻¹ às plantas produzidas em solo sem fósforo (Tabela 2). Após a rebrota, a área foliar média foi de 7.149,49 cm² planta⁻¹. Essa ausência de resposta à aplicação do fósforo, nas demais características analisadas da planta, pode estar relacionada ao fato de a adição da cama-de-frango semidecomposta ter fornecido os nutrientes necessários para todos os tratamentos, não apresentando resposta significativa neste estudo.

Houve interação significativa entre a cama-de-frango e o fósforo apenas para os teores de magnésio e nitrogênio nas folhas da alfavaca-cravo (Tabela 3). Os teores médios de Mg não se ajustaram aos modelos de regressão testados e foram em média de 4,60 g kg⁻¹ sem o uso de P e de 4,72 g kg⁻¹ com a adição de P (Tabela 4). O teor máximo de N (33,22 g kg⁻¹), sem adição de P, foi obtido sob a dose de 9,2 t ha⁻¹ de cama-de-frango, enquanto com P, o teor médio foi de 32,55 g kg⁻¹ (Figura 5). Apesar de o K ter sido influenciado significativamente pelo uso de fósforo no solo e o Mn e o Zn pela cama-de-frango (Tabela 3), os dados não se ajustaram a nenhum dos modelos testados. Os demais nutrientes não foram influenciados pelo fósforo nem pela cama-de-frango.

Além da cama-de-frango que melhora as propriedades físicas e biológicas do solo, o uso de fertilizante fosfatado incorporado ao solo proporciona maior volume deste, com boas condições para a planta absorver fósforo, água e outros nutrientes (SOUSA et al., 2004). Porém, apesar da influência significativa no teor de nutrientes, essa variação não foi suficiente para que houvesse efeito na produção da alfavaca-cravo.

Tabela 3. Resumo das análises de variância dos teores de nutrientes encontrados nas folhas secas de alfavaca-cravo cultivada com cama-de-frango e fósforo, colhida após a rebrota. UFGD, Dourados – 2009.

Fontes de Variação	G.L.	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn
Blocos	3	3,5558	0,0668	0,0081	2,3646	0,0080	12,8806	110984,30	15,2340
Fósforo	1	2,7318	0,3867	0,2250**	4,8071	0,1440	3329,40	70672,04	4,8071
Cama	4	1,6899	0,0813	0,0406	11,3993	0,0640	3487,21*	13409,54	42,2704**
F x C	4	5,4322*	0,4132	0,0311	18,0349	0,2462*	2095,71	18059,43	4,3815
Resíduo	27	1,6200	0,1726	0,0239	7,8957	0,0855	1039,59	33908,20	5,3179
C.V. (%)		3,94	14,41	9,77	14,62	6,27	29,03	15,48	11,18

*, ** - significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 4. Médias dos teores de nutrientes encontrados nas folhas secas de alfavaca-cravo cultivadas com e sem adição de P ao solo, colhida após a rebrota. UFGD, Dourados – 2009.

P (200 kg ha ⁻¹)	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn
	g kg ⁻¹				mg kg ⁻¹			
Sem P	32,03 b	2,78 a	1,51 a	19,56 a	4,60 b	120,17 a	1147,53 a	20,27 a
Com P	32,55 a	2,98 a	1,66 a	18,87 a	4,72 a	101,92 a	1231,60 a	20,96 a
C.V. (%)	3,94	14,41	9,77	14,62	6,27	29,03	15,48	11,18

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste F 5%.

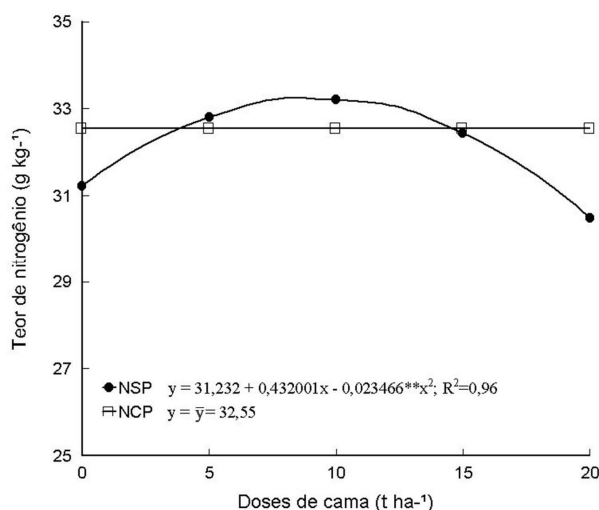


Figura 5. Variação dos teores foliares de nitrogênio, sem fósforo (NSP) e com fósforo (NCP), em função de diferentes doses de cama-de-frango após a rebrota. UFGD, Dourados – 2009.

O teor de óleo essencial das folhas da alfavaca-cravo não variou com as doses de cama-de-frango nem com o uso de fósforo, sendo, em média, de 0,70% (C.V. 17,13%). Provavelmente, essa característica seja pouco influenciada pelo tipo de adubação, já que apesar da reconhecida influência no desenvolvimento vegetal, poucos estudos mostram relações entre pH ou micro-organismos do solo e metabolismo secundário (EVANS, 1996). Esse comportamento assemelha-se ao observado por Chaves et al. (2002b) e Biasi et al. (2009), que ao avaliarem o efeito de doses crescentes de adubo orgânico em *Ocimum gratissimum* não observaram diferença no teor de óleo essencial, porém constataram valores superiores aos encontrados neste trabalho (1 e 1,08 % respectivamente).

Ao contrário do teor, o rendimento do óleo essencial cresceu proporcionalmente com as doses de cama-de-frango, observando-se rendimento máximo de 4,16 L ha⁻¹ sob a dose de 24,6 t ha⁻¹ de cama-de-frango (Figura 6). Esse resultado deve-se ao efeito positivo do resíduo sobre a produção de biomassa da alfavaca-cravo, que também foi crescente com o aumento das doses de cama-de-frango. Por outro lado, Biasi et al. (2009) não observaram diferença no rendimento do óleo essencial obtidos das folhas da rebrota da alfavaca-cravo, verificando rendimento médio de 4,04 L ha⁻¹.

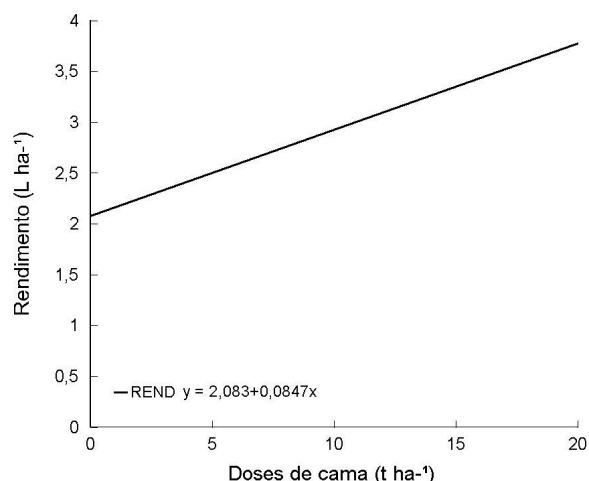


Figura 6. Rendimento de óleo essencial da alfavaca-cravo em função de diferentes doses de cama-de-frango, após a rebrota. UFGD, Dourados - 2009.

As análises realizadas no óleo essencial permitiram identificar 42 compostos, dos quais seis representaram em torno de 94% (Tabela 5) e, desses, destacou-se em todas as amostras como composto majoritário o eugenol ($C_{10}O_2H_{12}$), com concentrações que variaram de 67,30 a 74,99%. Os teores de eugenol obtidos foram superiores aos encontrados por Chaves et al. (2002b) e Jirovetz et al. (2003), os quais encontraram valores inferiores a 63,36%, quando o óleo essencial da alfavaca-cravo foi extraído em diferentes épocas de colheita.

Tabela 5. Composição química e porcentagem dos constituintes majoritários do óleo essencial das folhas da alfavaca-cravo cultivada com cinco doses de cama de frango, na ausência (Sem P) ou presença de fósforo (Com P), na dose 200 kg ha⁻¹. UFGD, Dourados – 2009.

IR ^a	Composto [*]	Cama-de-frango (t ha ⁻¹) Sem P				
		0	5	10	15	20
1031	1,8 cineol	3,07	3,09	3,10	3,13	3,09
1359	Eugenol	67,30	68,30	69,33	70,45	70,96
1421	β-ilangeno	4,95	4,97	4,99	4,99	4,99
1483	γ-himachaleno	2,00	2,62	2,62	2,62	2,62
1490	β-selineno	8,18	8,20	8,21	8,22	8,23
1497	Viridifloreno	3,38	3,39	3,40	3,41	3,42

IR ^a	Composto [*]	Cama-de-frango (t ha ⁻¹) Com P				
		0	5	10	15	20
1031	1,8 cineol	3,08	3,09	3,10	3,11	3,12
1359	Eugenol	72,56	73,89	74,08	74,67	74,99
1421	β-ilangeno	5,05	5,05	5,05	5,07	5,09
1483	γ-himachaleno	2,62	2,62	2,62	2,62	2,62
1490	β-selineno	8,22	8,23	8,25	8,26	8,27
1497	Viridifloreno	3,43	3,43	3,44	3,45	3,47

^a Índice de Kovats; ^{*}36 constituintes inferiores a 1%.

Os outros constituintes encontrados no óleo em maiores concentrações (Tabela 5) foram os sesquiterpenos β -selineno (8,18 a 8,27%), β -ilangeno (4,97 a 5,09%), viridifloreno (3,38 – 3,47%), o monoterpeneo 1,8 cineol (3,07 a 3,11%) e γ -himachaleno (2,00 – 2,62%). Os demais 36 constituintes foram identificados em concentrações inferiores a 1%. Esses dados são diferentes dos encontrados por Chaves et al. (2002b), pois ao estudarem a mesma espécie nas condições de Botucatu-SP, observaram que os principais constituintes, com teores menores que o eugenol, foram 1,8-cineol (23,73%), cis-ocimeno (4,25%), B-selineno (6,93%) e trans-cariofileno (5,13%).

4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, nas condições do experimento, recomenda-se o uso de cama-de-frango na dose de 20 t ha⁻¹, independente do uso de fósforo, para o cultivo e obtenção de maior massa e teor de óleo essencial da alfavaca-cravo.

A composição química do óleo essencial não foi influenciada pelas doses de cama-de-frango nem pelo uso de fósforo, porém apresentou alta quantidade de eugenol.

5 REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography /quadrupole mass spectroscopy**. Ed. Allured, 2001. 456 p.
- ADEBOLU, T. T.; OLADIMEJI, S. A. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, p. 682-684, 2005.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. El género *Ocimum* L. (Lamiaceae) en el nordeste del Brasil. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 56, p. 43-64, 1998.
- BIASI, L. A.; MACHADO, E. M.; KOWALSKI, A. P. J.; SIGNOR, D.; ALVES, M. A.; LIMA, F. I.; DESCHAMPS, C.; CÔCCO, L. C.; SCHEER, A. P. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca-cravo quimiotipo eugenol. **Horticultura brasileira**, v. 27, p. 35-39, 2009.
- BLANK, A. F.; SILVA, P. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; VASCONCELOS, M. C. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjerição cv. Genovese. **Ciência Agrônômica**, v. 36, p. 175-180, 2005.
- CAVALCANTI, E. S. B.; MORAIS, S. M.; LIMA, M. A. A.; SANTANA, E. W. P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 541-544, 2004.
- CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of Basil. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 115, p. 458-462, 1990.
- CHAVES, F. C. M.; MING, L. C.; EHLERT, P. A. D. Influence of organic fertilization on leaves and essential oil production of *Ocimum gratissimum* L. **Acta Horticulturae**, v. 576, p. 273-275, 2002a.
- CHAVES, F. C. M.; MING, L. C.; CARVALHO, E. A. V.; FERNANDES, D. M.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e teor de eugenol em alfavaca-cravo, em função da adubação orgânica e sazonalidade. **Horticultura Brasileira**, v. 20, suplemento, 2002b.
- COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B.; CASTRO, E. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; REIS, E. S.; ALVES, P. B.; NICULAU, E. S. Tipos e doses de adubação orgânica no crescimento, no rendimento e na composição química do óleo essencial de elixir paregórico. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2173-2180, 2008.
- EFFRAIM, K. D.; JACKS, T. W.; SODIPO, O. A. Histopathological studies on the toxicity of *Ocimum gratissimum* leaf extract on some organs of rabbit. **Journal Biomedical Research**, v. 6, p. 21-25, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análises de solo**, 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 212p.

EVANS, W. C.; **Trease and Evans' Pharmacognosy**, 14. ed. London: WB Saunders Company, 1996, cap. 7.

FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959. 327-328 p.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; SHAFI, M. P.; KANIAMPADY, M. M. Chemotaxonomical analysis of the essential oil aroma compounds of four different *Ocimum* species from southern India. **European Food Research and Tecnology**, v. 217, p. 120-124, 2003.

KIEHL, E. J. **Adubação orgânica: 500 perguntas e respostas**. Piracicaba: Editora Degaspari, 2008. 227 p.

KÖPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. México: Fondo de cultura Económica, 1948. 479 p.

LEITE, G. L. D.; ARAÚJO, C. B. O.; AMORIM, C. A. D.; PÊGO, K.P.; MARTINS, E. R.; SANTOS, E. A. M. Níveis de adubação orgânica na produção de calêndula e artrópodes associados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 227-233, 2005.

LUZ, J. M. Q.; MORAIS, T. P. S.; BLANK, A. F.; SODRÉ, A. C. B.; OLIVEIRA, G. S. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjerição sob doses de cama de frango. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 349-353, 2009.

MAIRAPETYAN, S. K. Aromatic plant culture in open – air hydroponics. **Acta Horticulturae**, v. 502, p. 33-36, 1999.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 319 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MATOS, S. H.; INNECCO, R.; CRUZ, G. F.; EHLERT, P. A. D. Determinação da altura de corte em alfavaca-cravo. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 998-999, 2000.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: UFV, 2001. 301p.

SALES, J. F.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; SILVA, F. G.; CORREA, R. M.; CARVALHO, J. G. Acúmulo de massa, teor foliar de nutrientes e rendimento de óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* Epl.) cultivado sob adubação orgânica. **Bioscience Journal**, v. 25, p. 60-68, 2009.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E.; REIN, T. A. Adubação com fósforo. In: SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 147-168.

SOUZA, J. L. **Agricultura orgânica: tecnologias para a produção de alimentos saudáveis**. Domingos Martins, Espírito Santo, 1998. 188 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artes Médicas, 3. ed., 2004. 820 p.

TEDESCO, M. J.; SELBACH, P. A.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O. Resíduos orgânicos no solo e os impactos no ambiente. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 113-136.

THE MERCK INDEX. 20. ed. New York: Merck, 1996. 1741p.

USIP, L. P. E.; OPARA, K. N.; IBANGA, E. S.; ATTING, I. A. Longitudinal evaluation of repellent activity of *Ocimum gratissimum* (Labiatae) volatile oil against *Simulium damnosum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 201-205, 2006.

ZHAO, C. X.; LIANG, Y. Z.; FANG, H. Z.; LI, X. N. Temperature-programmed retention indices for gas chromatography-mass spectroscopy analysis of plant essential oils. **Journal Chromatography**, v. 1096, p. 76-85, 2005.