

Crescimento e composição química do óleo essencial de mudas de *Eucalyptus globulus* (Labill) adubadas com nitrogênio e potássio

Márcia Silva Jesus^{*1}, Luiz Arnaldo Fernandes², Francine Souza Alves Fonseca³, Sofia Maria Gonçalves Rocha⁴, Ernane Ronie Martins²

Resumo

A pesquisa foi conduzida no Instituto de Ciências Agrárias (ICA-UFMG) com o objetivo de avaliar o efeito da adubação de nitrogênio e potássio no crescimento inicial de mudas e na composição do óleo essencial de *Eucalyptus globulus*. Os tratamentos corresponderam à aplicação de doses de nitrogênio (N) (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 g dm⁻³) e duas formas de aplicação de potássio (K), em cobertura e no preparo do substrato, e testemunha, conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5×2+1 com 12 repetições. Foram avaliados diâmetro do colo, altura, número de folhas e a composição química do óleo essencial. A identificação e a abundância relativa dos compostos do óleo essencial foram realizadas a partir de análises cromatográficas. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste *Dunnnett* ($p < 0,05$) e para as doses de N foram ajustadas equações de regressão. O diâmetro do colo e a altura apresentaram resposta quadrática à aplicação de N, tanto com K no substrato quanto em cobertura. No óleo essencial foram detectados 17 compostos, sendo que as mudas adubadas com N e K apresentaram maior número de compostos quando comparados à testemunha. A adubação influenciou tanto o crescimento inicial das mudas como a composição do óleo essencial.

Palavras-chaves: CG-EM. Eucalipto. Nutrição mineral.

Growth and essential oil chemical composition of *Eucalyptus globulus* (Labill) seedlings fertilized with nitrogen and potassium

Abstract

The research was conducted at Instituto de Ciências Agrárias (ICA- UFMG), with the objective to evaluate the effect of nitrogen and potassium fertilization on the initial growth of seedlings and in composition of the essential oil of *Eucalyptus globulus*. The treatments corresponded the application of nitrogen (N) (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 g dm⁻³) and two forms of potassium application (K), in coverage and in the preparation of the substrate, and control, conducted in a completely randomized design in a factorial 2×5+1 with 12 replications. Were evaluated stem diameter, height, number of leaves and the chemical composition of the essential oil. The identification and relative abundance of the essential oil compounds were made from chromatographic analysis.

¹Doutorado em Ciências Florestais – Universidade Federal de Viçosa.

^{*}Autora para correspondência: eng-marcia@hotmail.com

²Docente da Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

³Pesquisadora na Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros

⁴Mestranda em Ciências Florestais – Universidade Federal do Espírito Santo

Recebido para publicação em 11 de abril de 2016

Aceito para publicação em 10 de julho de 2016

The data were submitted to variance analysis and Dunnett test ($p < 0.05$) and for the doses of N were adjusted regression equations. The stem diameter and height showed a quadratic response to the application of N, as with K in the substrate as in coverage. In the essential oil were detected 17 compounds, being that the plants fertilized with N and K showed a higher number of compounds compared to the control. The fertilization influenced both the initial growth of seedlings as the essential oil composition.

Keywords: GC-MS. Eucalipto. Mineral nutrition.

Introdução

Eucalyptus globulus, é uma espécie florestal originária da Austrália, pertencente à família Myrtaceae. Considerada uma árvore de médio a grande porte, a sua importância está na diversidade de produtos que é possível obter a partir da madeira e folhas (VALDETARO *et al.* 2011).

No Brasil, o *Eucalyptus globulus* é considerada a principal espécie produtora de óleo medicinal. Esse óleo é destinado à fabricação de produtos farmacêuticos, sendo o seu principal constituinte químico denominado o eucaliptol, que apresenta propriedades bactericidas (VITTI; BRITO, 2003; KHAJAVI *et al.* 2014). Nesse contexto, é necessário considerar todos os aspectos tecnológicos que envolvam o estabelecimento e o manejo das florestas, principalmente quando destinadas à produção de óleo essencial (VITTI; BRITO, 2003).

Os óleos essenciais são metabólitos produzidos pelas plantas que podem sofrer influência de fatores abióticos e afetar tanto o seu rendimento em massa, como sua composição química. Os aspectos nutricionais da planta estão diretamente relacionados ao processo produtivo dos óleos essenciais e modificações no padrão nutricional pode acarretar mudanças no perfil químico dos óleos (OLIVEIRA; LIMA 2001; SOUZA *et al.*, 2007).

As plantas em situações de estresse nutricional podem modular rotas biossintéticas, permitindo com isso o seu estabelecimento em ambientes adversos (LIMA *et al.* 2003). Para espécie de eucalipto, pouco se conhece o efeito dos nutrientes sobre a composição de óleos essenciais.

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adubação de nitrogênio e potássio no crescimento inicial e na composição do óleo essencial de mudas de *Eucalyptus globulus*.

Material e métodos

O estudo foi conduzido no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, em Montes Claros (MG). Na produção de mudas do *Eucalyptus globulus* (Labill), conhecido popularmente como eucalipto comum, foram utilizados sacos plástico (25 x 12 x 10 cm), e amostra de subsolo Latossolo Vermelho de textura arenosa, com os seguintes atributos químicos e físicos, determinados conforme Embrapa (1997): P 3,5 mg dm⁻³; MO 33,9 g kg; K 32 mg kg; Ca 0,20 cmolc dm⁻³; Mg 0,10 cmolc dm⁻³; Al 0,70 cmolc dm⁻³; H+Al 3,24 cmolc dm⁻³; SB 0,38 cmolc dm⁻³; saturação por bases 11%; areia 860, silte 60 e argila 80 g kg. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2+1 com 12 repetições. Os tratamentos corresponderam à aplicação de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 g dm⁻³ de nitrogênio na forma de sulfato de amônio, duas formas de aplicação de potássio, em cobertura e no preparo do substrato (2,0 g dm⁻³), cuja fonte foi o cloreto de potássio, mais um tratamento adicional sem aplicação de N e K. O potássio em cobertura foi aplicado 15 dias após a semeadura. Aos 150 dias após a semeadura foram avaliadas altura, diâmetro do colo e número de folhas das mudas.

O óleo essencial foi extraído das folhas (40 g) por hidrodestilação (600 mL de água) no aparelho Clevenger durante 02h00 e seco com Na₂SO₄. As amostras foram diluídas em diclorometano (1mg mL⁻¹), transferidas para vials (2 mL) e analisadas individualmente por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Foi utilizado sistema *Agilent Technologies* (7890A) interfaceado a espectrômetro de massas (MS 5975C) dotado de coluna capilar de sílica fundida HP-5MS e hélio (fluxo 1 mL·min⁻¹) como gás de arraste. Os dados gerados foram analisados através do software MSD Chemstation juntamente com a biblioteca *National Institute of Standards and Technology* (NIST,

2009). A abundância relativa (%) dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do cromatograma e organizada de acordo com a ordem de eluição. A percentagem de cada componente foi calculada a partir da média normalizada da área do cromatograma de íons totais (TIC). A identificação dos compostos foi através da comparação do espectro de massas com os da biblioteca (NIST 2.0). O índice de retenção relativo de cada composto foi calculado segundo Dool e Kratz (1963) e comparado com a literatura (ADAMS, 2007).

Os dados foram submetidos à análise de variância e o tratamento adicional foi comparado com cada uma das doses de sulfato de amônio com potássio aplicado no substrato e

em cobertura, pelo teste de *Dunnett* a 5% de probabilidade. Para as doses de sulfato e amônio foram ajustadas equações de modelo de regressão linear simples com efeito quadrático ($y = B_0 + B_1x_i + B_2x_i^2 + e$) e o método utilizado para estimar os parâmetros foi o dos mínimos quadrados.

Resultados e discussão

Para o crescimento em altura da parte aérea (APA), diâmetro do colo (DC) e número de folhas os valores encontrados em cada uma das doses de sulfato de amônio, independentemente da forma de aplicação de potássio, foram maiores que a testemunha, exceto para o número de folhas na dose de 0,8 g dm⁻³ que foi semelhante a testemunha (TABELA 1).

Tabela 1 - Médias das características morfológicas: altura, diâmetro do colo e número de folhas, aos 150 dias das mudas de *Eucalyptus globulus*.

	Dose de sulfato de amônio (g dm ⁻³)					
Potássio	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	Testemunha
Altura (cm)						
Substrato	76,6aB*	78 aB	86,4aA	83,3 aA	82,3aA	52,4b
Cobertura	97,9aA	93,7 aA	94,8aA	72,5 aA	72,8aA	
Diâmetro (mm)						
Substrato	4,82aA	4,76aA	4,7aA	4,63aA	4,69aB	3,46b
Cobertura	5,25aA	5,08aA	5,82aA	5,41aA	5,97aA	
Número de Folhas						
Substrato	106aA	75aB	78aB	52bB	67aB	56b
Cobertura	87aB	125aA	145aA	97aA	122aA	

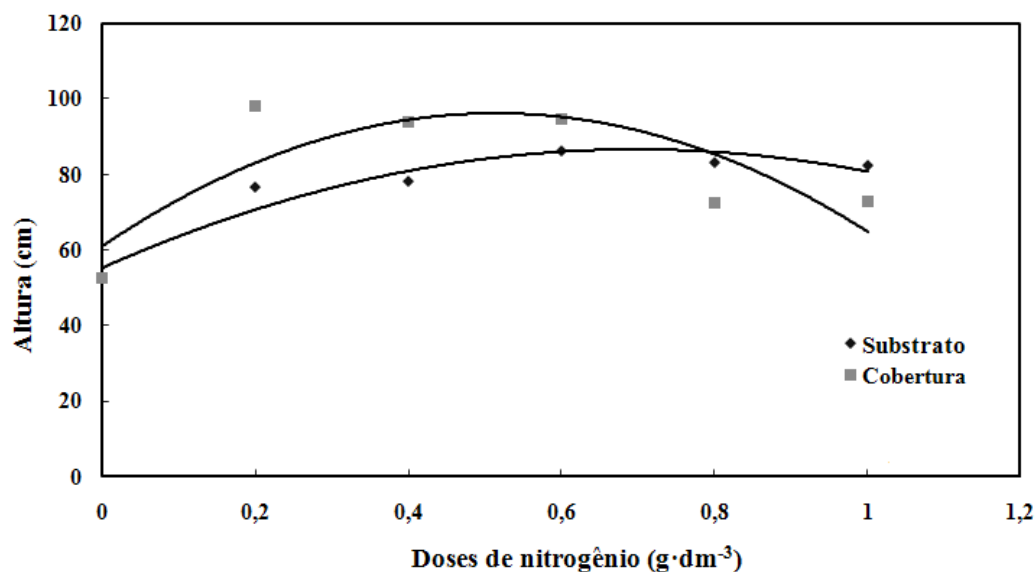
*Letras minúsculas na linha comparam cada uma das doses de sulfato de amônio com a testemunha pelo teste de *Dunnett* a 5% de Probabilidade. Letras maiúsculas nas colunas comparam as formas de aplicação de potássio em cada dose de sulfato de amônio pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

Esses resultados indicam que mudas de *Eucalyptus globulus* respondem a adubação com nitrogênio nessa fase do crescimento. Este estudo está de acordo com a pesquisa realizada por Dias *et al.* (2012) que trabalhando com mudas de goiabeira concluiu que a adubação nitrogenada é um fator importante no crescimento da planta na fase de muda para todos os níveis estudados. Em relação às doses de sulfato de

amônio verificou-se que altura da parte aérea apresentou resposta quadrática ao nitrogênio, tanto na aplicação de K no substrato quanto em cobertura (GRAFICO1). Paulino *et al.* (2012) estudando o teor de nutrientes na parte aérea de crambe afetado pela adubação com NPK, constatou que a adição de N e K em substrato elevou o teor de nitrogênio na parte aérea.

Gráfico 1 - Valores de altura da parte aérea (APA) das mudas de *Eucalyptus globulus* aos 150 dias de idade, em função de doses de nitrogênio e potássio (cobertura e substrato).



Fonte: Elaborado pelos autores, 2016.

Nos tratamentos em que o K foi aplicado no substrato a maior altura (86,5 cm) nas mudas de *Eucalyptus globulus* foi obtida com a aplicação de 0,7 g dm⁻³ de sulfato de amônio.

Por outro lado, quando o K aplicado em cobertura a maior altura (96,2 cm) foi observada com a aplicação de 0,5 g dm⁻³ de sulfato de amônio (TABELA 2).

Tabela 2 - Dose máxima e produção máxima das características morfológicas altura da parte aérea (APA), diâmetro de colo (DC) e número de folhas.

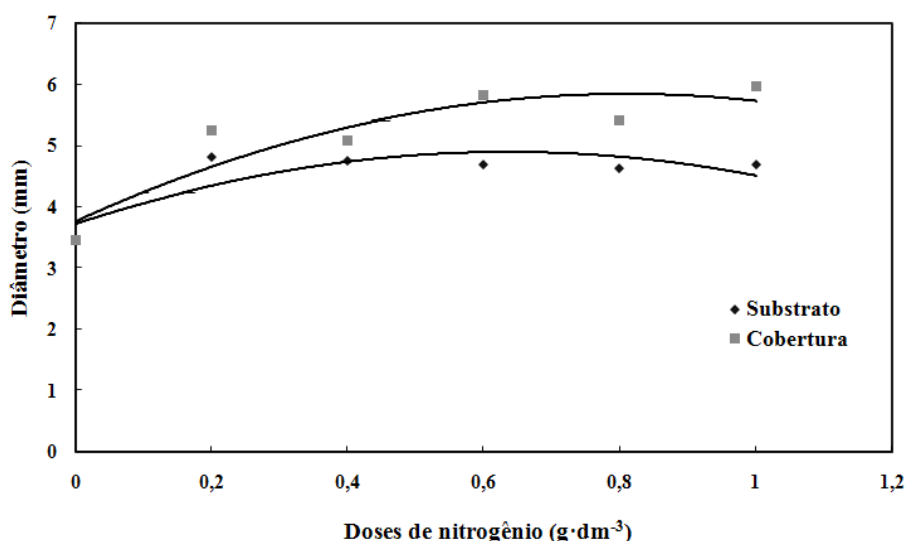
Variáveis	K em substrato		K em cobertura	
	Dose Máxima N(g)	Produção Máxima	Dose Máxima N(g)	Produção Máxima
APA (cm)	0,7	86,5	0,5	96,2
DC (mm)	0,6	4,9	0,8	6
Numero Folhas	ns	ns	0,7	129

ns = não significativo. N = nitrogênio

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

A altura, considerada uma característica morfológica de qualidade e vigor de mudas, é utilizada para expressar o potencial de desenvolvimento, tanto em campo como em viveiros (CRUZ *et al.* 2006). Dessa forma, tanto a aplicação de nitrogênio quanto de K é fundamental para a obtenção de mudas de *Eucalyptus globulus* de melhor qualidade.

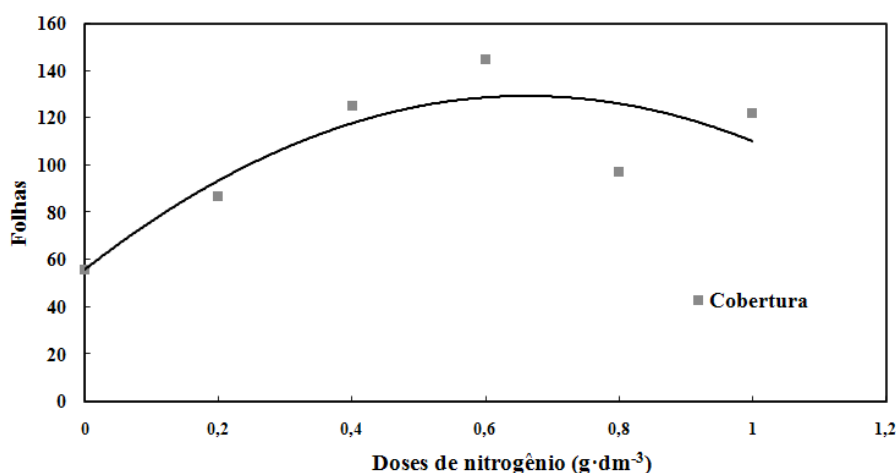
O diâmetro do colo, semelhantemente ao verificado para a altura, apresentou resposta quadrática à aplicação de sulfato de amônio, tanto com a aplicação do K no substrato quanto em cobertura (GRÁFICO 2).

Gráfico 2 - Valores de diâmetro do colo (DC) das mudas de *Eucalyptus globulus* aos 150 dias de idade, em função de doses de nitrogênio e potássio (cobertura e substrato).

Fonte: Elaborado pelos autores, 2016.

O maior valor em diâmetro (4,9 mm) foi obtido na dose $0,6 \text{ g dm}^{-3}$ quando aplicado K no substrato. Com a aplicação do K em cobertura, o diâmetro máximo (6,0 mm) foi obtido na dose de $0,8 \text{ g dm}^{-3}$ de sulfato de amônio (Tabela 2). Segundo Goulart (2011), o fornecimento de nitrogênio proporciona ganhos significativos no desenvolvimento das mudas, sendo que a

sua ausência é limitante para o crescimento, evidenciando o potencial de resposta das mudas a essa adubação. Em relação ao número de folhas não foi observada efeito significativo das doses de sulfato de amônio quando o K foi aplicado no substrato. Por outro lado, quando o K foi aplicado em cobertura observou resposta quadrática (GRÁFICO 3).

Gráfico 3 - Valores do número de folhas em mudas de *Eucalyptus globulus* aos 150 dias de idade, em função de doses de sulfato de amônio, quando aplicado potássio em cobertura.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

O maior número de folhas (129) nas mudas foi observado na dose de $0,7 \text{ g dm}^{-3}$ de sulfato de amônio. Mendonça *et al.* (2009) trabalhando com a adubação nitrogenada na produção de mudas de mamoeiro (*Carica papaya*) também verificaram que o aumento das doses de nitrogênio até uma determinada dose, pro-

porciona melhores resultados na produção de folhas.

Foram detectados, por CG-EM, um maior número de compostos nos tratamentos que receberam aplicação de sulfato de amônio, independentemente da forma de aplicação do K,

quando comparados à testemunha (TABELA 3).

Tabela 3 - Número total de compostos obtidos através da análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas no óleo essencial do *Eucalyptus globulus*.

Potássio	Dose de sulfato de amônio (g m ⁻³)					Testemunha
	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	
Número de compostos (%)						
Substrato	11 aA*	9aA	14 aA	10 aA	11 aA	4 b
Cobertura	14aA	9aA	9aB	12aA	12aA	

*Letras minúsculas comparam cada umas das doses de sulfato de amônio com a testemunha pelo teste de *Dunnet* a 5% de Probabilidade. Letras maiúsculas comparam as formas de aplicação de potássio em cada dose de sulfato de amônio pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

O sulfato de amônio influencia diretamente na produção do óleo essencial, pois a deficiência de enxofre e nitrogênio afeta diretamente a produção de metabolitos secundários diminuindo a síntese dos mesmos (GOBBO-NE-TO; LOPES, 2007).

do *Eucalyptus globulus*, foram detectados 17 compostos, com abundância relativa acima de 1% da área do pico do cromatograma, dos quais 16 foram identificados (TABELA 4). Estes compostos pertencem à classe dos monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados.

Do óleo essencial extraído das folhas

Tabela 4 - Compostos identificados no óleo essencial do *Eucalyptus globulus* analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) seguido da área relativa (%) em cada tratamento.

Compostos			Potássio											
			Substrato						Cobertura					
Doses nitrogênio (g dm ⁻³)														
		TR ^c	IR	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00	Test.
1	α-pineno	5,5	930	17,1	17,1	7,7	16,0	18,1	16,6	17,9	15,2	20,1	14,6	18,5
2	p-cimeno	8,2	1023	2,1	1,0	1,1	-	1,2	-	1,0	1,2	1,6	-	-
3	limoneno	8,3	1026	6,1	7,1	6,5	6,6	6,9	6,5	6,4	7,64	6,0	7,0	7,5
4	eucaliptol	8,5	1032	48,6	63,1	46,8	44,4	53,3	46,1	50,4	57,1	42,4	48,8	67,9
5	terpineol	14,8	1143	-	3,3	1,3	1,0	1,6	1,8	1,5	-	1,6	3,0	-
6	acetato de terpineol	21,2	1343	9,4	-	10,8	17,3	3,8	1,0	12,0	8,2	10,5	2,7	6,2
7	acetato de geraniol	22,6	1376	2,4	1,0	1,7	-	1,8	1,5	-	1,6	1,4	2,2	-
8	α-gurjuneno	23,7	1402	-	-	-	-	-	1,2	-	-	-	-	-
9	aromadendreno	24,9	1430	4,58	1,6	4,4	3,3	3,3	5,1	3,3	2,5	3,0	2,9	-
10	alloaromadendreno	25,8	1454	-	-	1,1	-	-	1,2	-	-	-	-	-
11	ledeno	27,1	1485	1,3	-	1,5	1,1	-	1,1	-	-	-	-	-
12	ledol	29,9	1556	1,0	-	1,7	1,2	1,1	1,8	-	-	1,3	-	-
13	globulol	30,8	1579	5,6	4,2	10,4	7,0	6,8	10,8	5,7	5,0	8,5	7,4	-
14	desconhecido	31,1	1587	1,4	1,1	2,7	1,7	1,7	2,6	1,4	1,3	2,0	1,9	-
15	γ-eudesmol	32,3	1618	-	-	1,7	-	-	1,9	-	-	1,1	1,1	-
16	β-eudesmol	32,5	1624	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	-
17	α-eudesmol	33,4	1648	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,0	-

T.R.: tempo de retenção. (-): compostos não detectados. Compostos desconhecido: íons característicos (m/z): 222(M⁺ 3), 204(46), 189(55), 161(100), 122(52), 109(98). IR^c: índice de retenção calculado. Tes.: testemunha. Foram considerados apenas os compostos que apresentaram abundância relativa acima de 1% da área do pico do cromatograma de íons totais (TIC).

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016

No óleo essencial, extraído das mudas que não receberam adubação (testemunha), foram detectados apenas quatro compostos: α -pineno (1) (18,5%), limoneno (3) (7,5%), eucaliptol (4) (67,9%) e o acetato de terpineol (6) (6,2%). Os compostos α -pineno (1), limoneno (3) e eucaliptol (4) foram detectados em todos os tratamentos, sendo o último o composto mais abundante em todos os tratamentos.

Dentre os compostos identificados, o gurjuneno (8) foi detectado apenas nas mudas adubadas com 0,20 g dm⁻³ de sulfato de amônio e potássio em cobertura. Os isômeros do eudesmol (16 e 17) foram detectados somente no óleo das mudas adubadas com 1,0 g dm⁻³ de sulfato de amônio e potássio em cobertura. O eudesmol apresenta potencial para o manejo de formigas cortadeiras (*Atta sexdens*), sendo responsável pelo comportamento agressivo em suas operárias, de acordo com Marinho *et al.* (2006) e Marinho *et al.* (2008), esse composto é uma substância que promove a quebra da coesão das colônias dessa espécie de formiga e isto ocorre em consequência da falta de reconhecimento

das companheiras de ninho que possivelmente está associada a modificação da composição da sua cutícula juntamente com a ação no sistema de alarme.

Os óleos essenciais podem possuir ações biológicas (DEY; HARBONE, 1997), e conforme foi observado nesse trabalho sofrem influência da adubação utilizada, sendo essa uma das justificativas para se aprofundar os estudos nessa área.

Conclusão

A adubação, com nitrogênio e potássio, influenciou o crescimento inicial das mudas de *Eucalyptus globulus*, como também na composição química do óleo essencial extraído das folhas desta espécie.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Referências

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils** Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. 3 ed. Illinois: USA, 2007, 455 p.
- CRUZ, C. A. F.; PAIVA, H. N.; GUERRERO, C. R. A. Efeito da adubação de mudas de sete cascas (*Samanea inopinata* (Harms) Ducke). **Revista Árvore**, v. 39, n. 4, p. 537-546, 2006.
- DEY, P. M.; HARBONE, J. B. **Plant biochemistry**. London: Academic, 1997, 554p.
- DIAS, M. J. T. *et al.* Adubação com nitrogênio e potássio em mudas de goiabeira em viveiro comercial. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 2837-2848, 2012.
- DOOL, H. V. D.; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOULART, L. M. L. **Crescimento e qualidade de mudas de ipê-amarelo** (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich.), jequitibá-rosa (*Carinianaestrellensis* (Raddi) Kuntze) e jequitibá-branco (*Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze), em resposta à adubação nitrogenada. 96p. Dissertação (Mestrado - Ciência Florestal) – Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- KHAJAVI, R. *et al.* *Eucalyptus* essential oil-doped alginate fibers as a potent antibacterial wound dressing. **Advances in Polymer Technology**, v. 33, n. 2, p. 1-7, 2014.
- LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 71-77, 2003.
- MARINHO, C. G. S. *et al.* Interference of B-eudesmol in nestmate recognition in *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 98, p. 467-473, 2008.
- MARINHO, C. G. S. *et al.* Aggressive response of pest ant species to B-eudesmol (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 47, p. 445-454, 2006.
- MENDONÇA, V. *et al.* Adubação nitrogenada em cobertura e substratos na produção de mudas de mamoeiro 'formosa'. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 33, p. 668-675, 2009.
- OLIVEIRA, C. L. F.; LIMA, I. L. Óleos essenciais de eucalipto. In: IV SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS APLICADAS DA FAEF, 2001, Garça, **Anais...** Garça: FAEF, 2001, p. 107-111.
- PAULINO, Q. F. L. *et al.* Calagem e adubação com NPK e avaliação do teor dos nutrientes na parte aérea de cramebe. In: I CONGRESSO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DO CÂMPUS RIO VERDE DO IF GOIANO. 2012, Rio Verde, **Anais...** Rio Verde: IFG, 2012, p. 59 - 64.

SOUZA, M. A. A. *et al.* Produção de biomassa e óleo essencial de hortelã em hidroponia em função de nitrogênio e fósforo. **Revista horticultura Brasileira**, v.25, n. 1, p.41-48, 2007.

VALDETARO, E. B. *et al.* Árvores geneticamente modificadas: técnicas, aplicações, riscos e os potenciais impactos associados a sua utilização. **Revista Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 65, p. 51-61, 2011.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo Essencial de Eucalipto. IPEF - Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. **Documentos Florestais**, p.2-25, n. 17, 2003.