

SOUZA JRP; ROCHA JN; MELO JM; NIXDORF SL. 2006. Ação do estresse térmico na sobrevivência de mudas e produção de camomila originadas de sementes importadas e nacionais. *Horticultura Brasileira* 24: 233-236.

Ação do estresse térmico na sobrevivência de mudas e produção de camomila originadas de sementes importadas e nacionais

José Roberto P de Souza; Juliana N Rocha; Juliana M Melo; Suzana Lucy Nixdorf

UEL, C. Postal 6001, 86051-990 Londrina-PR; E-mail: jose@uel.br

RESUMO

Avaliou-se o efeito de baixas temperaturas sobre a sobrevivência de mudas de camomila (originadas de sementes importadas e coletadas localmente) e sobre a produtividade da matéria-prima vegetal. Quarenta mudas com 7 a 10 cm de altura foram transferidas para câmara de germinação, tipo BOD, de duas procedências, onde permaneceram por 24 h nas condições: 10 h, com luz e 15°C; 8 h, sem luz e 10°C; 3 h, sem luz e 5°C; 3 h; sem luz e temperaturas de 0°C (testemunha), -2°C, -4°C e -6°C. As mudas de sementes local apresentaram maior número de plantas mortas quando aplicadas às temperaturas de -4 e -6°C, do que as importadas. O número de flores por planta e o acúmulo de matéria seca de flores por planta foram 462% e 226% superior, respectivamente, nas plantas originadas de sementes local comparadas com as importadas. O tratamento térmico de -6°C proporcionou retomada do crescimento e aumento da produção das plantas de camomila, contrastando com aquelas submetidas às temperaturas de -2°C e -4°C. Os extratos das flores das plantas originadas de sementes local e importada mostraram igual quantidade de quercetina (substância marcadora).

Palavras-chave: *Matricaria chamomilla*, planta medicinal, frio, resistência.

ABSTRACT

Action of termic stress on the survival and yield of chamomile plantlets from imported and national seeds

In the present trial the effects of low temperatures on the surviving of chamomile seedlings originated from two different origins (local and imported seeds) was evaluated on the development, yield and concentration of quercetin. Forty to 10 cm high seedlings from the two origins were transferred to a germination chamber (BOD) during 24 hours and submitted to the conditions: 10 h with light and 15°C; 8 h without light and 10°C; 3 h without light and 5°C; 3 h without light and temperatures ranging from 0 (check), -2, -4, and -6°C. The seedlings from national seeds were more susceptible to the temperatures of -4 and -6°C. There were 462% more flowers per plant and 226% more dry matter accumulation per plant in the plants originated from national seeds compared to the plantlets from imported seeds. Chamomile plants regrew and showed higher yield when submitted to temperatures of -6°C. The national and imported plants showed the same concentration of quercetin.

Keywords: *Matricaria chamomilla*, medicinal plants, cold, resistance.

(Recebido para publicação em 1 de abril de 2005; aceito em 29 de maio de 2006)

Matricaria chamomilla var. *recutita* (L.) é uma planta herbácea, anual, aromática, pertencente à família *Asteraceae*, nativa dos campos da Europa e aclimatada em algumas regiões da Ásia e nos países latinos. A parte da planta utilizada para fins terapêuticos é constituída dos seus capítulos florais secos. A partir de suas flores, se obtém óleo essencial contendo camazuleno, camaviolono e abisabolol (Lorenzi & Matos, 2002). As flores de camomila possuem terpenóides e lactonas sesquiterpênicas com atividades biológicas (Sacilotto *et al.*, 2000), polissacarídeos imunoestimulantes, ésteres bicíclicos com atividade espasmolítica, flavonóides de ação bacteriostática e tricomonídicidas, e a apigenina com propriedades ansiolítica e sedativa (Achtterath *et al.*, 1981; Sousa *et al.*, 1991; Viola *et al.*, 1995;

Kedzia, 2001). Segundo Silva *et al.* (1995), a quercetina é um flavonóide presente na camomila com diversas propriedades; tais como antiinflamatória, antivirótica, antioxidante e antimicrobiana.

O estado do Paraná é o maior produtor nacional de camomila (491 t na safra de 2002), com crescimento significativo nos últimos sete anos. Porém, o alto custo de produção e problemas tecnológicos de mercado têm causado a diminuição da produção para a safra corrente. O que se procura é a melhoria na qualidade do produto final, e também do processo produtivo; isso pode ser obtido com sementes melhoradas e da busca de novas variedades que não sejam suscetíveis à baixa temperatura (Agro-Fauna, 2003).

Segundo McKersie (1996), plantas submetidas ao resfriamento podem so-

frer perda de vigor e diminuição das taxas de crescimento sem demonstrar sintomas visuais, porém a maioria delas pára o crescimento e só retornam quando a temperatura torna-se adequada, não revertendo o quadro de injúria. Os sintomas de injúrias variam conforme a temperatura, o tempo de exposição, a cultura, o estado fisiológico e as condições ambientais, como luz, água e nutrientes (Saltveit & Morris, 1990).

As mudanças e as respostas induzidas na planta ao estresse térmico ocorrem em todos os níveis funcionais do organismo, as quais são reversíveis a princípio, mas podem tornar-se permanentes. Mesmo se a condição de estresse for temporária, a vitalidade da planta diminui conforme a duração do estresse. Sob condições de frio, existe menos energia metabólica disponível, restringindo a absorção de água e de

nutrientes, os processos de biossíntese ocorrem em menor intensidade, a assimilação é reduzida e o crescimento é interrompido (Larcher, 2000). Assim, a tolerância ao frio é muito importante porque baixas temperaturas que não chegam a matar a planta podem levar a injúria, deixando-a suscetível a outros tipos de estresses ou doenças (McKenzie et al., 1988).

Neste experimento, avaliaram-se as consequências de baixas temperaturas sobre a sobrevivência de mudas e o desenvolvimento, produção e qualidade físico-química da matéria-prima vegetal de plantas de camomila de duas procedências.

MATERIAL E MÉTODOS

O primeiro experimento foi realizado em viveiro de produção de mudas, laboratório e casa de vegetação em Londrina-PR, coordenadas de 23° 15' latitude Sul e 51° 10' longitude Norte. O clima da região é classificado como *cf*a segundo a escala de Köppen. Foram utilizadas sementes de camomila [*M. chamomilla* var. *recutita* (L.)] de duas procedências, local (Londrina) e comercial (importada pela empresa Isla). Foram colocadas 4 a 5 sementes por tubete de 50 cm³ de capacidade, contendo substrato Plantmax. Os tubetes foram distribuídos em suportes vazados, colocados a 1,0 m de altura do solo, e irrigados por micro-aspersão (oito turnos de três min cada um e vazão de 43 L h⁻¹). Foram realizados desbastes periódicos para deixar uma planta por tubete.

Quando as mudas atingiram 7 a 10 cm de altura, foi feita uma seleção de 40 mudas para a realização dos testes de resistência a frio para os dois materiais. O teste foi desenvolvido em câmara de germinação tipo BOD, marca Tecnal, modelo TE-401. O tratamento térmico constituiu-se de uma sequência de três períodos com temperaturas comuns e um com temperatura variável para todas as plantas. Os períodos de temperatura e luminosidade utilizados foram dez horas com luz, sob quatro lâmpadas de 20 W cada, a 15°C; 8 h sem luz; 10°C e 3 h sem luz e 5°C. No último período (temperatura variável), as mudas foram mantidas no escuro duran-

te 3 horas com as temperaturas: 0°C (testemunha), -2°C; -4°C e -6°C. Após o estresse térmico, as mudas retornaram ao viveiro onde permaneceram por uma semana para a sua aclimação. Ao final dessa fase, foi realizada a contagem das mudas mortas.

O experimento foi constituído por um fatorial AxB, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo o fator A representado pela procedência da semente (local ou importada), e o fator B as temperaturas variáveis utilizadas no estresse térmico (0; -2; -4 e -6°C). Os valores obtidos foram transformados em Arc seno [raiz (X + alfa)/100], sendo alfa igual a 0,5 para a realização da análise de variância, e a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de significância. Cada parcela da repetição foi constituída por 10 plantas.

No segundo experimento foram selecionadas dez mudas do total de sobreviventes do primeiro experimento de cada tratamento. Duas mudas foram transplantadas para cada vaso cerâmico com capacidade de 5 L e mantidas em casa de vegetação. Para o enchimento dos vasos utilizou-se 50% de solo de sub-superfície, 50% de vermicomposto além de 10 g do adubo formulado N-P-K (10-10-10). Após um mês do transplântio, iniciou-se a colheita das plantas de camomila originadas de sementes local. A colheita dos capítulos florais foi realizada manualmente quando as pétalas formavam um ângulo de 90° com o receptáculo floral. A colheita de cada tratamento foi realizada semanalmente durante dois meses.

Plantas originadas de sementes de procedência local e importada foram deixadas durante 24 h a 5°C para indução do florescimento, 45 dias após o transplântio. Após uma semana desse tratamento, iniciou-se a colheita, sendo repetida semanalmente durante dois meses. Realizou-se a contagem do número de flores e medição da altura das plantas no momento da colheita para os tratamentos. Em seguida, todo o material foi encaminhado para estufa de circulação de ar forçado sob 35°C até atingir 12% de teor de água. Em seguida, avaliou-se a produtividade (g/planta). O experimento foi constituído por um fa-

torial AxB, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. O fator A foi representado pela procedência da semente e o fator B pela temperatura utilizada no estresse térmico. A variável número de flores sofreu transformação raiz quadrada de X. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A caracterização da qualidade físico-química da matéria-prima vegetal das duas procedências foi executada segundo técnicas, quantidades e metodologias contidas na Farmacopéia Brasileira, Parte I (1988). A presença e quantificação de óleos essenciais das flores de camomila foram realizadas pelo processo de destilação por arraste de vapor. Foram avaliadas, também, as quantidades de cinzas totais (substâncias residuais não-voláteis), de cinzas insolúveis em ácido, e o teor de água dos materiais. O extrato aquoso das flores de cada procedência foi preparado com colocação de 2 g de capítulos florais secos em 100 mL de água de destilada (2% m/v), através do método da infusão. Os extratos foram submetidos a análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), onde a substância marcadora para o controle de qualidade foi a quercetina, e a fase móvel foi formada pela mistura de metanol e ácido fosfórico 0,16 M (53:47 v/v) num comprimento de onda de 255 nm.

Inicialmente a análise do teor da substância marcadora dos extratos, foi desenvolvida uma curva analítica de padrão de quercetina, dissolvida em metanol (grau HPLC), de forma a se obter as concentrações 0,5; 1; 2,5; 5 e 10 µg mL⁻¹. As soluções foram filtradas com o uso de membrana de nylon, 0,22 micra, descartáveis (HATF 04700 – Millipore). Os equipamentos utilizados na análise cromatográfica foram: bomba LC-10AD (Shimatzu), válvula injetora de alta pressão com controle eletrônico de 10 vias (loop de 10 mL) (VICI) pré-coluna de C-18 sílica (Hamilton), coluna de fase reversa Microsorb MV 100-5018 (250 x 4,6 mm, 5 mm) (Varian), detector UV-VIS 2550 (Varian), sistema de dados série PE-Nelson, com microcomputador Pentium 166 MHz, em ambiente Windows.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento, a interação dos fatores (procedência e temperatura) não foi significativa para o número de mudas mortas; porém, quando a procedência foi avaliada separadamente, as mudas originadas de sementes local apresentaram maior porcentagem de mortalidade (42,5%), com a redução da temperatura a partir de -4°C. Já as mudas originadas de sementes importadas demonstraram aumento significativo de mortalidade a partir de -6°C, com 55% de mudas mortas.

Em casa de vegetação, plantas de origem local floresceram um mês após o transplântio, enquanto que as de origem importada não apresentavam sinais de formação dos botões florais depois de 45 dias do transplântio. Não foi avaliado se este florescimento tardio foi consequência das diferenças climáticas entre o local do experimento e o local de origem da semente, diferenças entre os genótipos de camomila ou se realmente foi o frio o causador deste atraso, concordando com a afirmação de McKersie (1996), de que o resfriamento pode afetar duramente o processo de florescimento, a produção de pólen e a germinação.

No segundo experimento, a interação dos fatores procedência e temperatura não foram significativas para número de flores por planta, altura da haste principal, e acúmulo de matéria seca de flores por planta. Considerando os fatores separadamente verificou-se diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Plantas originadas de sementes local produziram maior número de flores por planta (462% superior) e acúmulo de matéria seca de flores por planta (226% superior), em comparação àquelas originadas de sementes importadas (Tabela 2). Com relação ao fator temperatura, as variáveis número de flores e matéria seca de flores diminuíram significativamente para plantas que foram submetidas a temperatura de até -4°C. Já as mudas que receberam o tratamento de -6°C originaram plantas de crescimento e a produção igual a testemunha, ou seja, foram superiores aos dois tratamentos anteriores, independentemente

Tabela 1. Média de altura da haste principal, número de flores por planta e acúmulo de matéria seca das flores por planta de camomila originada de sementes de duas procedências, após permanência por 3 h a 0, -2, -4 e -6°C. Londrina, UEL, 2004.

Característica	Temperatura (°C)				Procedência		CV (%)
	0	-2	-4	-6	Local	Importada	
Altura (cm)	42,7 A*	43,6 A	38,2 A	42,9 A	32,3 b	51,5 a	28,8
Flores (nº/planta)	316,5 A	246,8 A	124,1 B	222,9 AB	377,9 a	81,7 b	29,7
Matéria seca (g/planta)	5,8 A	3,3 AB	1,85 B	2,7 AB	4,75 a	2,1 b	59,4

*Médias seguidas da mesma letra na horizontal, maiúscula para temperatura e minúscula para procedência, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

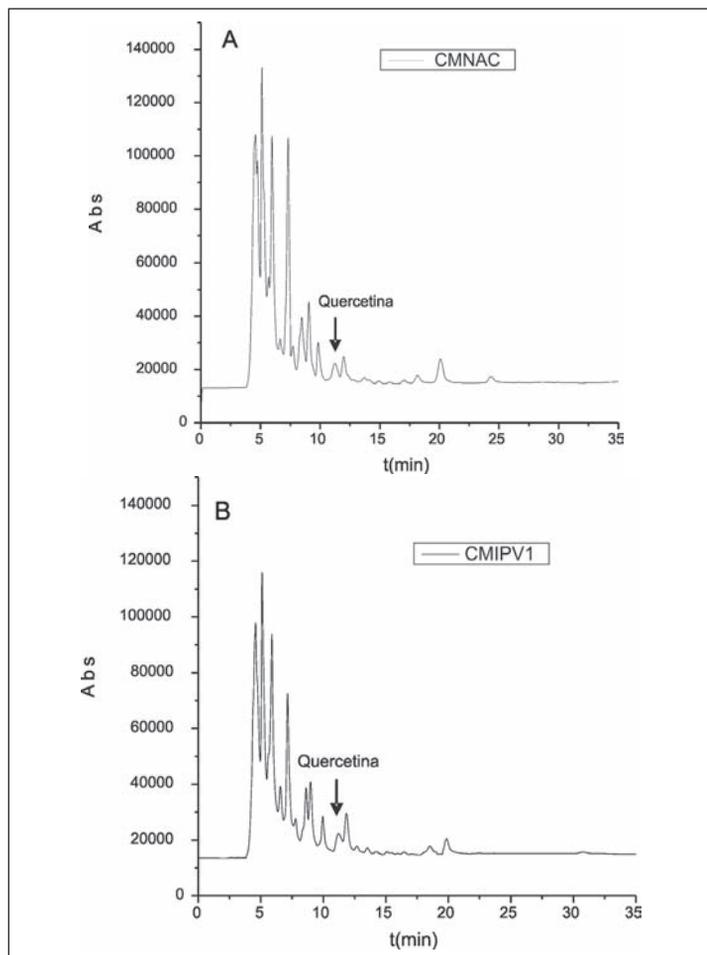


Figura 1. Cromatograma da análise da quercetina do infuso da camomila local (A) e importada (B) (2% m v⁻¹), fase móvel: MeOH: H₃PO₄ 0,16 M (53:47 v/v). Vazão: 0,6 mL min⁻¹; Vol. Inj.: 10 mL; Microsorb MV C-18, a temperatura ambiente; UV-VIS=255 nm. Londrina, UEL, 2004.

mente da procedência da planta (local ou importada). A variável altura não apresentou diferenças significativas entre as temperaturas empregadas. Entretanto,

verificou-se que plantas originadas de sementes importadas apresentaram-se 60% mais altas do que aquelas originadas de sementes da safra local (Tabela 2).

As plantas originadas de todos os tratamentos não apresentaram nenhum sintoma visual de injúria marcante pelo efeito das baixas temperaturas. Plantas de camomila oriundas de mudas submetidas a temperatura -6°C apresentaram recuperação do crescimento e da produtividade após atingirem valores mais baixos na temperatura de -4°C (Tabela 1). Esta recuperação aconteceu, possivelmente, após a fase de alarme, quando as funções vitais diminuem; as mudas passaram para a fase de restituição, onde sintetizaram proteínas e substâncias crioprotetoras, aumentando sua resistência ao frio (Larcher, 1995). Esse processo de indução e manutenção da aclimatação ao frio requer energia metabólica. Inicialmente, esta energia é suprida via endosperma da semente, mas para o posterior crescimento e desenvolvimento, a fotossíntese torna-se a fonte primária de energia (Puma & Huner, 1985). É possível verificar que as condições a que as mudas e plantas foram submetidas após o tratamento de -6°C propiciaram um bom suprimento energético via fotossíntese, permitindo a continuidade do seu processo de desenvolvimento e produção. As injúrias provocadas pelas baixas temperaturas nas plantas foram reversíveis (Tabela 1), não alcançando o nível permanente suposto por Larcher (2000).

Não foi possível quantificar os óleos essenciais das flores de camomila, porque não havia quantidade de material suficiente para a realização da técnica; porém, foi possível verificar a presença do camazuleno, substância de cor azul, responsável pela propriedade antiinflamatória da camomila em todos os tratamentos. Segundo os padrões da Organização Mundial da Saúde (OMS) (Geneva, 1999), os teores de cinzas totais e de cinzas insolúveis em ácido da camomila não devem exceder 13% e 4% respectivamente, e o teor de água deve ficar entre 8 e 14%. Os resultados obtidos estão dentro dos padrões estabelecidos pela OMS, com exceção do teor de cinzas insolúveis em ácido para o

material vegetal originado de sementes importadas que foi 6,16 +/- 0,18%.

Para a determinação do perfil cromatográfico da camomila, houve necessidade da adaptação da técnica aplicada à marcela [*Achyroclines satoreoides* (Lam.) - Asteraceae] para a obtenção do padrão da quercetina descrita na respectiva monografia na Farmacopéia Brasileira, Parte II (2001). A curva analítica da quercetina obteve um coeficiente de correlação de 0,999 comprovando a linearidade da metodologia analítica empregada. Os cromatogramas dos extratos aquosos da camomila de origem local (CNAC) e da importada (CMIPV1) estão na Figura 1. A análise do cromatograma mostrou um pico de quercetina aos 11,22 min (tempo de retenção) após o início da análise para a camomila de origem local (Figura 1A). O cromatograma de análise de quercetina do extrato de camomila de origem importada (CMIPV1) não apresentou diferenças visuais, nem quanto a quantidade da substância (0,2374 µg mL⁻¹), comparado com o extrato de camomila de origem local (Figura 1B). Fatma et al. (1999) também verificaram que a aplicação de baixas temperaturas, só que em sementes de camomila, não altera a constituição dos metabólitos dos óleos essenciais das flores.

A origem da semente mostrou ser um fator importante para a produção de camomila em regiões mais frias. As mudas de camomila suportam temperaturas de até -2°C sem causar mortes e perdas de produtividade.

REFERÊNCIAS

ACHTERRATH-TUCKERMANN U; KUNDE R; FLASKAM PE. 1981. Pharmacological studies on the constituents of chamomile. Studies on the spasmolytic effects of constituents of chamomile and kamomillosan on the isolated guinea pig ileum. *Planta Medica* 39: 38-50.

AGRO-FAUNA. 2003, 04 outubro. *Floricultura: Paraná vai colher 30% menos camomila na safra 2003*. Fonte: Gazeta do Povo. Disponível em <http://www.agro-fauna.com.br/noticias.php?nid=4701>

FARMACOPÉIA. 1988. *Farmacopéia Brasileira - Parte I*. 4ed. São Paulo: Atheneu Editora Ltda. 300p.

FARMACOPÉIA. 2001. *Farmacopéia Brasileira - Parte II*. 4ed., fascículo 3. Monografia da marcela (*Achyroclines satoreoides* (Lam.) DC - Asteraceae). São Paulo: Atheneu Editora Ltda. 87p.

FATMA R; SHAHIRA T; ABDEL-RAHIM EA; AFIFY AS; AYADS HS. 1999. Effect of low temperature on growth, some biochemical constituents and essential oil of Chamomile. *Annals of Agricultural Science-Cairo* 44: 741-760.

GENEVA. 1999. *Flos Chamomile - WHO monographs on selected medicinal plants*. VI, World Health Organization. Geneva: p. 86-94.

KEDZIA B. 2001. Antimicrobial activity of chamomile oil and its components. *Herba Polonica* 37: 29-38.

LARCHER W. 2000. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RiMa. 531p.

LARCHER W. 1995. *Physiological Plant Ecology*. 3 ed. Berlin: Springer. 506p.

LORENZI H; MATOS FJA. 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512p.

McKENZIE JS; PAQUIN R; DUKE SH. 1988. Cold and heat tolerance. In: HANSON AA et al. (eds). *Alfafa and Alfafa improvement*. Agronomy Monography. Madison: ASA, CSSA, and SSSA. p. 259-302.

McKERSIE BD. 1996. *Chilling stress*. Disponível em: <http://www.agronomy.psu.edu/Courses/AGRO518/CHILLING.htm>. Acessado em 03 de janeiro de 2004.

PUMA LCV; HUNER NPA. 1985. Morphological, anatomical, and molecular consequences of growth and development at low temperature in *Secale cereale*. *American Journal of Botany* 72: 1290-1306.

SACILOTTO ACBC; SARTORI FT; VICHNEWSKII W. 2000. *Flavonóides de Eremanthus cinctus*. Disponível em: <http://www.sbg.org.br/ranteriores/23/resumos/0108/>. Acessado em 03 de agosto de 2003.

SALTVEIT MEJR; MORIS LL. 1990. Overview of chilling injury of horticultural crops. In: Wang CY (eds). *Chilling Injury of Horticultural Crops*. Boca Raton: CRC Press. p. 3-15.

SILVA I; FRANCO SL; MOLIMARI SL; CONEGERO CI; MIRANDA NETO MH; CARDOSO MLC; SANTANA DMG; IWANKO NS. 1995. *Noções sobre o organismo humano e a utilização de plantas medicinais*. 3 ed. Cascavel: Assoeste. 203p.

SOUSA MP. 1991. *Matas medicinais brasileiras*. Fortaleza: Imprensa Universitária/UFC. 416p.

VIOLA H; WASOWISK C; LCI-DE SATEIN M. 1995. Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, in a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta Medica* 61: 213-6