



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS



GABRIELA CARINHANHA SILVA

BIORREGULADORES VEGETAIS, SUBSTRATOS E ESTAQUIA EM
***Lippia origanoides* KUNTH (VERBENACEAE)**

FEIRA DE SANTANA - BA

2012

GABRIELA CARINHANHA SILVA

**BIORREGULADORES VEGETAIS, SUBSTRATOS E
ESTAQUIA EM *Lippia origanoides* KUNTH
(VERBENACEAE)**

FEIRA DE SANTANA - BA

2012

GABRIELA CARINHANHA SILVA

**BIORREGULADORES VEGETAIS, SUBSTRATOS E
ESTAQUIA EM *Lippia organoides* KUNTH
(VERBENACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Angélica Maria Lucchese
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Tânia Regina dos Santos Silva

FEIRA DE SANTANA - BA

2012

A Deus pelas graças bondosamente concedidas.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo em minha vida.

A meus pais pelo amor, dedicação, educação moral e intelectual.

Às minhas irmãs, Áurea e Carolina, pelo apoio e incentivo.

À minha avó Manuela† pelas orações.

Ao meu noivo, Felipe, pelo amor e cuidado comigo.

Ao meu orientador, Lenaldo Muniz, pela atenção e disponibilidade dedicada na transmissão de seus conhecimentos a mim.

À minha amiga-irmã Vívian por torcer e acreditar em mim.

Às minhas amigas Milena, Thayana, Flaviane e Jane por compartilharem alegrias e angústias durante o mestrado.

À amiga Twane por ajudar na execução do projeto e compartilhar experiências.

A minha querida prima Renata por auxiliar na montagem experimental e apoio.

Aos funcionários do Horto Florestal pelo auxílio na montagem do experimento de campo.

Ao Professor José Raniere Ferreira de Santana, por me recomendar à orientação do prof. Lenaldo Muniz.

A UEFS pelo apoio em infraestrutura e financeiro disponibilizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de mestrado.

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar a influência de diferentes substratos e concentrações de auxina na estaquia e de outros biorreguladores vegetais sobre crescimento de plantas, produção e composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. Estacas foram submetidas a soluções de ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de 0, 62,5, 125, 250 e 500 mg L⁻¹ e cultivadas em vermiculita expandida, Biomix[®] e vermiculita expandida + Biomix[®] (1:1). Avaliou-se porcentagem de enraizamento e de sobrevivência, comprimento de caule e maior raiz, número de folhas, massa da matéria seca folhas, caule, raiz e total. Além disto, plantas adultas receberam três pulverizações foliares com ácido giberélico, 6-benzilaminopurina, ácido acetilsalicílico, ácido jasmônico, Stimulate[®] e água destilada, avaliando-se, em três épocas, altura, comprimento da maior raiz, área foliar, massa da matéria seca de folhas, ramos, raízes, inflorescências e total, e rendimento, teor e composição do óleo. Calculou-se taxa de crescimento relativo, taxa assimilatória líquida, razão de peso foliar e área foliar específica. Verificou-se que *Lippia origanoides* apresenta fácil enraizamento, e que o uso de 278 mg de AIB L⁻¹ de solução e cultivo em vermiculita + Biomix[®] (1:1) é mais eficiente para sua propagação. Biorreguladores vegetais estimulam crescimento de *L. origanoides*, nas condições do experimento, em períodos prolongados. A aplicação dos biorreguladores, principalmente de ácido jasmônico e Stimulate[®], eleva o teor de óleo essencial, cujos componentes majoritários são carvacrol, γ -terpineno, p-cimeno, (E)-cariofileno, biciclogermacreno e timol. A concentração destes compostos em plantas de *L. origanoides* varia com o tempo e os biorreguladpres, com exceção de biciclogermacreno.

Palavras-chave: Planta medicinal. Alecrim-de-tabuleiro. Propagação vegetativa. Cultivo. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the influence of substrate and application of exogenous auxin on cuttings and the effect of plant bioregulators on growth, production and chemical composition of essential oil of *Lippia origanoides* Kunth. Cuttings were treated with indolebutyric acid (IBA) at concentrations of 0, 62,5, 125, 250 and 500 mg L⁻¹ and cultivated on expanded vermiculite, Biomix[®] and expanded vermiculite + Biomix[®] (1:1). We evaluated the percentage of rooting and survival, stem and the largest root length, leaf number, leaves, stem, root and total dry mass. Moreover, adult plants were sprayed with gibberellic acid, 6-benzylaminopurine, acetylsalicylic acid, jasmonic acid, Stimulate[®], we evaluated at three different times height, roots length, leaf area, leaves, twigs, roots, inflorescences and total dry matter, and yield, content and composition of essential oil. We calculated relative growth rate, net assimilation rate, leaf weight ratio and specific leaf area. It was found that *Lippia origanoides* has easy rooting and the use of 278 mg L⁻¹ of IBA and cultivation on Biomix[®] + vermiculite (1:1) is more efficient for its propagation. Bioregulators stimulate growth of *L. origanoides* in the experimental conditions for extended periods. The application of bioregulators, mainly jasmonic acid and Stimulate[®] elevates the content of essential oil, whose major components are carvacrol, γ -terpinene, ρ -cymene, (E)-caryophyllene, bicyclogermacrene and thymol. The concentration of these compounds in plants *L. origanoides* varies with time and bioregulators, except bicyclogermacrene.

Key-words: Medicinal plant. Alecrim-de-tabuleiro. Vegetative propagation. Growth. Secondary metabolites.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE QUADRO

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL	1
1. Recursos genéticos vegetais do semiárido brasileiro	1
2. O gênero <i>Lippia</i> L.	2
3. <i>Lippia origanoides</i> KUNTH	4
4. Óleos essenciais de plantas	7
5. Cultivo de plantas medicinais	9
6. Biorreguladores vegetais	10
Referências	12
CAPÍTULO I - Ácido indolbutírico e diferentes substratos na estaquia de <i>Lippia origanoides</i> Kunth (Verbenaceae)	16
Introdução	18
Materiais e Métodos	21
Resultados e Discussão	23
Conclusões	30
Referências	31
CAPÍTULO II – Biorreguladores vegetais no crescimento de <i>Lippia origanoides</i> Kunth (Verbenaceae)	34
Introdução	36

Materiais e Métodos	39
Resultados e Discussão	42
Conclusões	49
Referências	50
CAPÍTULO III – Biorreguladores vegetais na produção e composição química do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> Kunth (Verbenaceae)	52
Introdução	54
Materiais e Métodos	56
Resultados e Discussão	59
Conclusões	68
Referências	69
CONCLUSÕES GERAIS	71
ANEXOS	72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Taxa de sobrevivência, número de folhas por muda e comprimento do caule de *Lippia origanoides* Kunth propagadas a partir de estacas apicais cultivadas em substrato Biomix[®] (S1), vermiculita expandida (S2) e Biomix + vermiculita (S3) e tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, 2012.....27

Tabela 2: Média da massa da matéria seca de folhas, caule, raiz e total de mudas de *Lippia origanoides* Kunth propagadas a partir de estacas apicais cultivadas em substrato Biomix[®] (S1), vermiculita expandida (S2) e Biomix + vermiculita (S3) e tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, 2012.....28

CAPÍTULO II

Tabela 1: Médias de altura e área foliar de plantas de *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) cultivadas em casa de vegetação, submetidas a três pulverizações foliares com diferentes hormônios e reguladores de crescimento e avaliadas em três épocas (7, 21 e 35 dias após a primeira aplicação). Feira de Santana-BA, 2012.....43

Tabela 2: Médias da massa da matéria seca total, de raiz, ramos e folhas de plantas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a três pulverizações foliares com biorreguladores e avaliadas em três épocas (7, 21 e 35 dias após a primeira aplicação). Feira de Santana-BA, 2012.....45

CAPÍTULO III

Tabela 1: Média de massa da matéria seca, rendimento e teor de óleo essencial de folhas e inflorescências de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a pulverizações foliares com ácido giberélico (GA₃), 6-benzilaminopurina (BAP), ácido acetilsalicílico (AAS), ácido jasmônico (AJ), Stimulate[®] e água destilada (Testemunha), em três épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....60

Tabela 2: Concentração dos seis principais componentes majoritários do óleo essencial de folhas e inflorescências de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a três pulverizações foliares com ácido giberélico (GA₃), 6-benzilaminopurina (BAP), ácido acetilsalicílico (AAS), ácido jasmônico (AJ), Stimulate[®] e água destilada (testemunha), e avaliadas em três épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....66

LISTA DE QUADRO

Quadro 1: Componentes químicos identificados e seus respectivos índices de Kovats calculados (K_C), índices de Kovats da literatura (K_L), amplitudes e médias de suas concentrações dos óleos essenciais das plantas de *Lippia organoides* Kunth produzidas no experimento. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....64

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1: Estruturas moleculares de limoneno (1), β -cariofileno (2), ρ -cimeno (3), cânfora (4), linalol (5), α -pineno (6) e timol (7). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....4

Figura 2: Estruturas moleculares de 1,8-cineol (8), α -terpineol (9), metil timol (10), sabineno (11), γ -terpineno (12), timol, carvacrol (13), nerolidol (14) e α -humuleno (15). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....5

Figura 3: Estruturas da tecomaquinona I (16) e da microphyllaquinona (17). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....6

Figura 4: Biossíntese de terpenos (TAIZ & ZEIGER, 2009). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....8

CAPÍTULO I

Figura 1: A – Plantas de *Lippia origanoides* da coleção de plantas aromáticas da UEFS; B – Estaca de *Lippia origanoides*; C – Estacas imersas em soluções de AIB protegidas por sacos plásticos; D – Casa de vegetação com cobertura plástica e nebulização controlada; E – Estacas cultivadas em Bandejas de poliestireno; F – Muda após 45 dias de cultivo. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....22

Figura 2: Esquema experimental em parcelas subdivididas. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....22

Figura 3: Comprimento da maior raiz de estacas de *Lippia origanoides* Kunth cultivadas em três diferentes substratos (S1 - substrato comercial Biomix®, S2 - vermiculita expandida, S3 - substrato comercial Biomix® + vermiculita expandida 1:1) e tratadas com cinco concentrações de ácido indolbutírico (AIB). (* e **Significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro pelo teste de F, respectivamente; NSNão significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de F): Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....25

CAPÍTULO II

Figura 1: A - Plantas de *Lippia origanoides* Kunth da coleção de plantas aromáticas da Unidade Experimental Horto Florestal - UEFS; B - Estaca de *L. origanoides*. C - Estacas de *L. origanoides* cultivadas em bandejas de poliestireno; D - Mudanças de *L. origanoides*; Plantas transplantadas para sacos de muda; F - Medição das plantas para a “poda de padronização”; G - Grupo de plantas constituinte de uma parcela (biorregulador); H - Isolamento das parcelas para aplicação dos biorreguladores vegetais; I - Aplicação dos biorreguladores vegetais através de pulverizador manual; J - Medição da altura da planta; K - Medição da maior raiz da planta; L – Separação dos órgãos para secagem e pesagem. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....41

Figura 2: A - Taxa de crescimento relativo (TCR) da massa da matéria seca total, B - taxa assimilatória líquida (TAL), C - área foliar específica (AFE) e D - razão do peso foliar (RPF) de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a três pulverizações foliares com ácido salicílico (AAS), ácido giberélico (GA3), ácido jasmônico (AJ),

Stimulate[®], 6-benzilaminopurina (BAP) e água destilada (Testemunha), avaliadas em três épocas (7, 21 e 35 dias após a primeira aplicação). Feira de Santana-BA, 2012.....48

CAPÍTULO III

Figura 1: A - Plantas de *Lippia origanoides* Kunth da coleção de plantas aromáticas da Unidade Experimental Horto Florestal - UEFS; B - Estaca de *L. origanoides*. C - Estacas de *L. origanoides* cultivadas em bandejas de poliestireno; D - Mudas de *L. origanoides*; E – Plantas cultivadas em tubos de PVC em casa de vegetação; F – Pulverização manual dos biorreguladores sobre a parte aérea das plantas; G – Separação de folhas e inflorescências para obtenção do óleo; H – Aparelho de hidrodestilação tipo Clevenger; I – Óleo essencial obtido após 3 horas de destilação; J – Separação líquido/líquido (óleo essencial + diclorometano/hidrolato); K – Câmara com circulação de ar; L – Cromatógrafo a gás. Feira de Santana-BA, 2012.....58

Figura 2: Fórmulas estruturais de biciclogermacreno (18) e acetato de carvacrol (19). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....63

Figura 3: Estruturas moleculares de (E)- β -ocimeno (20) e (Z)- β -ocimeno/(E)- α -ocimeno (21). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.....67

INTRODUÇÃO GERAL

1. Recursos genéticos vegetais do semiárido brasileiro

O semiárido brasileiro trata-se de uma área do território nacional que apresenta solo raso e clima quente e seco, caracterizado pela irregularidade na frequência de chuvas, apresentando variação de 400 a 800 mm anuais e longos períodos de estiagem (BRASIL, 2009). Estende-se por cerca de 955.000 km², equivalendo à metade da área da região Nordeste e 10% do território brasileiro (GIULIETTI et al., 2006).

O “Sertão”, como é popularmente chamado, abrange uma área com cobertura vegetal de caatinga, cerrado, florestas (estacionais e serranas), campos rupestres e brejos (GIULIETTI et al., 2006). Todavia, o semiárido é basicamente representado pela vegetação da caatinga, visto que este bioma encontra-se inteiramente distribuído nesta região e que ocupa quase toda a sua área (RODAL & SAMPAIO, 2002; GIULIETTI et al., 2006; BRASIL, 2007).

Muitas espécies nativas deste clima brasileiro apresentam uso na medicina popular, sendo esta utilização de plantas medicinais, muitas vezes, a única alternativa acessível no tratamento de doenças, tendo em vista que a maioria das comunidades desta região é de baixa renda e não é assistida por programas públicos de atenção medicofarmacêutica (SAMPAIO, 2002). A diversidade de plantas medicinais existentes no semiárido, descrita em levantamentos etnofarmacológicos regionais, revela grande riqueza de espécies utilizadas popularmente para os mais diversos fins (MATOS, 1998; JÚNIOR et al., 2005; AGRA et al., 2007a; AGRA et al., 2007b).

Em levantamento de plantas medicinais nativas do bioma caatinga, realizado no município de Laginhas no Estado do Rio Grande do Norte, Roque et al. (2010) catalogaram 62 espécies pertencentes a 55 gêneros e 33 famílias, com uso popular no tratamento de enfermidades, incluindo doenças das vias respiratórias, como gripes e sinusites, verminose, dor de dente, problemas renais, tumor, inflamação, fratura, gastrite e até mesmo picada de cobra.

As 70 espécies vegetais comercializadas e consumidas para fins etnomedicinais identificadas por Agra et al. (2007a) em feiras livres do Cariri Paraibano representam 59 gêneros distribuídos em 32 famílias. Um total de 64 diferentes indicações de tratamento foi computado para estas plantas, cuja maior parte é composta por espécies nativas.

Um estudo incluindo espécies consumidas como medicinais em toda a região Nordeste do Brasil, revelou a utilização de várias plantas nativas no tratamento de diversos

problemas de saúde que abrangem desde leucemia, tuberculose e doenças venéreas a diarreias e feridas externas (AGRA et al., 2007b).

Esta cultura popular de utilização de plantas para tratamento de doenças, mostrada neste tipo de levantamento, é bastante difundida nos países em desenvolvimento, como o Brasil. Nestes locais, os cuidados básicos com saúde são tomados através de práticas tradicionais por 80% da população, sendo que 85% dessas práticas consistem na utilização de plantas medicinais (BRASIL, 2006). Considerando que a maioria destas espécies é consumida de maneira extrativista no semiárido brasileiro, suas populações naturais encontram-se em declínio, tornando-se cada vez mais escassas, sendo esta uma realidade constatada pela própria população que pratica esse consumo (ROQUE et al., 2010).

Considerando todo potencial medicinal e econômico, bem como a importância de se conservar as populações naturais, é grande a demanda por trabalhos científicos que identifiquem os princípios ativos e confirmem as propriedades terapêuticas das plantas medicinais consumidas no semiárido, em paralelo a pesquisas que esclareçam e estabeleçam as práticas agronômicas adequadas que possibilitem o cultivo destas espécies.

2. O gênero *Lippia* L.

O gênero *Lippia* L., pertencente à família Verbenaceae, é composto por 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores distribuídos principalmente na América do Sul e Central e África tropical (JUDD et al., 2007). Destas espécies, 35 são encontradas no semiárido brasileiro (GIULIETTI et al., 2006). Muitas de suas espécies apresentam extenso uso popular, como plantas medicinais e condimentares, e possuem metabólitos secundários com ampla ação biológica (PASCUAL et al., 2001b).

Segundo Rodrigues & Carvalho (2001) as folhas e flores de *Lippia lupulina* Cham. são usadas como gargarejo para tratar infecção na boca e garganta. Já a decocção ou maceração em álcool de folhas de *Lippia alnifolia* Mart. & Schauer e *Lippia gracilis* Schauer tem uso como antisséptico tópico para dermatites e seborreia e também como antisséptico bucal (AGRA et al., 2007b).

Em levantamento bibliográfico feito por Pascual et al. (2001b) com estudos envolvendo o uso tradicional, composição bioquímica e atividade farmacológica de espécies do gênero *Lippia*, um total de 52 espécies oriundas das porções tropicais da América do Sul e Central e da África foi listado. Os principais usos observados nestes locais referem-se a tratamentos de doenças respiratórias e gastrointestinais e como tempero, sendo as folhas, as flores ou parte aérea total as principais partes das plantas

utilizadas.

Geralmente a forma de uso é decocção ou infusão e a administração via oral. Oito espécies são mais utilizadas nos casos de problemas respiratórios e nove em distúrbios gastrointestinais, incluindo *L. origanoides* e seu sinônimo *Lippia microphylla*. Doenças hepáticas, cutâneas, dores na vesícula, ferimentos, queimação, úlceras, gonorreia, hipertensão arterial, cólica menstrual, dores, inflamação, febre e malária também apresentam tratamento popular à base de plantas deste gênero. Cinco são comumente consumidas como condimento (PASCUAL et al., 2001b).

A decocção ou maceração em álcool das folhas de *Lippia microphylla* Cham. também apresentou uso contra doenças respiratórias e como antisséptico em levantamento realizado por Agra et al. (2007b).

A maioria dos estudos bioquímicos levantados revela que os componentes mais frequentes dos óleos essenciais das espécies do gênero *Lippia* são limoneno (1), β -cariofileno (2), p -cimeno (3), cânfora (4), linalol (5), α -pineno (6) e timol (7), apresentados na figura 1. As principais propriedades farmacológicas dos compostos destas plantas, comprovadas em estudos biológicos, são as ações antimicrobiana, antimalárica, espasmolítica, sedativa, hipotensiva e anti-inflamatória (PASCUAL et al., 2001b). A exemplo do óleo essencial de *Lippia dulcis* Trev., que apresentou atividade antiespasmódica e anticolinérgica, corroborando o uso na medicina popular para o tratamento de broncoespasmos (GÖRNEMANN et al., 2008). Em testes laboratoriais, a infusão de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown apresentou alta eficiência quanto à ação protetora da mucosa gástrica contra ulcerações induzidas por indometacina (PASCUAL et al., 2001a).

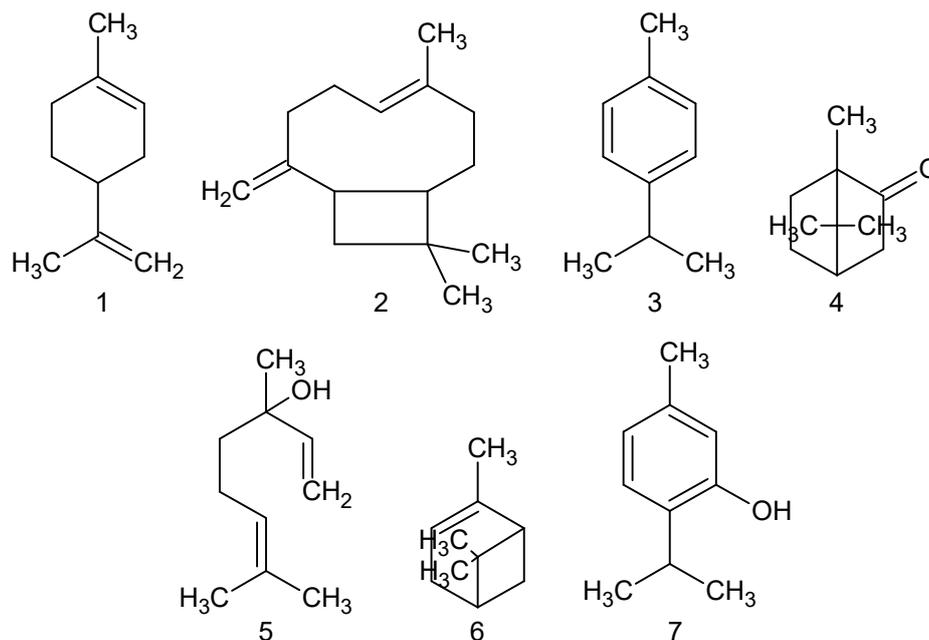


Figura 1: Estruturas moleculares de limoneno (1), β -cariofileno (2), ρ -cimeno (3), cânfora (4), linalol (5), α -pineno (6) e timol (7). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

3. *Lippia organoides* KUNTH

A espécie *Lippia organoides* Kunth (1818) segundo Govaerts & Atkins (2012) tem como sinônimos *Lippia berteroi* Spreng. (1825), *Lippia microphylla* Benth. (1840), *Lippia schomburgkiana* Schauer (1847) e *Lippia organoides* var. *sampaionis* Herter (1916). Este arbusto aromático bastante ramificado, segundo descrição de Salimena-Pires & Giulietti (1998), possui folhas coráceas, discolores, oval-elípticas e suborbiculares, com margem crenada; inflorescências axilares em formato de espigas subglobosas com cálice membranáceo e corola hipocraterimorfa alva a rosácea formando um tubo cilíndrico, apresentando inflorescências nos meses de novembro e dezembro. É frequentemente encontrado em campos e cerrados de solos pedregosos e compactos, em altitudes entre 900 e 1100 metros acima do nível do mar. A ocorrência desta espécie abrange Guiana Francesa, Brasil (desde o estado do Maranhão ao estado do Rio de Janeiro) (SALIMENA-PIRES & GIULIETTI, 1998) Colômbia, Venezuela e Guiana (PASCUAL et al., 2001b), sendo comum no semiárido brasileiro (MATOS, 1998). Trabalhos etnofarmacológicos vêm reportando usos desta planta principalmente no tratamento de doenças das vias respiratórias (MATOS, 1998) e de distúrbios gastrointestinais, como antisséptico em geral, estimulador de apetite e condimento (PASCUAL et al, 2001b).

As folhas desta planta são usadas popularmente na forma de decoto ou macerado em álcool no tratamento de doenças bronquiais e pulmonárias, incluindo asma

(broncodilatador), bronquite, gripe, resfriado e tosse, bem como em infecções microbianas em geral (antibiótico) (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2000; PASCUAL et al, 2001b; AGRA et al., 2007b). O decoto e o infuso são utilizados nas Américas do Sul e Central, na África tropical e em países da Europa no tratamento de distúrbios gastrointestinais, como dores de estômago e indigestão (PASCUAL et al, 2001b). As folhas, ou o óleo essencial extraído a partir delas, são indicadas ainda em inalações e um xarope é preparado a partir da infusão das folhas, ambos apresentando os usos anteriormente citados (MATOS, 1998).

A grande utilização popular desta espécie impulsionou pesquisas a respeito de suas propriedades fitoquímicas, as quais revelaram características promissoras de seus extratos e compostos. O óleo essencial tem apresentado alta variabilidade quanto ao teor, com uma amplitude de 1,0% (OLIVEIRA et al., 2007) a 4,6% (CAVALCANTE et al., 2009) da massa de suas folhas. Esta variação também é observada na determinação dos componentes majoritários, porém os monoterpenos que geralmente se encontram em maiores quantidades são 1,8-cineol (8), α -terpineol (9), metil timol (10), sabineno (11), γ -terpineno (12), timol, carvacrol (13), ρ -pineno e os sesquiterpenos são β -cariofileno, nerolidol (14) e α -humuleno (15) (Figura 2) (PASCUAL et al., 2001b; OLIVEIRA et al., 2007; ESCOBAR et al., 2010).

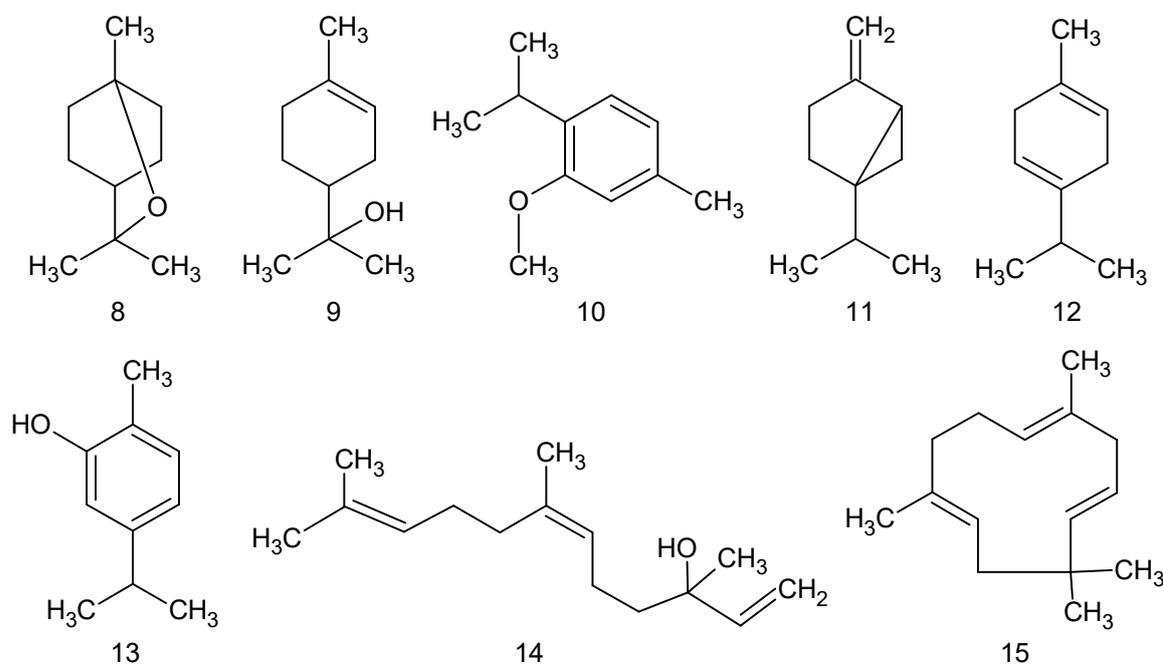


Figura 2: Estruturas moleculares de 1,8-cineol (8), α -terpineol (9), metil timol (10), sabineno (11), γ -terpineno (12), timol, carvacrol (13), nerolidol (14) e α -humuleno (15). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Costa (2005) realizou experimento biológico com o óleo essencial de *L. microphylla*, verificando atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* (13,5 mm de halo de inibição), valor próximo ao obtido com o antibiótico novobiocina (16 mm), e *Candida albicans* (9 mm), tendo melhor resultado que o antibiótico nistatina (8 mm). Estes metabólitos também se mostraram ativos contra cepas de *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus casei* e *Streptococcus mutans* (OLIVEIRA et al., 2007). Além disso, amostras coletadas na Colômbia tiveram ação citotóxica contra células neoplásicas e ainda atividade antiprotozoária (ESCOBAR et al., 2010).

Do extrato etanoico da raiz desta planta foram isoladas a tecomaquinona I (16) e a microphyllaquinona (17), que apresentaram atividade citotóxica frente a quatro linhagens de células cancerígenas humanas (Figura 3). A microphyllaquinona destacou-se por apresentar alta atividade contra duas linhagens celulares resistentes (SANTOS et al., 2003). Este mesmo extrato foi estudado quanto à composição de compostos fenólicos, ação antioxidante e inibição da acetilcolinesterase. Comparada a outras 17 espécies medicinais, *L. microphylla* apresentou o maior teor de compostos fenólicos, correspondendo a 292,13mg g⁻¹ do extrato etanoico. Apresentou também um dos maiores valores de halo de inibição da acetilcolinesterase (0,7cm), função importante no tratamento da doença de Alzheimer, e ação antioxidante com valor de IV50 (índice de varredura) de 2,4 mg mL⁻¹ (MORAIS et al., 2008).

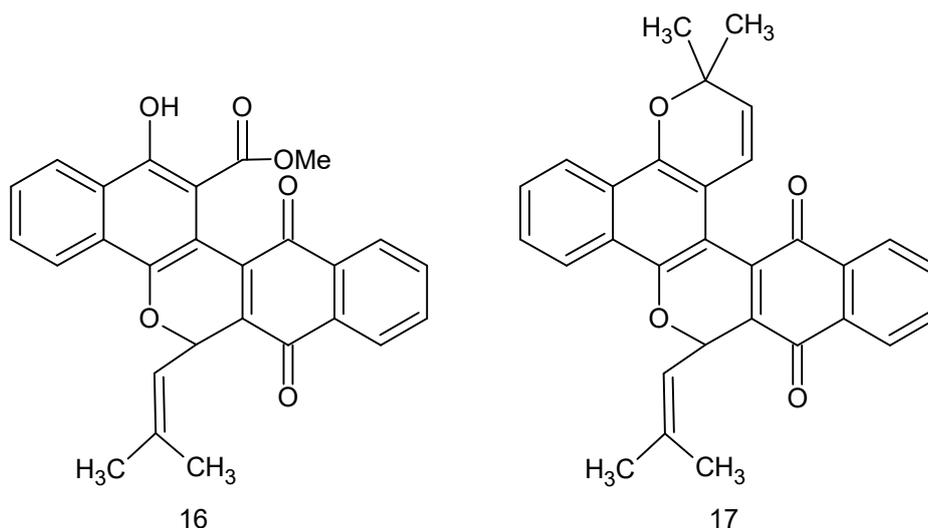


Figura 3: Estruturas da tecomaquinona I (16) e da microphyllaquinona (17). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

O alecrim-de-tabuleiro tem sido indicado pelo Projeto Farmácias Vivas do Ceará

para cultivo em comunidades carentes do Nordeste, por ser uma planta medicinal presente nesta região cujas propriedades biológicas e eficácia terapêutica apresentam comprovação científica. Com isso, esta espécie constitui parte importante na promoção da atenção primária à saúde nestes locais (MATOS, 1998). Apesar de todo potencial demonstrado pela espécie, *L. origanoides* ainda não apresenta estudos no âmbito agrônômico que viabilizem a utilização farmacêutica de seus componentes, tendo em vista que a produção de matéria prima é fundamental para o fornecimento contínuo e em quantidade suficiente para as indústrias de fitoterápicos.

4. Óleos essenciais de plantas

Os óleos essenciais, misturas de compostos secundários voláteis solúveis em solventes apolares e lipídios, são liberados por arraste a vapor ou por exalação. Estes compostos podem ser produzidos em quaisquer órgãos, a depender da espécie da planta, por células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008).

Os compostos constituintes dos óleos essenciais são da classe dos terpenos, em sua maioria mono e sesquiterpenos. A principal via de síntese dos terpenos é a rota do mevalonato, que se inicia a partir da reação entre três moléculas de Acetil-Coa, dando origem a uma molécula de ácido melalônico (Figura 4). Esta molécula sofre reações que produzem dois isômeros de cinco carbonos, o isopentenil difosfato e o dimetilalil difosfato. Estas moléculas reagem entre si dando origem aos diferentes grupos de terpenos, entre eles mono e sesquiterpenos (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Na planta, apresentam funções ecológicas relacionadas à atração de polinizadores, alelopatia e defesa da planta contra herbivoria ou fungos e bactérias patogênicos (TAIZ & ZEIGER, 2009), bem como na proteção contra o déficit hídrico e elevação da temperatura (SIMÕES & SPITZER, 2002).

O uso popular de óleos essenciais obtidos por hidrodestilação não é comumente descrito na literatura, sendo justificado pelos recursos requeridos para a extração destes compostos, tornando sua obtenção inviável nestas localidades. Entretanto, os óleos essenciais de muitas plantas apresentam grande potencial de utilização, com destaque para a área farmacêutica (SAMPAIO, 2002).

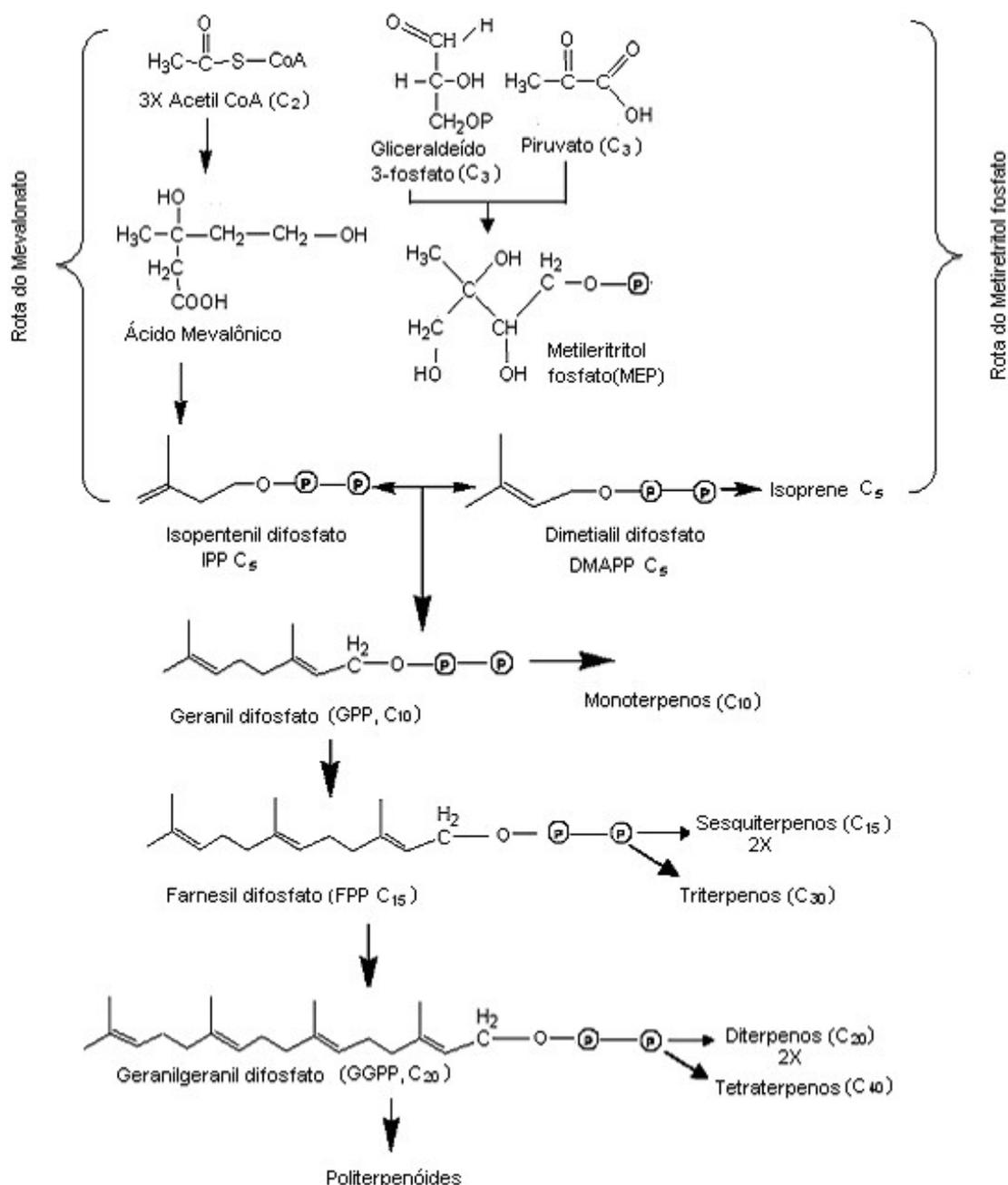


Figura 4: Biossíntese de terpenos (TAIZ & ZEIGER, 2009). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Na indústria são densamente utilizados, principalmente para a produção de perfumes e cosméticos. A indústria alimentícia é a segunda maior consumidora desses óleos, principalmente como aromatizante de bebidas e alimentos (BAKKALI et al, 2008). Entretanto, com o atual aumento da busca por novos medicamentos à base de plantas, as propriedades terapêuticas dos óleos essenciais vêm ganhando destaque. Diversos estudos têm descoberto cada vez mais ações farmacológicas desses compostos, como, por exemplo, atividade antimicrobiana, antiespasmódica, anti-inflamatória, sarnicida, entre

outras (OLADIMEJI et al., 2005; PÉREZ et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006; GÖRNEMANN et al., 2008).

O Brasil destaca-se como um dos maiores exportadores de óleos essenciais do mundo, principalmente de cítricos para a indústria alimentícia. Entretanto, o crescimento das exportações brasileiras é lento em relação a países como Argentina e Índia devido à baixa qualidade do óleo produzido, atribuí à falta de investimento em pesquisa sobre padronização da produção (BIZZO et al., 2009). Apesar de reduzida, a produção de óleo essencial para a fabricação de fármacos tem grande potencial, tendo em vista que diversos compostos constituintes destes metabólitos tiveram ação biológica comprovada, como é o caso dos compostos timol e carvacrol que apresentam elevada atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias patogênicas (HYLDGAARD et al., 2012).

O teor de óleo essencial é variável de espécie para espécie e, na planta, ele pode sofrer alteração por fatores ambientais de caráter físico, químico ou biológico, podendo haver mudança também na sua composição química (SIMÕES & SPITZER, 2002; GOOBO-NETO & LOPES, 2007). Tendo em vista os diversos fatores que afetam a produtividade dos metabólitos secundários, como intensidade luminosa, ataque de patógenos e disponibilidade hídrica (SIMÕES & SPITZER, 2002; GOOBO-NETO & LOPES, 2007), pesquisas estão sendo realizadas com propósito de conhecer como e o quanto esses fatores influem nesse processo, procurando assim, alternativas de potencialização da produção destes compostos em plantas medicinais cultivadas (BLANK et al., 2005; GARLET et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2007; PEGORARO, 2007).

5. Cultivo de plantas medicinais

O mercado de plantas medicinais para produção de medicamentos demanda cada vez mais a descoberta de novas espécies e princípios ativos promissores com possibilidade de serem produzidos em grande escala e com alto rigor relacionado à qualidade da matéria-prima, para suprir os padrões exigidos neste tipo de produto (MONTANARI Jr, 2001).

Grande parte das plantas medicinais nativas do Brasil é consumida de forma extrativista, tendo um pequeno número de cultivos para fins comerciais registrados (MING et al., 2003). Visando a produção de material vegetal de qualidade, é importante a adoção de procedimentos agrícolas específicos para cada espécie (CORRÊA JÚNIOR & SCHEFFER, 2001).

Com isso, faz-se necessário o aprofundamento dos conhecimentos agronômicos das plantas medicinais nativas, abrangendo aspectos como a biologia, a propagação, o cultivo e o manejo, visando à sustentabilidade na sua produção e consumo, possibilitando a conservação de suas populações naturais (FRANÇA, 2000). Além disso, podem ser desenvolvidos sistemas orgânicos de produção, com base no plantio em pequena escala com o favorecimento aos pequenos agricultores, promovendo o desenvolvimento econômico local (MING et al., 2003).

A utilização de genótipos ou quimiotipos superiores com alta produtividade de biomassa e elevado teor de princípios ativos é uma importante alternativa na viabilização do cultivo de plantas medicinais (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005), ainda mais quando associada a um sistema de propagação vegetativa, garantindo a manutenção destas características. Estas práticas associadas ao cultivo em condições específicas é uma alternativa a ser buscada para solucionar problemas na qualidade e variabilidade química inerentes de materiais provindos do extrativismo (MING et al., 2003). Uma destas práticas é a aplicação exógena de biorreguladores de crescimento em plantas medicinais sob cultivo, com o objetivo de promover o aumento da produção de material vegetal e dos princípios ativos de interesse.

6. Biorreguladores vegetais

Os biorreguladores vegetais abrangem ampla gama de compostos aplicados com o objetivo de alterar processos fisiológicos das plantas, podendo ser hormônios ou reguladores de crescimento (YUE et al., 2001; BARREIRO et al., 2006; CAMPOS et al., 2008), metais pesados ou substâncias oriundas de fitopatógenos e herbívoros (LOURENÇO, 2003). Os reguladores de crescimento são substâncias de origem sintética, que quando são aplicadas em plantas geram efeitos semelhantes aos de hormônios vegetais. Por outro lado, os hormônios são substâncias produzidas pelas plantas em pequenas quantidades que agem geralmente em locais diferentes de sua síntese, cuja função envolve inibição, estimulação ou modificação qualitativa do crescimento (FELIPPE, 1979). No mercado existem produtos compostos por mistura de reguladores de crescimento ou destes com outras substâncias denominadas biorreguladores, sendo o Stimulate[®] um dos mais utilizados em estudos sobre fisiologia de plantas.

Dentre as principais classes de hormônios estão às auxinas, as giberelinas e as citocininas. As auxinas promovem o crescimento através da indução do alongamento celular pelo afrouxamento da parede celular por ação enzimática. Os principais efeitos

destas substâncias são indução do crescimento dos caules e coleótilos e promoção do crescimento das raízes. As giberelinas promovem o crescimento caulinar através do alongamento celular e da estimulação à divisão celular por interferência nas etapas entre a transcrição do DNA e a divisão celular. Já as citocininas estão envolvidas com vários processos, incluindo divisão celular, morfogênese da parte aérea e das raízes, maturação dos cloroplastos, alongamento celular e senescência (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Entre as auxinas mais utilizadas em investigações de análises de crescimento em plantas temos o ácido indolbutírico (AIB) e ácido indolacético (AIA) e o regulador de crescimento ácido naftalenoacético (ANA). Entre as giberelinas, o ácido giberélico (GA₃), extraído do fungo *Giberella fujikoroi*, é largamente testado em plantas cultivadas. O hormônio natural zeatina e as substâncias sintéticas 6-benzilaminopurina (BAP) e cinetina são as representantes mais estudadas da classe das citocininas.

A aplicação de hormônios e reguladores de crescimento pode ser uma alternativa viável para o aumento da produtividade de culturas, tendo em vista que estes podem alterar o metabolismo em alguma das fases do desenvolvimento da planta, podendo promover maior acumulação da biomassa e biossíntese de compostos de interesse. Como exemplo, pode-se citar o estudo realizado com a espécie medicinal *Ocimum basilicum*, no qual a aplicação de cinetina promoveu o aumento da área foliar e da massa seca, apresentando, por consequência, alta taxa de desenvolvimento (BARREIRO et al., 2006).

Em outro trabalho, a pulverização das folhas de soja com AIB isolado e em associação com GA₃ e cinetina promoveu o aumento da taxa assimilatória líquida (TAL), assim como maior produção de matéria seca total. O Stimulate[®] causou o aumento também do teor de clorofila no 112º dia após a semeadura (CAMPOS et al., 2008).

Já o ácido jasmônico é um hormônio vegetal envolvido na sinalização da resposta a condições de estresse biológico, através da ativação da transcrição de muitos genes associados ao metabolismo de defesa da planta. Este fitormônio também apresenta efeito sobre o crescimento de plantas, promovendo o aumento da biomassa da planta, principalmente sobre os órgãos reprodutivos (LINARES et al., 2010). Outro hormônio relacionado com a defesa vegetal é o ácido salicílico, que está envolvido na sinalização do estabelecimento da resistência sistêmica adquirida (RSA) após o dano tecidual causado por agentes biológicos (TAIZ & ZEIGER, 2009), sendo seu derivado, o ácido acetilsalicílico, um composto sintético com mesma ação do fitormônio.

Estas substâncias quando aplicadas em plantas, podem promover o aumento da síntese/acúmulo ou a produção *de novo* dos metabólitos secundários envolvidos no

mecanismo de defesa (GOOBO-NETO & LOPES, 2007), como, por exemplo, terpenoides, flavonoides, alcaloides e fenilpropanoides (ZHAO et al., 2005). Esta pode ser uma técnica adequada quando se trata de plantas em cultura que apresentem óleo essencial com potencial farmacêutico, visto que uma das funções ecológicas destes metabólitos é promover proteção contra ataque de micro-organismos patogênicos e de herbívoros para a planta (TAIZ & ZEIGER, 2009; RAVEN et al., 2007).

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar a influência de diferentes substratos e concentrações de auxina na estaquia e de biorreguladores vegetais sobre crescimento, produção e composição química do óleo essencial de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007b.
- AGRA, M.F. et al. Sinopse da flora medicinal do Cariri Paraibano. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 323-330, 2007a.
- ALBUQUERQUE, C.C. et al. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BARREIRO, A.P. et al. Análise de crescimento de plantas de manjeriço tratadas com reguladores vegetais. **Bragantia**, v. 65, n. 4, p. 563-567, 2006.
- 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.
- BLANK, A.F. et al. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes, **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 73-78, 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **O semi-árido**. Instituto Nacional do Semi-Árido. Disponível em: <<http://www.insa.gov.br/index>>. Acesso em: 12/11/2009.
- BRASIL. MINISTERIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 59p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DE MEIO AMBIENTE. SECRETARIA NACIONAL DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS. **Áreas prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira: atualização** - Portaria MMA nº 09, de 23 de janeiro de 2007. Brasília: Ministério do Meio Ambiente,

2007. 300p.

CAMPOS, M.F. et al. Análise de crescimento em plantas de soja tratadas com substâncias reguladoras. **Biotemas**, v. 21, n. 3, p. 53-63, 2008.

CAVALCANTE, I.M.S.M. et al. Potencial Mutagênico (Teste de micronúcleos) e composição química dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia origanoides*. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza-CE, **Anais...Fortaleza: Adaltech Soluções para eventos**, 2009. Disponível em: <sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0627-2.pdf>. Acesso em: 09/05/2010.

CORRÊA JÚNIOR, C. & SCHEFFER, M.C. Fundamentos do cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. **Horticultura Brasileira**, v. 19, Suplemento, Palestras, p. 198, 2001.

COSTA, S.M.O. et al. Constituents of the Essential Oil of *Lippia microphylla* Cham. from Northeast Brazil. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 17, p. 378-379, 2005.

ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp. essential oils and their major components. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 184-190, 2010.

FELIPPE, G.M. **Desenvolvimento**. In: FERRI, M.G. Fisiologia Vegetal, v.2, 2 ed., São Paulo: E.P.U., 1979. 401p.

FRANÇA, S.C. **Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4.ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade / UFRGS / UFSC., 2002. 833p.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Brazilian Biodiversity: a source of phytomedicine, natural drugs and leads for the pharmaceutical and agrochemical industries**. In: WRIGLEY, S.K. et al. Biodiversity: new leads for the pharmaceutical and agrochemical industries. Publicação especial. n. 257, Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2000. 313p.

GARLET, T.M.B. et al. Produção de folhas, teor e qualidade do óleo essencial de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L. forma *piperascens* Holmes) cultivada em hidroponia, **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 4, p. 72-79, 2007.

GIULIETTI, A.M.; CONCEICAO, A.; QUEIROZ, L.P. **Diversidade e caracterização das fanerógamas do Semi-árido brasileiro**. Recife: Associação das Plantas do Nordeste, 2006. 488p.

GOOBO-NETO, L. & LOPES, N.P. Plantas Medicinais: fatores de influenciaram no conteúdo de metabólitos secundários. Revisão. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GÖRNEMANN, T. et al. Antispasmodic activity of essential oil from *Lippia dulcis* Trev.. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, p. 166-169, 2008.

GOVAERTS, R. & ATKINS, S. **World Checklist of Verbenaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp/synonymy.do?name_id=113656>. Acesso em: 07/03/2012.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 1-24, 2012.

JUDD, W.S. et al. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, 2007. 565p.

JÚNIOR, J.T. A.O.; QUEIROZ, S.R.O.D.; RIOS, A.P. Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais do município de Itaberaba-BA para cultivo e preservação. **Sitientibus: Série Ciências Biológicas**, v. 5, n. 1, p. 39-44, 2005.

LINARES, A.M.P. et al. Atividade fitorreguladora de jasmonatos produzidos por *Botryosphaeria rhodina*. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 430-434, 2010.

LOURENÇO, M.V. Biotecnologia de plantas medicinais: produção de biomoléculas. **Palestra. Biológico**, v. 65, n. 1/2, p. 63-65, 2003.

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.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3. ed. Fortaleza: EUFC, 1998. 219 p.

MING, L.C. et al. **Manejo e cultivo de plantas medicinais: algumas reflexões sobre perspectivas e necessidades no Brasil**. In: COELHO, M.F.B.; COSTA JUNIOR, P.; DOMBROSKI, J.L.D. Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais: anais do I Seminário Mato-grossense de Etnobiologia e Etnoecologia e II Seminário Centro-Oeste de Plantas Medicinais. Cuiabá: Unicen, 2003. p.149-156.

MONTANARI Jr., I. Comercialização de plantas medicinais e tendências do mercado. **Horticultura Brasileira**, v. 19, Suplemento, Palestras, p. 198, 2001.

MORAIS, S.M. et al. Atividade sequestradora de radical livre, teor de compostos fenólicos e Inibição da acetilcolinesterase de extratos de plantas medicinais das Farmácias Vivas. In: 48º Congresso Brasileiro de Química, Rio de Janeiro – RJ,2008. **Anais...** Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/7/7-445-4813.htm>>. Acesso em: 09/11/2009.

NOGUEIRA, M.A.; DIAZ, G.; SAKUMO, L.; Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná, **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 273 - 278, 2007.

OLADIMEJI, F.A. et al. A comparative study of the scabicial activities of formulations of essential oil of *Lippia multiflora* Moldenke and benzyl benzoate emulsion BP. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 15, p. 87-93, 2005.

OLIVEIRA, D.R. et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chemistry**, v. 101, p. 236–240, 2007.

PASCUAL, M.E. et al. Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **IL Farmaco**, v. 56, p. 501–504, 2001a.

PASCUAL, M.E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201–214, 2001b.

PEGORARO, R. L. **Avaliação do crescimento e produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição**. 2007. 1v. 51f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - UFSM, Florianópolis, Santa Catarina.

- PÉREZ, S. et al. Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 1-4, 2005.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara / Koogan, 2007. 906 p.
- RODAL, M.J. & SAMPAIO, E.V.S.B. **A vegetação do bioma caatinga**. In: SAMPAIO, E.V.S.B. et al. Vegetação & flora da caatinga. Recife: Associação Plantas do Nordeste / Centro Nordestino de Informação sobre Plantas, 2002. 176p.
- RODRIGUES, V.E.G. & CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.
- ROQUE, A.A.; ROCHA, R.M.; LOIOLA, M.I.B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.
- SALIMENA-PIRES, F.R. & GIULIETTI, A.M. Flora da serra do cipó, Minas Gerais: Verbenaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 17, p. 155-186, 1998.
- SAMPAIO, E.V.S.B. **Uso de plantas da caatinga**. In: SAMPAIO, E.V.S.B. et al. Vegetação & flora da caatinga. Recife: Associação Plantas do Nordeste / Centro Nordestino de Informação sobre Plantas, 2002. 176p.
- SANTOS, H.S. et al. Cytotoxic Naphthoquinones from Roots of *Lippia microphylla* Cham. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, p. 5117-5120, 2003.
- SIMÕES, C.M.O. & SPITZER, V. **Óleos essenciais**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4.ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade / UFRGS / UFSC., 2002. 833p.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p
- YUE, Q. et al. Volatile compounds of endophyte-free and infected tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). **Phytochemistry**, v. 58, p. 935–941, 2001.
- ZHAO, J.; DAVIS, L.C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 283–333, 2005.

CAPÍTULO I

ÁCIDO INDOLBUTÍRICO E DIFERENTES SUBSTRATOS NA ESTAQUIA DE *Lippia origanoides* KUNTH (VERBENACEAE)

ÁCIDO INDOLBUTÍRICO E DIFERENTES SUBSTRATOS NA ESTAQUIA DE *Lippia origanoides* KUNTH (VERBENACEAE)

SILVA, G.C.^{1*}; OLIVEIRA, L.M.¹; LUCHESE, A.M.²; SILVA, T. R. S.¹

¹Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana-Bahia, Brasil. *gabicarinhanha@gmail.com ²Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana-Bahia, Brasil.

RESUMO: *Lippia origanoides* Kunth é um arbusto aromático nativo do semiárido brasileiro utilizado no tratamento de doenças, como condimento e estimulador de apetite. Apresenta óleo essencial em suas folhas com ação antimicrobiana, além de compostos em suas raízes com atividade citotóxica contra células cancerígenas. Apesar do grande potencial econômico, esta espécie ainda não é cultivada, o que pode acarretar uma redução de suas populações naturais. Este trabalho estudou a influência de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (0, 62,5, 125, 250 e 500 mg L⁻¹) e de três substratos (S1 - substrato comercial Biomix[®]; S2 - vermiculita expandida; S3 - substrato comercial Biomix[®] + vermiculita expandida na proporção de 1:1) na produção de mudas da espécie *L. origanoides* por propagação via estaquia. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, tendo substratos como parcelas e concentrações de ácido indolbutírico (AIB) como subparcelas. Avaliou-se porcentagem de enraizamento e sobrevivência das estacas, comprimento do caule e da maior raiz, número de folhas por muda, massa da matéria seca das folhas, do caule, da raiz e total. Verificou-se que a espécie *L. origanoides* apresenta facilidade de enraizamento e que a imersão das estacas em 278 mg de AIB por L⁻¹ de solução por 24 horas, seguida de cultivo em substrato composto por Biomix[®] e vermiculita expandida (1:1) é eficaz na produção de mudas da espécie, possibilitando o melhor desenvolvimento radicular e da parte aérea.

Palavras-chave: Plantas medicinais, alecrim-de-tabuleiro, propagação vegetativa, óleo essencial.

ABSTRACT: *Lippia origanoides* Kunth is a Brazilian semiarid native aromatic bush used to treat diseases, flavoring and stimulating appetite. It has essential oil in its leaves with antimicrobial activity, and compounds in its roots with cytotoxic activity against cancer cells. Despite the great economic potential, this species is not cultivated, which may result in a reduction of its natural populations. This work studied the influence of different concentrations of the growth regulator indolebutyric acid (IBA) (0, 62.5, 125, 250 and 500 mg L⁻¹) and three substrates (S1 - Biomix[®] commercial substrate, S2 - expanded vermiculite; S3 - Biomix[®] commercial substrate and expanded vermiculite 1:1) in the production of *L. origanoides* seedlings by cuttings propagation. The experimental design was completely randomized in split plot, with substrates as plots and indolebutyric acid concentrations as subplots. We evaluated cuttings rooting and survival, stem and the longest root length, leaves number, leaves, stem, root and total dry mass. It was found that *L. origanoides* species has easy cuttings rooting and the cutting immersion in solution with 278 mg L⁻¹ indolebutyric acid for 24 hours, followed by cultivation on substrate composed by Biomix[®] and expanded vermiculite (1:1) is effective in producing saplings of this species, allowing better area and root development.

Key-words: Medicinal plants, alecrim-de-tabuleiro, cutting, essential oil.

INTRODUÇÃO

Lippia origanoides Kunth (1818) consta na literatura como sinônimo de *Lippia berteroi* Spreng. (1825), *Lippia microphylla* Benth. (1840), *Lippia schomburgkiana* Schauer (1847) e *Lippia origanoides* var. *sampaionis* Herter (1916) (GOVAERTS & ATKINS, 2012). Este arbusto aromático nativo do semiárido brasileiro tem uso no tratamento de doenças, como condimento e estimulador do apetite (PASCUAL et al., 2001). Na medicina popular esta espécie é utilizada na forma de decoto ou macerado em álcool no tratamento de problemas gastrointestinais, infecções microbianas em geral e de doenças das vias respiratórias, incluindo asma, bronquites, gripes, resfriados e tosse (PASCUAL et al., 2001; AGRA et al., 2007).

O uso medicinal dessa espécie tem sido atribuído ao seu óleo essencial, encontrado em folhas e inflorescências, que apresenta elevada ação antimicrobiana contra fungos e bactérias patogênicos (OLIVEIRA et al., 2007). O óleo essencial corresponde de 1,0% (OLIVEIRA et al., 2007) a 4,6% (CAVALCANTE et al., 2009) da massa da matéria seca

da parte aérea deste arbusto, tendo como compostos majoritários carvacrol, timol, α -terpineno, γ -terpineno e linalool (OLIVEIRA et al., 2007; ESCOBAR et al., 2010).

Além da atividade antifúngica e bactericida, amostras de óleo essencial de *L. origanoides* mostraram-se ativas contra epimastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi* e promastigotas de *Leishmania chagasi* (ESCOBAR et al., 2010). Os compostos tecomaquinona I e microphyllaquinona, isolados de extratos alcoólicos da raiz desta planta, apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de células cancerígenas humanas (SANTOS et al., 2003). Este extrato apresentou alto teor de compostos fenólicos, correspondendo a 292,13mg g⁻¹, além de um alto valor de halo de inibição da acetilcolinesterase (0,7cm) e ação antioxidante, com IV50 (índice de varredura) de 2,4 mg mL⁻¹ (MORAIS et al., 2008).

Apesar do grande potencial farmacológico e econômico de *L. origanoides*, seu consumo tem sido realizado de forma extrativista e artesanal, como ocorre com a maioria das espécies medicinais nativas do Brasil. Assim, pesquisas devem ser intensificadas buscando gerar informações sobre a fisiologia destas espécies (MING et al., 2003), o que possibilitará a utilização da espécie pela indústria farmacêutica.

A propagação de plantas medicinais via sementes tem se mostrado inadequada, tendo em vista a variabilidade genética produzida pela reprodução sexuada (FRANÇA, 2002), o tempo necessário para se alcançar a fase adulta e problemas relacionados à viabilidade e dormência das sementes (WENDLING, 2004). Para *Lippia diamantinensis* Glaz. e *Lippia filifolia* Mart. & Schauer, por exemplo, a dormência nas sementes tem sido relatada como fator limitante de sua propagação (PIMENTA et al., 2007). Já as espécies *Lippia rosella* Moldenke, *Lippia florida* Cham., *Lippia hermannioides* Cham. e *Lippia sidoides* Cham. apresentaram perda de viabilidade logo após serem submetidas ao armazenamento (PIMENTA et al., 2007).

Assim, a reprodução vegetativa por estaquia tem sido considerada uma alternativa promissora para produção de mudas de plantas medicinais homogêneas, com qualidade genética, baixo custo e num reduzido espaço de tempo (WENDLING, 2004). Entretanto, para espécies nativas não domesticadas a baixa taxa de enraizamento e o elevado índice de mortalidade das estacas têm sido considerados fatores limitantes para a propagação por estaquia, fato atribuído principalmente à escassez de informações acerca das condições e métodos ideais de propagação destas espécies (PIMENTA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008). Para a propagação vegetativa de uma espécie vários fatores que influenciam diretamente a produção de mudas por estaquia devem ser enfocados, como, por exemplo, a

época do ano e hora de coleta das estacas, posição no ramo de origem, tamanho da estaca, substrato utilizado, condição fisiológica da planta matriz e aplicação de reguladores de crescimento (WENDLING, 2004).

Dentre os fatores citados, a utilização de biorreguladores em estacas de difícil enraizamento, para muitas espécies, revela-se um procedimento eficiente para o sucesso da estaquia. As auxinas correspondem à classe de hormônios vegetais responsáveis por promover a formação das raízes adventícias em tecidos maduros (TAIZ & ZEIGER, 2009), utilizadas rotineiramente para esse fim. Na maioria dos trabalhos científicos, a auxina predominantemente testada na propagação vegetativa através de estaca é o hormônio sintético denominado ácido indolbutírico (AIB). Entretanto, a concentração, a forma de aplicação e o tempo de imersão adequado para este regulador variam entre espécies e genótipos.

Para a espécie medicinal nativa *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta), a imersão de estacas apicais durante 20 horas em solução de 250 mg de AIB . L⁻¹ de solução promoveu o aumento do número de raízes por estaca de menos de 0,6 para 2,2 raízes, e da porcentagem de estacas enraizadas de 8% para 28%. Todavia, com o aumento da concentração, o AIB mostrou efeito inibitório progressivo sobre o crescimento das raízes (OLIVEIRA et al., 2008). Por outro lado, estacas medianas da espécie nativa *Thrichilia catigua* A Juss. (catigua), também utilizada na medicina popular, apresentaram a maior média de porcentagem de enraizamento quando imersas por dez segundos na maior concentração de AIB testada, correspondente a 5000 mg L⁻¹ (VALMORBIDA et al., 2008).

Outra questão importante na produção de mudas é a identificação do substrato com as características físicas e químicas mais apropriadas para a espécie a ser propagada. Em geral, o substrato ideal para a estaquia deve servir de suporte mecânico para a fixação da estaca, conter os nutrientes necessários ao desenvolvimento vegetativo inicial, pH adequado, capacidade de troca catiônica elevada, apresentar alto grau de porosidade para permitir a drenagem da água e a respiração celular, baixa densidade para facilitar o crescimento radicular, baixo teor salino e boa capacidade de retenção de água (SCHMITZ et al., 2002; GUERRINI & TRIGUEIRO, 2004; LACERDA et al., 2006). A vermiculita expandida, largamente utilizada em estudos de propagação vegetativa, é um substrato inorgânico que apresenta como principais características a baixa densidade, alta porosidade e alta capacidade de retenção de água, fatores determinantes do enraizamento de estacas. Além deste, substratos comerciais com maior carga nutricional têm sido testados, os quais são, na maioria das vezes, produzidos à base de vermiculita expandida e componentes

orgânicos compostados e/ou carbonizados, como casca de pinus e de arroz, sendo os mais utilizados o Plantmax[®] e o Biomix[®].

Assim, considerando a ausência de estudos que estabeleçam as condições adequadas para a propagação vegetativa da espécie, o presente trabalho objetivou estudar a influência de concentrações de ácido indolbutírico e substratos na produção de mudas via estaquia de *L. origanoides*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante os meses de maio e junho de 2010 na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana-Bahia, Brasil, localizada a 257 metros de altitude, na latitude de 12°16'00" Sul e longitude de 38°58'00" Oeste, com médias anuais de 848 mm de precipitação e 24°C de temperatura.

Estacas apicais (Figura 1B) com cerca de 10 cm de comprimento e dois centímetros de sua base desfolhados foram obtidas a partir de plantas matrizes mantidas na coleção de plantas aromáticas da UEFS (Figura 1A), cuja exsicata foi identificada pela taxonomista Tânia Regina dos Santos Silva da UEFS e encontra-se depositada no herbário desta mesma instituição (HUEFS) (Voucher 83.373). As estacas tiveram dois centímetros de suas bases imersas em solução de ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de 0, 62,5, 125, 250 e 500 mg L⁻¹ por 24 horas. Para se evitar a perda excessiva de água por evapotranspiração, cada recipiente foi embalado em saco plástico fechado (Figura 1C). O AIB foi totalmente diluído em cerca de 20 mL de solução de NaOH a 0,2M, completando-se o volume com água destilada.

Decorridas 24 horas, as estacas tratadas foram plantadas em placas de poliestireno expandido contendo 200 poços, preenchidos com os diferentes substratos: S1 - substrato Biomix[®]; S2 - vermiculita expandida; S3 - substrato Biomix[®] e vermiculita expandida na proporção de 1:1 (Figura 1E). Biomix[®] é um substrato comercial utilizado para a produção de mudas de hortaliças, constituído por casca de pinus compostada, vermiculita expandida e composto orgânico, apresentando pH 6,2, capacidade de retenção de água de 50% e densidade na base seca de 350 kg m⁻³. A vermiculita expandida utilizada apresentou granulometria fina composta por 34 a 43% de óxido de silício (SiO₂), 7 a 15% de óxido de alumínio (Al₂O₃), 5 a 13% de óxido férrico (Fe₂O₃), 20 a 28% de óxido de magnésio (MgO), 0,01 a 0,1% de óxido de potássio (K₂O), 0,2 a 1% de óxido de cálcio (CaO), 0,1 a

0,3% de óxido de sódio (Na_2O) e 6 a 12% de água; apresenta pH entre 6 e 8; capacidade de retenção de água de até 600% do peso; densidade de 60 a 160 kg m^{-3} .

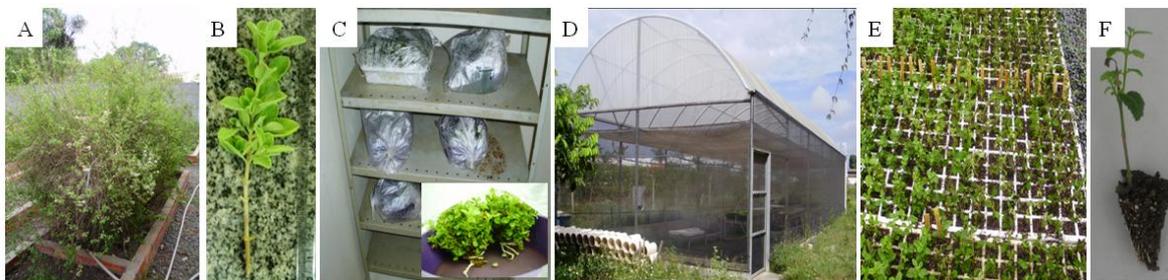


Figura 1: A – Plantas de *Lippia organoides* da coleção de plantas aromáticas da UEFS; B – Estaca de *Lippia organoides*; C – Estacas imersas em soluções de AIB protegidas por sacos plásticos; D – Casa de vegetação com cobertura plástica e nebulização controlada; E – Estacas cultivadas em Bandejas de poliestireno; F – Muda após 45 dias de cultivo. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Após o plantio, as estacas foram mantidas em casa de vegetação com cobertura plástica transparente, 75% de luminosidade e nebulização intermitente, com intervalos de 30 minutos entre nebulizações de 1 minuto, controlado por um temporizador digital (Figura 1D). Foram plantadas 10 estacas por repetição, das quais duas foram sorteadas para análise destrutiva e compor as parcelas, sendo as demais transplantadas para sacos plásticos e transferidas para outra casa de vegetação sem cobertura plástica.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas no espaço, no qual o fator de variação substrato constituiu a parcela e a concentração de AIB as subparcelas (Figura 2). Cada subparcela apresentou três repetições contendo duas estacas cada, totalizando 90 estacas.

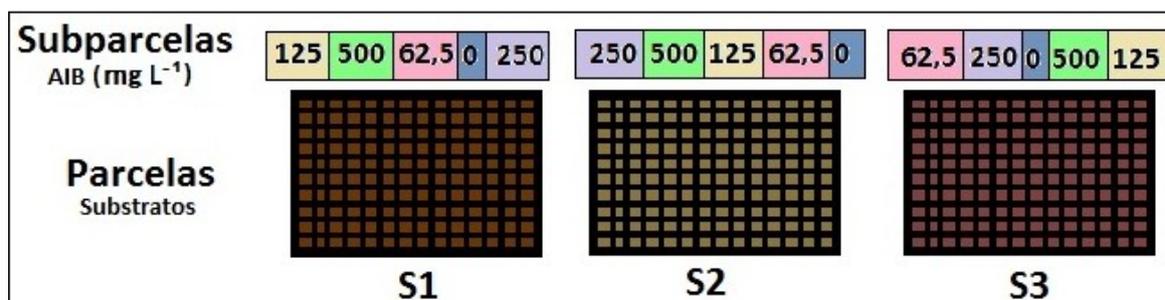


Figura 2: Esquema experimental em parcelas subdivididas. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Após 45 dias de cultivo (Figura 1F), foram avaliadas as porcentagens de enraizamento e de sobrevivência das estacas, comprimento da brotação (compreendendo da base da estaca até o ramo mais alto) e da maior raiz, número de folhas por muda, massa da matéria seca de raiz, caule, folhas e total. Para a obtenção da massa da matéria seca, cada órgão foi separado em sacos de papel, que foram identificados e levados à estufa com circulação forçada de ar a 60° C até adquirir peso constante obtido em balança analítica.

Os resultados obtidos foram submetidos inicialmente à análise de variância pelo teste de F e, posteriormente, ao teste de Tukey para a fonte de variação substrato e à análise de Regressão para a fonte de variação concentração de AIB, ambos a 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas através do programa Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se interação significativa entre o tipo de substrato e as concentrações de AIB para o comprimento da maior raiz ($p < 0,05$) e para as demais variáveis ($p < 0,01$) (Anexo A), com exceção da porcentagem de enraizamento, a qual não mostrou significância tanto para a interação quanto para os fatores de variação analisados de forma isolada.

Todas as estacas de *L. origanoides* analisadas enraizaram independentemente da concentração de AIB e do tipo de substrato utilizado, demonstrando alta capacidade de enraizamento das estacas apicais desta espécie, possivelmente em consequência da produção endógena da auxina ácido indolacético em concentração suficiente em seu meristema apical. Assim, a imersão destas estacas somente em água destilada seguida pelo cultivo é suficiente para a promoção de raízes, sem a necessidade do uso de biorreguladores vegetais. Outros trabalhos com espécies deste gênero também têm mostrado a possibilidade de fácil emissão de raízes em estaca. Em *L. sidoides* não foi observada influência de imersão lenta de diferentes concentrações de AIB sobre o enraizamento de suas estacas (FIGUEIREDO et al., 2009). De modo semelhante, *Lippia alba* (Mil) N. E. Brown enraizou com a utilização de diferentes tipos de substratos e independente da utilização de auxinas (BIASI & COSTA, 2003). *Lippia gracilis* Schauer apresentou 100% das estacas enraizadas quando cultivada em bandeja de poliestireno expandido com 128 células, independentemente do substrato testado (OLIVEIRA et al., 2011a). Por outro lado, Pimenta et al. (2007) demonstraram que para as espécies não-

domesticadas *Lippia glandulosa* Schauer, *Lippia rotundifolia* Cham., *L. filifolia*, *L. rosella* e *L. sidoides* a propagação por estaquia mostra-se pouco eficaz, devido à reduzida ou ausente emissão de raízes, mesmo com a utilização de biorreguladores como o AIB.

Apesar de a interação entre o tipo de substrato e as concentrações de AIB ter sido significativa para outras variáveis, apenas para o comprimento da maior raiz obteve-se equações matemáticas com R^2 significativo para as concentrações de AIB (Figura 3). Os resultados desta variável em estacas cultivadas no substrato S1 (Biomix[®]) apresentaram curva de regressão com comportamento linear ascendente em relação ao aumento da concentração de AIB, portanto, obtendo-se média 65,3% maior com o uso de 500 mg da auxina L^{-1} de solução (4,7 cm) em relação ao tratamento sem o biorregulador. Por outro lado, as estacas cultivadas em S3 (Biomix[®] + vermiculita) mostraram valores de comprimento de maior raiz com comportamento quadrático em relação à concentração do regulador, atingindo o maior valor estimado de 5,4 cm quando tratada com 278 de AIB $mg L^{-1}$ de solução, correspondendo a aumento de 59,9% quando comparado a ausência do biorregulador vegetal. Os resultados obtidos com estacas cultivadas em S2 (vermiculita expandida) não possibilitaram o ajuste a uma equação biologicamente explicável. O cultivo em S3 apresentou resultado 14,9% e 40,2% melhor do que o uso de S1 e S2, respectivamente.

Oliveira et al. (2011b) observaram que estacas imersas por cinco minutos nas maiores concentrações de AIB testadas (2000 $mg L^{-1}$ e 4000 $mg L^{-1}$) e cultivadas em substrato composto por areia e vermiculita (1:1) foram mais eficientes na propagação das espécies medicinais nativas *Hyptis leucocephala* Mart. ex. Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart. ex. Benth.. Da mesma forma, o aumento da concentração de AIB promoveu incremento na porcentagem de enraizamento, no comprimento da raiz e no número de raízes por estaca de oliveira (*Olea europaea* L.) quando preparadas em determinados períodos do ano (OLIVEIRA et al., 2009).

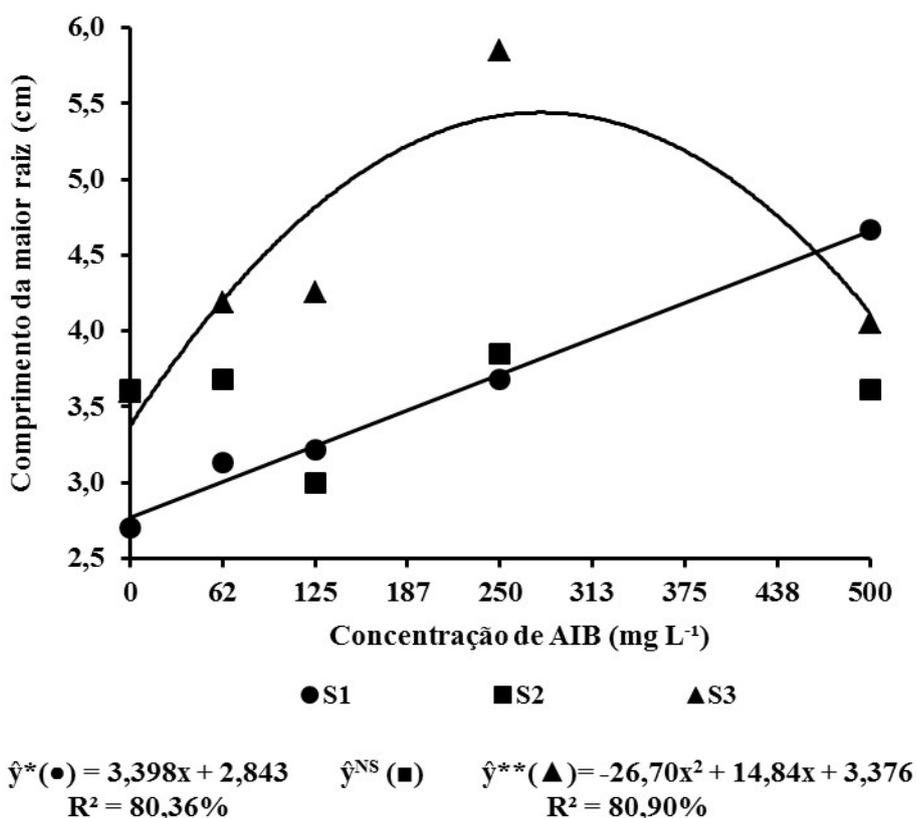


Figura 3: Comprimento da maior raiz de estacas de *Lippia origanoides* Kunth cultivadas em três diferentes substratos (S1 - substrato comercial Biomix[®], S2 - vermiculita expandida, S3 - substrato comercial Biomix[®] + vermiculita expandida 1:1) e tratadas com cinco concentrações de ácido indolbutírico (AIB). (* e **Significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro pelo teste de F, respectivamente; ^{NS}Não significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de F): Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Em relação à taxa de sobrevivência, verificou-se que na ausência de AIB, o substrato S3 (Biomix[®] + vermiculita expandida) proporcionou o melhor resultado comparado aos demais substratos, os quais não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1). Por outro lado, nas estacas tratadas com AIB verificou-se maior taxa de sobrevivência com a utilização do substrato S1 (Biomix[®]), contudo, os resultados obtidos não diferiram estatisticamente dos observados com a utilização de S2 (vermiculita expandida) e de S3 (Biomix[®] + vermiculita) quando se utilizou as concentrações de 125 e 500 mg de AIB . L⁻¹ de solução, respectivamente.

Apesar de não ser observado efeito do AIB sobre o enraizamento das estacas, verifica-se que houve um sinergismo entre essa auxina e o substrato utilizado em relação à taxa de sobrevivência, obtendo-se as maiores taxas em estacas tratadas com AIB e

cultivadas em S1 (Biomix[®]). Os resultados sugerem que o substrato S1 (Biomix[®]) possibilitou a manutenção de níveis mais adequados de nutrientes para as estacas até o final do experimento, tendo em vista seu conteúdo de matéria orgânica, possibilitando a expressão do efeito estimulante do fitoregulador. Para Fochesato et al. (2008), a variabilidade na disponibilidade de nutrientes minerais fundamentais à planta no substrato pode ser atribuída ao consumo pela planta, ao processo de lixiviação e à adsorção ao substrato, o que está relacionado às características químicas e físicas do substrato. Apesar da perda, substratos com maior carga nutricional mantêm por mais tempo seus nutrientes.

Estacas cultivadas em S3 (Biomix[®] + vermiculita expandida) apresentaram os maiores números de folhas por muda, com o uso de todas as concentrações de AIB, com exceção de 250 mg L⁻¹ (Tabela 1). Com esta concentração, o substrato S2 (vermiculita expandida) apresentou maior média comparada às demais. Este substrato também promoveu maior número de folhas por muda em relação ao S1 (Biomix[®]) nas mudas obtidas a partir de estacas não tratadas com AIB e tratadas com 62,5 e 500 mg de AIB . L⁻¹ de solução. Possivelmente, as baixas médias obtidas com o uso de S1 (Biomix[®]) devem-se ao fato de este substrato apresentar menor capacidade de retenção de água, tendo como resultado a menor produção de folhas, reduzindo a perda de água por transpiração. O número de folhas é um parâmetro de grande importância, pois demonstra o desenvolvimento do aparato fotossintético da planta. Na produção de mudas, um aparato fotossintético bem desenvolvido associado a uma boa formação radicular promove maior produção de fotoassimilados e, conseqüentemente, maior taxa de crescimento da planta sob cultivo em campo.

Apenas nas concentrações 62,5 e 500 mg do biorregulador L⁻¹ de solução foi verificada influência dos substratos sobre o comprimento do caule (Tabela 1). Nestas, o substrato S3 (Biomix[®] + vermiculita) promoveu um maior alongamento do caule, não diferindo do efeito produzido com o uso de S1 (Biomix[®]) à concentração de 500 mg de AIB L⁻¹ de solução. Em estacas de *L. alba*, o comprimento do broto apresentou maior desenvolvimento quando cultivadas no substrato comercial Plantmax[®] (casca de pinus, turfa, vermiculita expandida e carvão moído) em comparação com vermiculita, sendo este resultado atribuído ao baixo teor de nutrientes do substrato inorgânico (BIASI & COSTA, 2003).

Tabela 1: Taxa de sobrevivência, número de folhas por muda e comprimento do caule de *Lippia organoides* Kunth propagadas a partir de estacas apicais cultivadas em substrato Biomix[®] (S1), vermiculita expandida (S2) e Biomix + vermiculita (S3) e tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, 2012.

Substrato	Concentração de AIB (mg L ⁻¹)					Média
	0	62,5	125	250	500	
Sobrevivência (%)						
S1	38,8b*	88,8a	76,6a	68,8a	76,2a	69,8
S2	48,8b	55,0c	73,8a	50,0b	62,5b	58,0
S3	67,5a	73,8b	61,3b	42,5b	71,3ba	63,3
Média	51,7	72,5	70,6	53,7	70,0	
CV (%)	11,56					
Número de folhas/muda						
S1	3,7c	2,5c	9,7b	8,7b	1,3c	5,2
S2	13,7b	10,2b	13,3b	15,0a	11,3b	11,6
S3	19,2a	17,0a	25,7a	9,7b	18,7a	19,1
Média	12,2	9,9	16,2	11,1	10,4	
CV (%)	27,11					
Comprimento do caule (cm)						
S1	11,57a	10,42b	12,07a	11,42a	12,25a	11,56
S2	10,78a	11,22b	11,58a	12,38a	10,57b	11,02
S3	12,28a	14,42a	12,57a	10,95a	12,75a	12,88
Média	11,54	12,02	12,07	11,58	11,86	
CV (%)	6,46					

*Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey. CV: referente às parcelas (substratos).

A massa da matéria seca das folhas seguiu padrão de resposta semelhante ao do número de folhas por muda, apresentando maiores médias quando utilizado o substrato composto por S3 (Biomix[®] + vermiculita) (Tabela 2). Entretanto, nas concentrações de 62,5 e 250 mg de AIB . L⁻¹ de solução, esses valores foram estatisticamente iguais àqueles obtidos com S2 (vermiculita expandida). A massa da matéria seca do caule não sofreu influência do tipo de substrato nas concentrações de 0 e 125 mg de AIB . L⁻¹ de solução, semelhante ao observado com o comprimento deste órgão (Tabela 2). Na concentração de 62,5 mg L⁻¹ de AIB, a maior média de massa da matéria seca do caule foi obtida com o substrato S3 (Biomix[®] + vermiculita). Em estacas tratadas com 250 mg de AIB . L⁻¹ de solução, os substratos S1 (Biomix[®]) e S2 (vermiculita expandida) promoveram médias superiores às obtidas com o S3 (Biomix[®] + vermiculita). Utilizando-se 500 mg L⁻¹ do regulador, o S1 (Biomix[®]) e S3 (Biomix[®] + vermiculita) promoveram as maiores médias

para massa da matéria seca do caule. Estes resultados de comprimento do caule e sobrevivência demonstram que há efeito sinérgico do tipo de substrato utilizado e a quantidade de AIB que é utilizada sobre a fisiologia das estacas de *L. organoides*.

Tabela 2: Média da massa da matéria seca de folhas, caule, raiz e total de mudas de *Lippia organoides* Kunth propagadas a partir de estacas apicais cultivadas em substrato Biomix[®] (S1), vermiculita expandida (S2) e Biomix + vermiculita (S3) e tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, 2012.

Substrato	Concentração de AIB (mg L ⁻¹)					Média
	0	62,5	125	250	500	
Massa da matéria seca de folhas (mg)						
S1	9,6c*	6,5b	25,7b	14,8b	1,3c	11,6
S2	28,6b	42,7a	28,5b	34,2a	23,5b	31,5
S3	53,2a	49,5a	53,2a	25,2ab	58,2 ^a	48,2
Média	30,5	32,9	35,8	24,7	27,7	
CV (%)	42,20					
Massa da matéria seca do caule (mg)						
S1	61,3a	52,8b	77,0a	76,5a	56,3ab	64,8
S2	74,0a	53,7b	71,2a	80,2a	43,0b	64,4
S3	71,2a	83,5a	79,3a	51,7b	63,5 ^a	69,8
Média	68,8	63,3	75,8	69,5	54,3	
CV (%)	23,83					
Massa da matéria seca da raiz (mg)						
S1	8,8b	17,3b	32,2a	20,8a	30,8b	22,0
S2	15,7b	10,0b	12,2b	25,5a	11,8c	13,6
S3	30,2a	29,7a	43,0a	18,2a	48,0a	35,28
Média	18,2	19,0	29,1	21,5	30,2	
CV (%)	29,15					
Massa da matéria seca total (mg)						
S1	12,4b	12,3b	21,2b	17,0b	13,7b	16,5
S2	18,1ab	16,7b	16,9b	21,8a	13,9b	17,3
S3	23,9a	25,5a	28,3a	15,3b	26,0a	25,1
Média	22,0	18,1	22,1	18,0	17,9	
CV (%)	32,18					

*Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey. CV: referente às parcelas (substratos).

Quanto à massa da matéria seca da raiz (Tabela 2), o substrato S3 (Biomix[®] + vermiculita) mais uma vez promoveu os maiores valores, exceto na concentração de 250 mg de AIB . L⁻¹ de solução, na qual não houve diferença significativa atribuída aos substratos. Aplicando-se 0 e 62,5 mg de AIB . L⁻¹ de solução, não foi diagnosticada

diferença estatística entre os resultados obtidos com os substratos S1 (Biomix[®]) e S2 (vermiculita expandida). Em contrapartida, na concentração de 500 mg de AIB . L⁻¹ de solução, S1 (Biomix[®]) promoveu médias de massa da matéria seca da raiz superiores às obtidas com S2. Com 125 mg L⁻¹ do fitorregulador, S1 (Biomix[®]) e S3 (Biomix[®] + vermiculita) promoveram as maiores médias de massa da matéria seca da raiz.

O substrato S3 (Biomix[®] + vermiculita) também promoveu resultados superiores para a massa da matéria seca total da muda (Tabela 2), com todas as concentrações de AIB exceto 250 mg L⁻¹, com a qual não houve diferença entre os substratos (Tabela 2). S1 (Biomix[®]) e S2 (vermiculita expandida) exerceram influência semelhante sobre a massa da matéria seca total em todas as concentrações de AIB.

Em geral, o substrato S3 proporcionou os maiores valores para massa da matéria seca, independentemente da concentração de AIB. Possivelmente, a superioridade de S3 (Biomix[®] + vermiculita) em promover a acumulação de biomassa em estacas de *L. origanoides* deve-se às características físicas e químicas deste substrato. Por ser formado da mistura de um substrato com maior teor dos macro e micronutrientes necessários à planta, em virtude da presença de composto orgânico (Biomix[®]) e um substrato com grande capacidade de retenção de água, baixa densidade e elevada porosidade (vermiculita expandida), S3 possibilitou as condições mais favoráveis para o desenvolvimento das raízes e o crescimento da parte aérea. Outro aspecto relevante a ser considerado é a maior densidade do substrato S1 (Biomix[®]), que afeta a capacidade de infiltração de água num substrato.

A capacidade de infiltração é inversamente proporcional à densidade do substrato, visto que uma pequena quantidade de macroporos é característica de substratos mais densos (ALVES et al., 2007). Além da baixa porosidade, tem-se ainda que quanto maior a densidade maior a resistência à penetração vertical da raiz (ARAÚJO et al., 2007), o que significa que substratos mais densos apresentam menor disponibilidade de ar e água para as células radiculares e maior dificuldade de alongamento deste órgão, afetando diretamente o desenvolvimento da muda. Contudo, as características ideais do substrato variam com a espécie estudada. Na estaquia de *L. sidoides* o substrato mais aerado e com menos nutrientes (areia) promoveu maior massa da matéria fresca, maior número de folhas expandidas e maior número de brotos por estaca (OLIVEIRA et al., 2008). Já em estacas de *Ocimum selloi* Benth.) não se verificou influência de substratos com diferentes características físicoquímicas no desenvolvimento radicular das mesmas (COSTA et al., 2007).

Em estudo comparando os substratos vermiculita expandida e o comercial (Plantmax[®]) na estaquia de jasmim amarelo (*Jasminum mesnyi* Hance), Althaus et al. (2007) verificaram que o primeiro proporcionou os melhores resultados para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento das cinco maiores raízes por estaca, porcentagem de estacas com presença de folhas iniciais e porcentagem de brotações por estaca. Estes resultados foram atribuídos à grande capacidade de retenção de água e a manutenção da aeração nas raízes, permitindo seu maior desenvolvimento, e consequentemente maior crescimento da parte aérea. Ehlert e colaboradores (2004), estudando a propagação da espécie medicinal alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), observaram que a utilização de substrato composto por 40% ou 20% de arisco + esterco bovino, 20 ou 40% de húmus e 40% de vermiculita promoveu maior desenvolvimento, tanto da parte aérea quanto das raízes. Este substrato mostrou-se mais adequado na obtenção de mudas em comparação com outros contendo maior ou menor concentração de vermiculita. Os referidos resultados corroboram com os observados no presente trabalho, comprovando a importância do balanço entre aeração e retenção de água, proporcionada principalmente pela vermiculita, e o fornecimento dos nutrientes necessários, provido, sobretudo, pelos componentes à base de matéria orgânica (EHLERT et al., 2004).

Constata-se, no geral, baixa influência do AIB, nas concentrações estudadas, na produção de matéria seca, sendo o cultivo em S3 o principal promotor do aumento de biomassa de mudas de *L. origanoides* propagadas vegetativamente, com destaque para o crescimento do tecido fotossintetizante. Segundo Costa et al. (2007), mudas mais vigorosas têm maior possibilidade de estabelecimento em campo. Sendo assim, o desejável na estaquia é a obtenção de mudas com bom desenvolvimento, tanto do sistema radicular quanto da parte aérea, para a garantia de uma alta taxa de sobrevivência após o transplante e um rápido estabelecimento em campo (NORBERTO et al., 2001).

CONCLUSÕES

A estaquia é um método adequado para a propagação vegetativa da espécie *Lippia origanoides* Kunth; A imersão das estacas por 24 horas em 278 mg de ácido indolbutírico . L⁻¹, seguida pelo cultivo em mistura de substrato comercial Biomix[®] e vermiculita expandida (1:1) proporciona as melhores mudas; O ácido indolbutírico possibilita apenas a produção de mudas com maior desenvolvimento do sistema radicular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UEFS pelo apoio ao projeto de pesquisa, a CAPES e a FAPESB pela concessão de bolsas de estudo, aos funcionários e estudantes da Unidade Experimental Horto Florestal - UEFS pelo apoio na montagem do experimento, ao Prof. Roberto Romão e a Prof^a Claudinéia Regina Pelacani pela disponibilização de material.

REFERÊNCIAS

AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ALTHAUS, M.M. et al. Influência do ácido naftaleno acético e dois tipos de substrato no enraizamento de estacas de jasmim-amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 3, p. 322-326, 2007.

ALVES, M.C.; SUZUKI, L.G.A.S.; SUZUKI, L.E.A.S. Densidade do solo e infiltração de água como indicadores da qualidade física de um latossolo vermelho distrófico em recuperação. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 31, p. 617-625, 2007.

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W.J.; LACERDA, M.P.C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 31, p.1099-1108, 2007.

BIASI, L.A. & COSTA, G. Propagação vegetativa de *Lippia alba*. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 455-459, 2003.

COSTA, L.C.B.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.VI. Comprimento da estaca e tipo de substrato na propagação vegetativa de atoveran. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, 1157-1160, 2007.

EHLERT, P.A.D., LUZ, J.M.Q., INNECCO, R. Propagação vegetativa da alfavaca-cravo utilizando diferentes tipos de estacas e substratos. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 10-13, 2004.

ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp. essential oils and their major components. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 184-190, 2010.

FERREIRA, D.F. **SISVAR**: Programa estatístico experimental, versão 5.3. 5.ed. Lavras: UFLA. 2010.

FIGUEIREDO, L.S. et al. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) em leito com umidade controlada. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 33-36, 2009.

FOCHESATO, M.L. et al. Alterações das características químicas de três substratos comerciais na produção de mudas cítricas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1040-1046, 2008.

FRANÇA, S.C. **Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4 ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade / UFRGS / UFSC., 2002. 833p.

GOVAERTS, R. & ATKINS, S. **World Checklist of Verbenaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp/synonymy.do?name_id=113656>. Acesso em: 07/03/2012.

GUERRINI, I.A. & TRIGUEIRO, R.M. Atributos físicos e químicos de substratos compostos por biossólidos e casca de arroz carbonizada. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 28, p. 1069-1076, 2004.

LACERDA, M.R.B. et al. Características físicas e químicas de substratos à base de pó de coco e resíduo de sisal para produção de mudas de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 163-170, 2006.

MING, L.C. et al. **Manejo e cultivo de plantas medicinais: algumas reflexões sobre perspectivas e necessidades no Brasil**. In: COELHO, M.F.B.; COSTA JUNIOR, P.; DOMBROSKI, J.L.D. Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais: anais do I Seminário Mato-grossense de Etnobiologia e Etnoecologia e II Seminário Centro-Oeste de Plantas Medicinais. Cuiabá: Unicen, 2003. p.149-156.

MORAIS, S.M. et al. Atividade sequestradora de radical livre, teor de compostos fenólicos e Inibição da acetilcolinesterase de extratos de plantas medicinais das Farmácias Vivas. In: 48º Congresso Brasileiro de Química, Rio de Janeiro – RJ, 2008. **Anais...** Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/7/7-445-4813.htm>>. Acesso em: 09/11/2009.

NORBERTO, P.M. et al. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 3, p. 533-541, 2001.

OLIVEIRA, A.C.L. et al. Produção de mudas de dois genótipos de alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis* Schauer) em função de fertilizante mineral, calcário, substratos e recipientes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 1, p. 35-42, 2011a.

OLIVEIRA, A.F. et al. Estaquia de oliveira em diferentes épocas, substratos e doses de AIB diluído em NaOH e álcool. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 79-85, 2009.

OLIVEIRA, D.R. et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chemistry**, v. 101, p. 236–240, 2007.

OLIVEIRA, G.L. et al. Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham. utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, n. 4, p. 12-17, 2008.

OLIVEIRA, L.M. et al. Propagação vegetativa de *Hyptis leucocephala* Mart. ex Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart ex Benth. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 1, p. 73-78, 2011.

PASCUAL, M.E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201-214, 2001.

PIMENTA, M.R. et al. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 2, p. 211-220, 2007.

SANTOS, H.S. et al. Cytotoxic Naphthoquinones from Roots of *Lippia microphylla* Cham. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, p. 5117-5120, 2003.

SCHMITZ, J.A.K.; SOUZA, P.V.D.; KÄMPF, A.N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 937-944, 2002.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

VALMORBIDA, J. et al. Enraizamento de estacas de *Trichilia catigua* A. Juss (catigua) em diferentes estações do ano. **Revista Árvore**, v. 32, n. 3, p. 435-442, 2008.

WENDLING, I. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): estado da arte e tendências futuras. (Série Documentos, 91). Colombo - PR: Embrapa Florestas, 2004. 46p.

CAPÍTULO II

BIORREGULADORES VEGETAIS NO CRESCIMENTO DE *Lippia origanoides* KUNTH (VERBENACEAE)

BIORREGULADORES VEGETAIS NO CRESCIMENTO DE *Lippia origanoides* KUNTH (VERBENACEAE)

SILVA, G.C.^{1*}; OLIVEIRA, L.M.¹; LUCHESE, A.M.²; SILVA, T. R. S.¹

¹ Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana-Bahia, Brasil. *gabicarinhonha@gmail.com ² Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana-Bahia, Brasil.

RESUMO: A aplicação de biorreguladores vegetais tem sido uma ferramenta valiosa na promoção do crescimento e produção de plantas medicinais. A espécie *Lippia origanoides* Kunth é nativa do semiárido nordestino e apresenta elevado potencial para produção de óleo essencial com propriedades antissépticas. Sendo assim, este trabalho objetivou a avaliação de crescimento de plantas de *Lippia origanoides* Kunth cultivadas em casa de vegetação e tratadas com diferentes biorreguladores vegetais via pulverização foliar. Para tanto, plantas propagadas vegetativamente foram cultivadas por 85 dias em casa de vegetação, onde receberam três pulverizações, com intervalo de 14 dias entre elas, com os tratamentos: ácido giberélico (100 mg L⁻¹); 6-benzilaminopurina (100 mg L⁻¹); ácido jasmônico (0,105 mg L⁻¹); ácido acetilsalicílico (90,08 mg L⁻¹); Stimulate[®] (2%) e água destilada (Testemunha). Foram realizadas três épocas de colheita, sete dias depois de cada aplicação, avaliando-se a altura da planta, comprimento da maior raiz, área foliar, massa da matéria seca de folhas, inflorescências, ramos, raiz e total. A partir destas variáveis foram calculados os parâmetros de crescimento: taxa de crescimento relativo, taxa assimilatória líquida; área foliar específica e razão de peso foliar. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, cujas parcelas foram os biorreguladores e as subparcelas foram às épocas de coleta. A aplicação de BAP, AAS e AJ reduziu o crescimento em altura das plantas. O efeito positivo do uso dos biorreguladores testados foi mais significativo a partir dos 35 dias após a primeira aplicação. A aplicação foliar de biorreguladores, nas condições testadas, é uma técnica viável para a aceleração do crescimento de plantas de *Lippia origanoides* Kunth.

Palavras-chave: Alecrim-de-tabuleiro, planta medicinal, desenvolvimento, cultivo.

ABSTRACT: The application of plant growth regulators has been a valuable tool in promoting the growth and production of medicinal plants. The species *Lippia origanoides* Kunth is native from Brazilian northeast semiarid and has high potential for production of essential oil with antiseptic properties. Therefore, this study aimed to evaluate *Lippia origanoides* Kunth plant growth grown in a greenhouse and treated with different bioregulators by foliar sprays. Therefore, vegetatively propagated plants were grown for 85 days in greenhouse where they received three sprays at an interval of 14 days between them, with treatments: gibberellic acid (100 mg L^{-1}), 6-benzylaminopurine (100 mg L^{-1}), jasmonic acid (0.105 mg L^{-1}), acetylsalicylic acid (90.08 mg L^{-1}); Stimulate[®] (2%) and distilled water (control). There were three harvest seasons, seven days after each application, evaluating plant height, roots length, leaf area, dry mass of leaves, inflorescence, branches and root. From these variables were calculated growth parameters: relative growth rate, net assimilation rate, specific leaf area and leaf weight ratio. The design was completely randomized in a split-plot, whose plots were bioregulators and subplots were the harvests. The application of BAP, AJ and AAS reduced height growth of plants. The positive effect bioregulators was most significant after 35 days from the first application. The leaf application of bioregulators, under the tested conditions, is a viable technique for accelerating the growth of plants *Lippia origanoides* Kunth.

Key-words: Alecrim-de-tabuleiro, medicinal plants, development, cultivate.

INTRODUÇÃO

Segundo Govaerts & Atkins (2012) a espécie *Lippia origanoides* Kunth (1818), pertencente à família Verbenaceae, tem como sinônimos *Lippia berteroi* Spreng. (1825), *Lippia microphylla* Benth. (1840), *Lippia schomburgkiana* Schauer (1847) e *Lippia origanoides* var. *sampaionis* Herter (1916). Popularmente chamada de alecrim-de-tabuleiro, esta espécie medicinal nativa do semiárido do nordeste do Brasil apresenta grande potencial de uso pela indústria farmacêutica. É um arbusto produtor de óleo essencial com ação antimicrobiana contra bactérias e leveduras causadoras de diversas doenças nos seres humanos (OLIVEIRA et al., 2007), antiprotozoários e citotóxica contra células cancerígenas (ESCOBAR et al., 2010). Além do óleo essencial foram isolados e identificados no extrato da raiz dessa espécie dois compostos com ação citotóxica contra células cancerígenas (SANTOS et al., 2003).

Na medicina popular o decoto ou macerado em álcool das folhas desta espécie é

utilizado no tratamento de distúrbios gastrointestinais, em problemas nas vias respiratórias e como antisséptico em geral (PASCUAL et al., 2001; AGRA et al., 2007). Ainda segundo Pascual et al. (2001), esta planta é também consumida como condimento e estimulador de apetite. Porém, o uso desta planta tem sido realizado de forma intensiva e baseado unicamente no extrativismo a partir da vegetação nativa, assim como ocorre com a maior parte das espécies medicinais nativas do Brasil. Desta forma, estudos devem ser desenvolvidos com a finalidade de gerar conhecimentos sobre a biologia destas espécies (MING et al., 2003), o que possibilitará a sua exploração de forma sustentável.

A produção e comercialização de óleos essenciais no Brasil tem sido limitada, entre outras causas, pela falta de conhecimentos agronômicos para cada espécie, acarretando uma redução na produtividade e dificuldade de manutenção da qualidade do produto, atribuída a grande variabilidade na composição química dos óleos produzidos (BIZZO et al., 2009). Com isso, faz-se necessária a realização de pesquisas que esclareçam as condições agronômicas ideais para cada espécie, permitindo o cultivo em larga escala e, com isso, viabilizando a exploração do potencial farmacológico e econômico (FRANÇA, 2002) de espécies nativas aromáticas. Embora informações que viabilizem o aumento na produção de biomassa vegetal e dos compostos bioativos presentes nos tecidos ainda sejam escassas para plantas medicinais, a utilização de estimuladores bióticos e abióticos tem apresentado resultados promissores para algumas espécies de plantas medicinais (DESCHAMPS & SIMON, 2006; POVH & ONO, 2008).

Entre os agentes estimuladores do metabolismo vegetal temos os hormônios e os reguladores de crescimento. Hormônios são substâncias naturais produzidos pelas plantas e por algumas espécies de fungos e algas, que controlam o crescimento e desenvolvimento das plantas (FELIPPE, 1979). Já os reguladores de crescimento são substâncias sintéticas que produzem efeitos similares sobre o metabolismo vegetal (FELIPPE, 1979). Contudo, os hormônios e os reguladores de crescimento vegetais apresentam efeitos bastante diversos, podendo promover a inibição, ativação, redução ou intensificação de processos metabólicos da fisiologia vegetal, a depender da sua estrutura química, concentração, forma e época de aplicação, sendo, contudo, largamente aplicados de forma exógena na promoção do crescimento de vegetais cultivados (FELIPPE, 1979).

Entre as classes de hormônios e reguladores vegetais mais utilizadas para estimulação do crescimento e desenvolvimento vegetal estão as auxinas, citocininas e giberelinas. As auxinas são hormônios envolvidos na promoção do alongamento de caules e coleótilos. Além disso, esta classe de biorreguladores tem ação sobre a dominância

apical, no crescimento de raízes laterais, na abscisão foliar, na formação de gemas florais e no desenvolvimento do fruto (TAIZ & ZEIGER, 2009). As principais auxinas utilizadas em estudo de crescimento e desenvolvimento de plantas são o ácido indolacético (AIA), uma auxina natural, e o ácido indolbutírico (AIB), uma substância sintética. Estas substâncias são amplamente aplicadas no cultivo *in vivo* para promover o enraizamento de estacas (OLIVEIRA et al., 2011) e *in vitro* no enraizamento de explantes (RADMANN et al., 2002).

As citocininas regulam a divisão celular e, juntamente com as auxinas, determinam a formação de raiz ou parte aérea em materiais cultivados *in vitro*. Estas substâncias estimulam a diferenciação dos cloroplastos, o alongamento celular e o retardo da senescência, sendo ainda responsáveis pelo desenvolvimento de gemas laterais, afetando, por consequência, a dominância apical (TAIZ & ZEIGER, 2009). A cinetina (KIN) e a 6-benzilaminopurina (BAP) têm sido as principais citocininas sintéticas testadas em experimentos de crescimento de plantas tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Já as giberelinas têm como principais efeitos a participação no processo germinativo de sementes e o alongamento dos entrenós de certos tipos de plantas, causado por expansão celular e posterior divisão mitótica. Estes compostos causam ainda modificação do estado fisiológico de flores e frutos (TAIZ & ZEIGER, 2009). Ensaio sobre germinação de sementes, produtividade agrícola e crescimento de plantas cultivadas costumam avaliar o efeito da aplicação destas substâncias, com destaque para o ácido giberélico (GA₃).

Atualmente, no mercado estão disponíveis produtos contendo misturas de biorreguladores de diferentes classes e/ou retardantes do crescimento que são utilizados visando promover aumento da produtividade de diversas culturas, dentre eles, o Stimulate[®] vem sendo testado em culturas como soja (CAMPOS et al., 2008) e salva (POVH & ONO, 2008).

Mais recentemente outras classes de hormônios vegetais têm sido estudadas, além das auxinas, citocininas e giberelinas, sobretudo em relação aos seus efeitos sobre o metabolismo secundário das plantas. A exemplo do ácido salicílico (AS) e o ácido jasmônico (AJ), e dos compostos derivados destes, produzidos normalmente em tecidos vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2009). Os salicilatos têm sido amplamente estudados em relação aos mecanismos de sinalização em plantas envolvidos nas respostas ao ataque de pragas e doenças (HARFOUCHE et al., 2008; MENEZES, 2009), enquanto que os jasmonatos têm um importante papel no processo de produção de sinais que regulam os genes de defesa nas plantas, culminando na produção de metabólitos secundários (ZHAO

et al., 2005). Por conta desses efeitos, estes dois grupos de substâncias estão sendo utilizados como agentes estimuladores da produção de metabólitos secundários em plantas (DESCHAMPS & SIMON, 2006), entretanto, informações acerca dos seus efeitos sobre o crescimento de plantas ainda são escassos ou inexistentes.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o crescimento de plantas da espécie *Lippia origanoides* Kunth submetidas à pulverizações foliares com diferentes biorreguladores vegetais.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil, entre os meses de outubro e dezembro de 2010. Esta unidade situa-se a 257 metros de altitude, na latitude de 12°16'00" Sul e longitude de 38°58'00" Oeste, apresentando pluviosidade média de 848 mm por ano e temperatura variando em torno de 24°C.

As plantas utilizadas no experimento foram obtidas através de propagação vegetativa, via estaquia (Figura 1B-1C), de matrizes cultivadas na coleção de plantas aromáticas (Figura 1A) da referida unidade experimental. A espécie foi identificada pela taxonomista Tânia Regina dos Santos Silva (UEFS), com exsicata tombada no Herbário da UEFS (HUEFS) com voucher número 83.373. Mudanças com 45 dias de cultivo (Figura 1D), em estufa com nebulização intermitente, foram transferidas para sacos de polietileno preto (15 x 35 cm), preenchidos com uma mistura de terra vegetal e esterco bovino curtido (5:1) e fertilizante superfosfato simples (18% de P₂O₅) na proporção de 1kg por m³ da mistura (Figura 1E). Os sacos foram alocados em casa de vegetação desta unidade, com irrigação diária e 70% de luminosidade.

Após 85 dias do transplante, todas as plantas foram submetidas a “poda de padronização” manual, com tesoura de poda, para uniformização do tamanho inicial das plantas, mantendo-as com aproximadamente 40 cm de altura e 20 cm de comprimento dos ramos laterais (Figura 1F). Sete dias depois da “poda de padronização”, foi realizada a primeira aplicação dos tratamentos, através de pulverização manual sobre as folhas e ramos, utilizando-se pulverizadores com capacidade de 0,5L (Figura 1H-1I). Para cada tratamento foi aplicado o volume correspondente a 140 mL de solução para cada 15 plantas, deixando-as com aspecto orvalhado. Foram realizadas três aplicações entre às seis e sete da manhã, com intervalos de 14 dias entre elas. Os seis tratamentos testados foram:

ácido giberélico (GA₃) a 100 mg L⁻¹, 6-benzilaminopurina (BAP) a 100 mg L⁻¹, ácido jasmônico (AJ) a 0,105 mg L⁻¹, ácido acetilsalicílico (AAS) a 90,08 mg L⁻¹ e o bioestimulante vegetal Stimulate[®] a 2% (composto por 0,09 g L⁻¹ de cinetina, 0,05 g L⁻¹ de ácido indolbutírico e 0,05 g L⁻¹ de GA₃). Como controle, as plantas foram pulverizadas com o mesmo volume de água destilada.

Para o cálculo dos parâmetros de crescimento foi obtida inicialmente a altura das plantas (Figura 1J), comprimento da maior raiz (Figura 1K), área foliar e massa da matéria seca total e de raízes, ramos, folhas e inflorescências de cinco plantas não tratadas (Figura 1L), no dia da primeira aplicação dos tratamentos, sendo este considerado o tempo zero. Para a avaliação dos tratamentos foram realizadas novas quantificações, sete dias após cada aplicação, totalizando três épocas de coleta. Cada época apresentou cinco repetições por tratamento compostas por uma planta cada. As variáveis analisadas foram às mesmas quantificadas no tempo zero. Para o cálculo da área foliar, cinco folhas de cada planta foram coletadas aleatoriamente e escaneadas, tendo as imagens analisadas pelo programa QUANT v.1.0.1 para determinação da área correspondente. A massa da matéria seca das cinco folhas utilizadas foi obtida para o cálculo da área foliar total a partir da massa da matéria seca de todas as folhas da planta. Para a obtenção da massa da matéria seca, cada órgão foi separado em sacos de papel e levados à estufa com circulação forçada de ar a 60° C até peso constante, obtido através de balança analítica. A Altura e o comprimento da maior raiz foram obtidos através de régua milimetrada.

A partir das variáveis quantificadas foram calculados os seguintes parâmetros de crescimento: taxa de crescimento relativo (TCR) em relação à massa da matéria seca total, razão de peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE) e taxa assimilatória líquida (TAL) segundo metodologia descrita por Cairo et al. (2008).

A TCR foi calculada através da fórmula: $TCR = (L_n P_2 - L_n P_1) * (t_2 - t_1)^{-1}$, em que $L_n P_2$ e $L_n P_1$ são os logaritmos neperianos da massa da matéria seca de cada época de avaliação e da época anterior, respectivamente, e $(t_2 - t_1)$ representa o intervalo de dias entre as duas avaliações. A RPF foi obtida através da razão entre a massa da matéria seca das folhas em relação à de toda a planta, não apresentando unidade de medida. A AFE foi calculada a partir da fórmula: $AFE = (\text{área foliar de toda a planta}) * (\text{massa da matéria seca de todas as folhas da planta})^{-1}$. Já a fórmula utilizada para o cálculo da TAL foi: $TAL = (P_2 - P_1) * (Af_2 - Af_1)^{-1} * (L_n Af_2 - L_n Af_1) * (t_2 - t_1)^{-1}$, sendo P a massa da matéria seca total, Af área foliar (CAIRO et al., 2008).



Figura 1: A - Plantas de *Lippia origanoides* Kunth da coleção de plantas aromáticas da Unidade Experimental Horto Florestal - UEFS; B - Estaca de *L. origanoides*. C - Estacas de *L. origanoides* cultivadas em bandejas de poliestireno; D - Mudas de *L. origanoides*; Plantas transplantadas para sacos de muda; F - Medição das plantas para a “poda de padronização”; G - Grupo de plantas constituinte de uma parcela (biorregulador); H - Isolamento das parcelas para aplicação dos biorreguladores vegetais; I - Aplicação dos biorreguladores vegetais através de pulverizador manual; J - Medição da altura da planta; K - Medição da maior raiz da planta; L – Separação dos órgãos para secagem e pesagem. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, cujas parcelas foram constituídas pelos biorreguladores vegetais e as subparcelas pelas épocas de coleta, com cinco repetições cada, compostas por uma planta cada, correspondendo a 15 plantas por tratamento, com 90 plantas no total (Figura 1G). Os resultados foram analisados estatisticamente através do programa Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2010), primeiramente pelo teste de F e, em seguida, pelo teste de Tukey para comparar as médias obtidas sob influência da época de coleta e pelo teste de Scott-Knott para comparar as médias obtidas com a utilização dos tratamentos, ambos a 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificada significância do efeito dos tratamentos sobre o comprimento da maior raiz e massa da matéria seca das inflorescências segundo o teste de F ($p > 0,05$). Para a variável altura de plantas não houve interação entre os fatores de variação, apenas para época de coleta ($p < 0,01$) e biorreguladores ($p < 0,05$) de forma isolada. Entretanto, para a área foliar e massa da matéria seca de folhas, raízes, ramos e total foi constatada interação altamente significativa entre a época de coleta e a aplicação dos biorreguladores ($p < 0,01$) (Anexo B).

A média geral do comprimento da raiz foi 43,31 cm e da massa da matéria seca das inflorescências foi 0,62 g. Os resultados obtidos demonstram que a aplicação de BAP, AAS e AJ promoveu redução do alongamento das plantas quando comparadas com as plantas do tratamento testemunha (Tabela 1). Já o GA₃ e Stimulate[®] não promoveram influência significativa sobre a altura das plantas (Tabela 1). Como esperado, houve um aumento progressivo do tamanho das plantas com o tempo.

O porte reduzido observado nas plantas tratadas com BAP corrobora com a influência deste biorregulador sobre a dominância da gema apical, já bem discutida na literatura, tendo em vista que plantas com maior aporte de citocininas apresentam tamanho reduzido, menor comprimento dos entrenós e maior volume de ramificações laterais (TAIZ & ZEIGER, 2009). Este efeito baseia-se na capacidade desta classe de hormônios vegetais de intensificar a multiplicação das células meristemáticas das gemas laterais e a produção de ramos que competem com o crescimento apical (TAIZ & ZEIGER, 2009). Oliveira et al. (2005) observaram efeitos semelhantes com a pulverização foliar de BAP em plantas de *Passiflora alata* Curtis, independentemente da dosagem e da época de avaliação, cujo alongamento do caule foi reduzido em detrimento do crescimento de ramos laterais.

Já o retardo do crescimento em altura das plantas tratadas com AAS e AJ sugere um fornecimento de um menor aporte de carbono para as vias metabólicas envolvidas no crescimento, em detrimento daquelas relacionadas à reação a estresses bióticos, normalmente promovida por esses hormônios vegetais. O AS, assim como seu derivado AAS, é um fitormônio que realiza a sinalização de respostas de defesa de plantas sob ataque, estando envolvido com a ativação da resistência sistêmica adquirida (TAIZ & ZEIGER, 2009). Em experimento *in vitro* com castanha europeia (*Castanea sativa* Mill.), Harfouche et al. (2008) constataram que a aplicação exógena de ácido acetilsalicílico promoveu a expressão de genes de quitinases, enzimas com ação antimicrobiana relacionadas com a resistência a patógenos, tendo seus genes expressos quando a planta sofre ataque. Além disso, os autores observaram o aumento da produção de peróxido de

hidrogênio nos espaços intercelulares, resposta conhecidamente relacionada aos estresses bióticos e abióticos em plantas. O AJ é outro conhecido sinalizador da expressão de genes de respostas defensivas em plantas e sua aplicação exógena elicitava várias vias de síntese de uma extensa gama de metabólitos secundários, como terpenoides, alcaloides e flavonoides (ZHAO et al., 2005).

Tabela 1: Médias de altura e área foliar de plantas de *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) cultivadas em casa de vegetação, submetidas a três pulverizações foliares com diferentes hormônios e reguladores de crescimento e avaliadas em três épocas (7, 21 e 35 dias após a primeira aplicação). Feira de Santana-BA, 2012.

Tratamento	1ª época	2ª época	3ª época	Média	1ª época	2ª época	3ª época	Média
	Altura (cm)				Área foliar (dm ²)			
GA ₃	45,20	47,80	55,68	49,56a*	0,53aA	0,81bA	0,89aA	0,74
BAP	43,54	47,80	50,00	47,08b	0,55aA	0,47bA	0,75aA	0,59
AAS	45,40	47,26	47,58	46,75b	0,54aA	0,98bA	0,79aA	0,70
AJ	44,28	48,14	51,50	47,97b	0,56aA	0,98bA	0,70aA	0,68
Stimulate [®]	45,56	51,68	57,90	51,21a	0,59aB	0,56bB	1,09aA	0,75
Testemunha	44,48	54,20	54,96	51,71a	0,52aB	1,41aA	0,67aB	0,86
Média	44,74C	49,46B	52,94A		0,55	0,80	0,81	
CV 1 (%)	8,75				36,87			
CV 2 (%)	10,37				34,40			

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não possuem diferença significativa a 5% de probabilidade de erro pelos testes de Scott-Knott e Tukey, respectivamente. GA₃: ácido giberélico; BAP: 6-benzilaminopurina; AJ: ácido jasmônico; AAS: ácido acetilsalicílico; Stimulate[®]: cinetina, ácido indolbutírico e GA₃; Testemunha: água destilada. CV 1: referente às parcelas (biorreguladores) e CV 2: referente às subparcelas (épocas de avaliação).

Para a variável área foliar não houve diferença entre os tratamentos na primeira e na terceira época de coleta, enquanto que na segunda época, todos os biorreguladores promoveram menor expansão foliar comparados à testemunha (Tabela 1), podendo ser devido a um estresse momentâneo decorrente do contato direto dos biorreguladores com a

superfície foliar. Em relação às épocas de coleta, apenas o bioestimulante vegetal Stimulate[®] promoveu aumento de área foliar ao longo das aplicações. As plantas testemunhas apresentaram maior média desta variável na segunda época, retornando ao estado apresentado na primeira época. Assim como neste trabalho, plantas de soja (*Glicine max* L.) tratadas com BAP e Stimulate[®] apresentaram redução na superfície foliar em comparação com plantas testemunha (CAMPOS et al., 2008). Em plantas de *Lippia alba* Mill. a aplicação de GA₃ causou aumento linear na área foliar ao longo tempo, diferentemente do observado com *L. origanoides* (STEFANINI et al., 2002). Um comportamento semelhante ao das plantas testemunha do atual trabalho foi observado por Campos et al. (2008) em plantas de soja não tratadas com reguladores vegetais.

Houve aumento na acumulação da matéria seca de folhas, ramos, raiz e total ao longo do tempo, com exceção da biomassa de folhas de plantas tratadas com AAS e AJ, assim como os ramos destas últimas. As plantas testemunha tiveram aumento da massa da matéria seca total e de folhas da primeira para a segunda coleta e queda desta para a terceira coleta, assim como foi observado na sua área foliar. Na primeira coleta, não houve diferença entre dos tratamentos sobre a produção de matéria seca de folhas, ramos e total (Tabela 2). Na segunda, estas substâncias provocaram uma menor acumulação de biomassa comparada à Testemunha. Entretanto, na última coleta a aplicação de GA₃ e Stimulate[®] promoveu maiores médias de massa da matéria seca de folhas, ramos e total da planta (Tabela 2).

A ausência de acumulação de biomassa de folhas e ramos ao longo do tempo com o uso de AAS e AJ pode refletir os custos gerados pela ativação de cascatas metabólicas envolvidas na resposta de defesa, sinalizada pelo AAS e AJ, para as quais os fotoassimilados produzidos são, em grande parte, desviados do crescimento vegetativo (CIPOLLINI, et al., 2003).

Os resultados obtidos mostraram que as aplicações de AAS, AJ e BAP retardaram o crescimento de plantas cultivadas de *L. origanoides*, enquanto que o uso de GA₃ e Stimulate retardaram a acumulação de biomassa das mesmas. Em plantas cultivadas de *Lippia alba* Mill. a aplicação de GA₃ nas concentrações de 50 e 100 mg L⁻¹ não promoveu aumento da massa seca de folhas, ramos, flores e total (STEFANINI et al., 2002).

A massa da matéria seca da raiz na primeira coleta não foi alterada pelos biorreguladores vegetais (Tabela 2). Dentro da segunda coleta, entretanto, os biorreguladores promoveram redução desta variável, com exceção do AAS que não causou diferença em relação à testemunha. No entanto, na terceira coleta a aplicação de GA₃ e de

BAP promoveu médias de biomassa da raiz maiores que dos demais tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2: Médias da massa da matéria seca total, de raiz, ramos e folhas de plantas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a três pulverizações foliares com biorreguladores e avaliadas em três épocas (7, 21 e 35 dias após a primeira aplicação). Feira de Santana-BA, 2012.

Tratamento	1ª época	2ª época	3ª época	Média	1ª época	2ª época	3ª época	Média
Massa da matéria seca total (g)					Massa da matéria seca das folhas (g)			
GA ₃	6,45aB*	7,73bB	11,56aA	8,59	2,10aB	2,79bAB	3,51aA	2,75
BAP	5,65aB	8,03bA	10,01bA	7,90	1,86aB	2,57bAB	3,15bA	2,48
AAS	6,49aB	9,37bA	9,28bA	8,38	2,07aA	2,94bA	2,92bA	2,60
AJ	6,29aB	7,97bAB	8,70bA	7,65	2,10aA	2,72bA	2,93bA	2,54
Stimulate®	5,76aC	8,00bB	11,69aA	8,48	1,86aB	2,68bB	3,94aA	2,79
Testemunha	6,40aC	11,40aA	9,11bB	8,97	2,25aB	4,16aA	2,97bB	3,08
Média	6,17	8,75	10,06		1,99	2,94	3,20	
CV 1 (%)	14,46				20,81			
CV 2 (%)	16,37				21,51			
Massa da matéria seca dos ramos (g)					Massa da matéria seca da raiz (g)			
GA ₃	2,44aB	2,80bB	4,84aA	3,36	1,52aB	1,51bB	2,71aA	1,91
BAP	2,21aB	3,22bAB	3,77bA	3,06	1,34aB	1,64bB	2,30aA	1,76
AAS	2,41aB	3,52bA	3,69bA	3,21	1,34aB	2,38aA	2,05bA	1,92
AJ	2,36aA	2,92bA	3,34bA	2,87	1,21aB	1,88bAB	1,75bA	1,61
Stimulate®	2,33aB	3,15bB	4,63aA	3,37	1,21aB	1,53bAB	2,02bA	1,58
Testemunha	2,24aB	4,47aA	3,59bA	3,43	1,31aB	2,38aA	1,97bA	1,89
Média	2,33	3,34	3,98		1,32	1,88	2,13	
CV 1 (%)	26,08				22,50			
CV 2 (%)	20,89				23,40			

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem

significativamente a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott e Tukey, respectivamente. GA₃: ácido giberélico; BAP: 6-benzilaminopurina; AJ: ácido jasmônico; AAS: ácido acetilsalicílico; Stimulate[®]: cinetina, ácido indolbutírico e GA₃; Testemunha: água destilada. CV 1: referente às parcelas (reguladores de crescimento) e CV 2: referente às subparcelas (épocas de avaliação).

Aumento na massa seca das raízes com o uso de GA₃ (94,13 µmol L⁻¹) também foi observado por Carvalho et al. (2005) em duas cultivares de banana (*Musa* spp.). Porém, mudas de pessegueiro (*Prunus persica* L.) tratadas com cinco concentrações de GA₃ (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹) apresentaram redução da biomassa das raízes com o uso do fitorregulador (JÚNIOR et al., 2008).

O aumento obtido com BAP na terceira coleta, apesar de as citocininas apresentarem ação inibidora do alongamento da raiz, pode ser explicado pela capacidade desta classe de biorreguladores vegetais de induzir a divisão celular e o crescimento inicial de gemas laterais (TAIZ & ZEIGER, 2009). Assim, tendo em vista que a origem anatômica das raízes das plantas utilizadas no atual experimento foi de células meristemáticas de gemas laterais, a BAP, possivelmente, promoveu o aumento da matéria seca da raiz através do estímulo à proliferação destas células e, conseqüentemente, do aumento do número de raízes adventícias destas plantas.

A taxa de crescimento relativo (TCR), em relação à matéria seca total revelou que os biorreguladores vegetais provocaram uma atenuação do ritmo de crescimento inicial das plantas comparados com o tratamento sem biorreguladores (Figura 2A). A TCR de plantas do tratamento testemunha apresentou uma rápida elevação, alcançando o ponto máximo próximo dos 21 dias da primeira aplicação seguida, a partir daí, por uma intensa redução deste índice. O rápido incremento da TCR seguido de redução também foi observado por Povh & Ono (2008) em plantas de salva (*Salvia officiales* L.), por Barreiro et al. (2006) em plantas de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e por Campos et al. (2008) em cultivo de soja (*Glicine max* L.). As plantas submetidas aos tratamentos com BAP, AAS e AJ apresentaram aumento na TCR até os 21 dias, embora inferior ao observado no tratamento controle, seguido de redução a partir desse período (Figura 2A). A aplicação de GA₃, apesar de promover uma redução na TCR inicialmente, promoveu aumento a partir dos 21 dias. Por outro lado, nas plantas tratadas com Stimulate[®] verificou-se um aumento contínuo desse parâmetro durante todo o período analisado (Figura 2A). Aos 35 dias da primeira avaliação, todas as plantas tratadas com biorreguladores vegetais apresentaram

TCR maiores que as plantas não tratadas (Figura 2A).

A TCR revela o quanto a planta produziu de matéria seca durante um determinado período, considerando as massas pré-existentes (CAIRO et al., 2008). Na avaliação do crescimento de uma cultura o cálculo desse parâmetro é de grande importância, tendo em vista que permite visualizar a eficiência de determinado tratamento sobre a acumulação de matéria orgânica, sendo, portanto, uma medida indireta da eficiência da planta na assimilação líquida de carbono durante um período definido (CAIRO et al., 2008). Para Barreiro et al. (2006) e Povh & Ono (2008) o aumento da TCR pode ser atribuído à elevação da taxa fotossintética das plantas ou à redução da taxa respiratória. Os resultados obtidos nesse trabalho apontam para um efeito biorregulador do BAP, AAS, AJ e, sobretudo, do GA₃ e Stimulate[®] na acumulação de biomassa em plantas de *L. origanoides* a partir da terceira aplicação, o que poderá se refletir no aumento da produção de óleos essenciais dessa espécie.

A taxa assimilatória líquida (TAL) apresentou o mesmo comportamento observado pela TCR para todos os tratamentos (Figura 2B), o que é esperado tendo em vista que a área foliar foi pouco afetada pela aplicação dos biorreguladores, com diferenças não significativas na primeira e terceira avaliação (Tabela 1). A TAL reflete o quanto cada decímetro quadrado de folha produziu de biomassa total em cada período (CAIRO et al., 2008). A partir dos resultados obtidos, infere-se que o sistema fotossintético das plantas de *L. origanoides* teve sua eficiência reduzida nas primeiras aplicações foliares dos biorreguladores e, em consequência, apresentaram menor acumulação de biomassa. Após a segunda aplicação verificou-se, contudo, que todos os tratamentos contendo biorreguladores promoveram valores de TAL acima do verificado no controle (Figura 2B), sugerindo que esses produtos induziram um superávit na fixação de carbono por um período maior, embora apenas o GA₃ e o Stimulate[®] tenha levado a diferenças significativas na acumulação de massa seca total nas plantas aos 35 dias da primeira aplicação (Tabela 2).

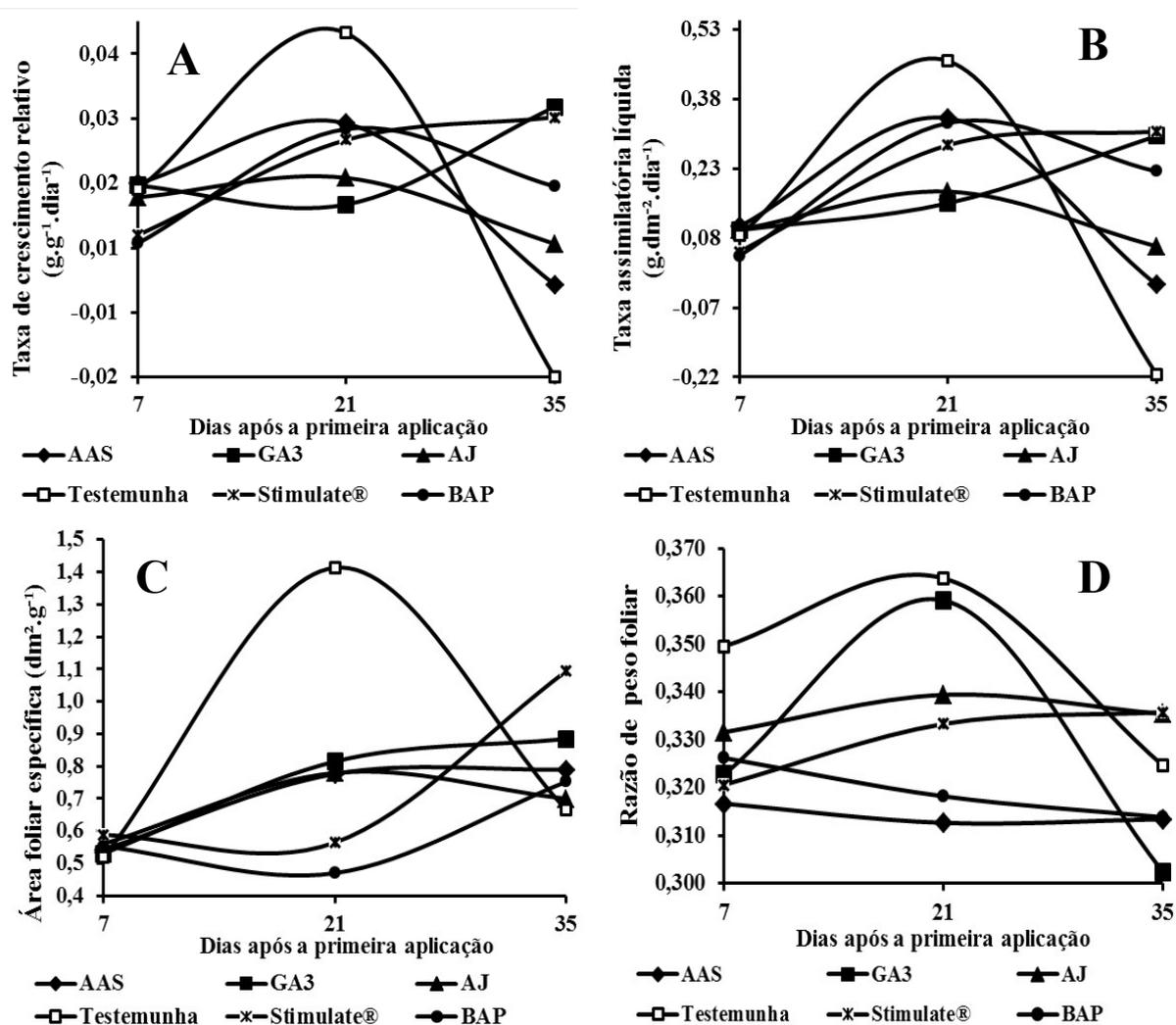


Figura 2: A - Taxa de crescimento relativo (TCR) da massa da matéria seca total, B - taxa assimilatória líquida (TAL), C - área foliar específica (AFE) e D - razão do peso foliar (RPF) de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a três pulverizações foliares com ácido salicílico (AAS), ácido giberélico (GA3), ácido jasmônico (AJ), Stimulate[®], 6-benzilaminopurina (BAP) e água destilada (Testemunha), avaliadas em três épocas (7, 21 e 35 dias após a primeira aplicação). Feira de Santana-BA, 2012.

A área foliar específica (AFE) de plantas não tratadas com os biorreguladores apresentou um intenso aumento até 21 dias da primeira aplicação, com a redução subsequente deste parâmetro a partir desse período. Plantas tratadas com AJ, AAS, GA₃, BAP e Stimulate[®] apresentaram AFE maior que a observada no tratamento controle apenas a partir dos 35 dias da primeira aplicação dos biorreguladores (Figura 2C), sendo que as maiores diferenças obtidas nesse período, foram observadas nas plantas tratadas com GA₃ e Stimulate[®]. A AFE é uma relação entre a superfície e o peso das folhas e, desta

forma, representa a espessura do tecido fotossintético da planta (CAIRO et al., 2008). Assim, os resultados obtidos com GA₃ e Stimulate[®] para esse parâmetro refletem o efeito positivo desses biorreguladores sobre a acumulação de massa seca nas folhas aos 35 dias após a primeira aplicação (Tabela 2), bem como do efeito negativo dos biorreguladores estudados sobre a espessura foliar aos 21 dias após a primeira aplicação (Tabela 1). Respostas divergentes foram observadas em plantas de manjeriço, nas quais a aplicação de cinetina, uma citocinina sintética, promoveu o aumento dos valores de AFE (BARREIRO et al., 2006) e em plantas de soja, as quais não tiveram a espessura foliar influenciada pelo uso de reguladores vegetais (CAMPOS et al., 2008).

A razão de peso foliar (RPF) das plantas não tratadas com biorreguladores apresentou comportamento semelhante a TAL, com aumento até o 21º dia após a primeira aplicação, seguido de queda. Plantas tratadas com GA₃ apresentaram o mesmo comportamento em relação ao observado nas plantas não tratadas com biorreguladores, porém com valores inferiores durante todo o período (Figura 2D). Apenas os tratamentos com AJ e Stimulate[®] induziram valores de RPF acima do observado nas plantas controle, aos 35 dias após a primeira aplicação (Figura 2D). A RPF representa a porção foliar da massa da matéria total da planta, demonstrando o investimento feito pela planta na produção de estruturas fotossintetizantes (CAIRO et al., 2008). Desta forma, infere-se que a aplicação dos biorreguladores testados promoveu uma redução da massa de folhas em relação à massa total da planta, embora isso não tenha se refletido na eficiência de fixação do carbono durante todo o período analisado.

CONCLUSÕES

A aplicação foliar de biorreguladores vegetais é uma técnica viável para manipulação do crescimento de plantas de *Lippia origanoides* Kunth. Pulverizações foliares de BAP, GA₃, AAS, AJ e Stimulate[®] aumentam a eficiência na acumulação de massa seca destas plantas 35 dias após a primeira aplicação. A aplicação de BAP, AAS e AJ reduz a crescimento em altura das plantas desta espécie;

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UEFS pelo apoio ao projeto de pesquisa, a CAPES e a FAPESB pela concessão de bolsas de estudo, aos funcionários e estudantes da Unidade Experimental Horto Florestal pelo apoio na montagem do experimento, a Renata Ferreira

e Áurea Manuela pelo auxílio durante o experimento, a Prof^a Dra. Claudinéia Regina Pelacani pela disponibilização de material e ao Prof. Dr. Elvis Lima Vieira, do Centro de Ciências Agrárias da UFRB, pela concessão do bioestimulante vegetal Stimulate[®].

REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- BARREIRO, A.P. et al. Análise de crescimento de plantas de manjeriço tratadas com reguladores vegetais. **Bragantia**, v. 65, n. 4, p. 563-567, 2006.
- 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.
- CAIRO, P.A.R.; OLIVEIRA, L.E.M.; MESQUITA, A.C. **Análise de Crescimento de Plantas**. 1 ed, Vitória da Conquista: Edições UESB, 2008, 72p.
- CAMPOS, M.F. et al. Análise de crescimento em plantas de soja tratadas com substâncias reguladoras. **Biotemas**, v. 21, n. 3, p. 53-63, 2008.
- CARVALHO, J.A.B.S. et al. Uso da giberelina GA₃ na seleção do porte de bananeira das cultivares prata e prata-anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 3, p. 449-453, 2005.
- CIPOLLINI, D.; PURRINGTON, C.B.; BERGELSON, J. Costs of induced responses in plants. **Basic and applied ecology**, v. 4, p. 79-85, 2003.
- DESCHAMPS, C. & SIMON, J.E. Terpenoid essential oil metabolism in basil (*Ocimum basilicum* L.) following elicitation. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p. 618-621, 2006.
- ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp. essential oils and their major components. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 184-190, 2010.
- FELIPPE, G.M. **Desenvolvimento**. In: FERRI, M.G. Fisiologia Vegetal, v.2, 2 ed., São Paulo: E.P.U., 1979. 401p.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR**: Programa estatístico experimental, versão 5.3. 5.ed. Lavras: UFLA. 2010.
- FRANÇA, S.C. **Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4.ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade / UFRGS / UFSC., 2002. 833p.
- GOVAERTS, R. & ATKINS, S. **World Checklist of Verbenaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp/synonymy.do?name_id=113656>. Acesso em: 07/03/2012.
- HARFOUCHE, A.L. et al. Salicylic acid induces H₂O₂ production and endochitinase gene expression but not ethylene biosynthesis in *Castanea sativa* in vitro model system. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 734 -744, 2008.

JÚNIOR, A.W. et al. Ácido giberélico no crescimento inicial de mudas de pessegueiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1035-1039, 2008.

MENEZES, H. Imunidade inata e específica em plantas, **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 30, n. 2, p. 195-212, 2009.

MING, L.C. et al. **Manejo e cultivo de plantas medicinais: algumas reflexões sobre perspectivas e necessidades no Brasil**. In: COELHO, M.F.B.; COSTA JUNIOR, P.; DOMBROSKI, J.L.D. Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais: anais do I Seminário Mato-grossense de Etnobiologia e Etnoecologia e II Seminário Centro-Oeste de Plantas Medicinais. Cuiabá: Unicen, 2003. p.149-156.

OLIVEIRA, A. et al. Efeito de reguladores vegetais no desenvolvimento de mudas de *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 9-13, 2005.

OLIVEIRA, D.R. et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chemistry**, v. 101, p. 236–240, 2007.

OLIVEIRA, L.M. et al. Propagação vegetativa de *Hyptis leucocephala* Mart. ex Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart ex Benth. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 1, p. 73-78, 2011.

PASCUAL, M.E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201-214, 2001.

POVH, J.A. & ONO, E.O. Crescimento de plantas de *Salvia officinalis* sob ação de reguladores de crescimento vegetal. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2186-2190, 2008.

RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento in vitro de porta-enxertos de macieira ‘M-9’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 624-628, 2002.

SANTOS, H.S. et al. Cytotoxic Naphthoquinones from Roots of *Lippia microphylla* Cham. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, p. 5117-5120, 2003.

STEFANINI, M.B.; RODRIGUES, S.D.; MING, L.C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 18-23, 2002.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p

ZHAO, J.; DAVIS, L.C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 283–333, 2005.

CAPÍTULO III

BIORREGULADORES VEGETAIS NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* KUNTH

BIORREGULADORES VEGETAIS NA PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* KUNTH

SILVA, G.C.^{1*}; OLIVEIRA, L.M.¹; LUCCHESI, A.M.²; SILVA, T. R. S.¹

¹Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana-Bahia, Brasil. *gabicarinhanha@gmail.com ²Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana-Bahia, Brasil.

RESUMO: Considerando a utilização popular de *Lippia origanoides* no tratamento de doenças respiratórias e gastrointestinais, e a ação antisséptica de seu óleo essencial, este trabalho objetivou avaliar o efeito de pulverizações foliares com substâncias reguladoras do metabolismo vegetal sobre a produção de óleo essencial e a sua composição química em plantas de *L. origanoides*. As plantas receberam três pulverizações foliares, com intervalos de 14 dias, dos tratamentos: ácido giberélico (100 mg L⁻¹); 6-benzilaminopurina (100 mg L⁻¹); ácido jasmônico (0,105 mg L⁻¹); ácido acetilsalicílico (90,08 mg L⁻¹); Stimulate® (2%) e água destilada (Testemunha). Sete dias após cada aplicação, três plantas foram coletadas de forma aleatória de cada tratamento e tiveram a parte aérea colhida e as folhas e inflorescências utilizadas para a obtenção do óleo essencial por hidrodestilação, tendo seu rendimento por planta e teor na matéria seca calculados e analisados estatisticamente. Posteriormente, foram identificados e quantificados os componentes químicos de cada repetição, tendo as concentrações dos componentes majoritários analisadas estatisticamente. O ácido jasmônico e o Stimulate® promovem os maiores teores de óleo essencial em *L. origanoides*. Os componentes majoritários do óleo foram carvacrol, γ -terpineno, ρ -cimeno, (E)-cariofileno, biciclogermacreno e timol. Em geral, as concentrações destes compostos variam com a época de colheita e com a aplicação dos biorreguladores 6-benzilaminopurina, ácido acetilsalicílico, ácido jasmônico e Stimulate®.

Palavras-chave: Planta medicinal, alecrim-de-tabuleiro, metabolismo secundário.

ABSTRACT: Having in mind the popular use of *Lippia origanoides* in the treatment of respiratory and gastrointestinal ailments, and the antiseptic action of its essential oil, this study aimed to evaluate the effect of leaves sprays with substances that stimulate plant

metabolism on the production of essential oil and its chemical composition of plants of this species under cultivation. The plants received three sprays, at 14 days of intervals, of the treatments: gibberellic acid (100 mg L^{-1}), 6-benzylaminopurine (100 mg L^{-1}), jasmonic acid (0.105 mg L^{-1}), acetylsalicylic acid (90.08 mg L^{-1}); Stimulate[®] (2%) and distilled water (control). Seven days after each application, three random plants aerial parts from each treatment were harvested and the leaves and flowers used to obtain the essential oil by hydrodistillation, and its yield per plant and content in dry matter calculated and analyzed statistically. Subsequently, we identified and quantified the chemical components of each repetition, and the concentrations of the major components analyzed statistically. The Stimulate[®] and jasmonic acid promoted the greatest concentration of oil at the last cropping season. The major components were carvacrol, γ -terpinene, p -cymene, (E)-caryophyllene, bicyclogermacrene and thymol. In general, the concentrations of these compounds vary with the harvest season and the application of bioregulators 6-benzilaminopurina, acetylsalicylic acid, jasmonic acid and Stimulate[®].

Keywords: Medicinal plant, alecrim-de-tabuleiro, secondary metabolism.

INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia*, família Verbenaceae, compreende 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores distribuídas principalmente na América do Sul e Central e África (JUDD et al., 2007). Destas espécies, 35 são encontradas no semiárido brasileiro (GIULIETTI et al., 2006). Muitas de suas espécies apresentam extenso uso popular como plantas medicinais e condimentares, produzindo metabólitos secundários com ampla ação biológica (PASCUAL et al., 2001).

Lippia organoides Kunth (1818) (sin. *Lippia berteroi* Spreng. (1825), *Lippia microphylla* Benth. (1840), *Lippia schomburgkiana* Schauer (1847) e *Lippia organoides* var. *sampaionis* Herter (1916)) segundo Govaerts & Atkins (2012)), conhecida popularmente como alecrim-de-tabuleiro, é encontrada em países da América do Sul, como Colômbia, Venezuela, Brasil e Guiana (PASCUAL et al., 2001), apresentando elevado potencial fitoquímico. Esta espécie tem amplo uso na medicina popular no tratamento de distúrbios gastrointestinais e complicações respiratórias, sendo ainda utilizada como antisséptico em geral (PASCUAL et al., 2001; AGRA et al., 2007).

Além de outros compostos com ação citotóxica contra células neoplásicas

(SANTOS et al., 2003), antioxidantes e inibidoras da acetilcolinesterase (MORAIS et al., 2008), este arbusto aromático é produtor de óleo essencial, composto principalmente por carvacrol, timol, ρ -cimeno e γ -terpineno (OLIVEIRA et al., 2007), compreendendo de 1,0% (OLIVEIRA et al., 2007) a 4,6% (CAVALCANTE et al., 2009) da matéria seca das folhas, com ação contra bactérias, fungos (OLIVEIRA et al., 2007) e protozoários patogênicos e células neoplásicas humanas (ESCOBAR et al., 2010).

Apesar do grande potencial econômico e farmacológico, ainda não existem metodologias agrícolas específicas para essa espécie, que possibilitem seu cultivo ou exploração sustentável e, conseqüentemente, sua utilização industrial de maneira viável. No cultivo de plantas medicinais é importante a realização de práticas agrícolas adequadas que possibilitem a manutenção da qualidade do material vegetal produzido e, para tanto, faz-se necessária a adoção de procedimentos específicos para cada espécie (CORRÊA JÚNIOR & SCHEFFER, 2001), tendo em vista que o rigor em relação à qualidade da matéria-prima utilizada na produção de fitoterápicos é cada vez mais alto, considerando que a qualidade do medicamento depende diretamente da qualidade da matéria-prima utilizada (MONTANARI Jr, 2001).

Vários aspectos são levados em conta quando se refere à qualidade do material vegetal na produção de fitoterápicos, sendo o teor do princípio ativo nos tecidos o mais relevante e o que tem limitado a produção comercial em muitas espécies (MAGALHÃES, 2001). Assim, visando aumentar a produtividade de culturas de plantas com metabólitos secundários de interesse comercial, como os óleos essenciais, estudos vêm testando metodologias que intensifiquem os processos fisiológicos ligados à síntese destes compostos. Diferentes épocas de colheita (COSTA et al., 2007) e aplicações de hormônios e reguladores vegetais de crescimento (SILVA et al., 2005; SCAVRONI et al., 2006), bem como de substâncias sinalizadoras de ataque de patógenos e herbívoros em plantas (DESCHAMPS & SIMON, 2006) vem sendo investigadas em culturas com esta finalidade.

Para a espécie *Lippia origanoides*, assim como a maior parte das plantas medicinais nativas do Brasil, este tipo de estudo encontra-se ainda bastante escasso. Portanto, este trabalho objetivou a investigação do efeito de pulverizações foliares de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth com biorreguladores vegetais sobre o conteúdo e a composição de óleo essencial em três épocas de colheita.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas utilizadas neste experimento foram produzidas por propagação vegetativa (Figura 1.B-C), a partir de estacas apicais de espécimes da Coleção de Plantas Aromáticas da Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil (Figura 1.A) (identificação realizada pela taxonomista Tânia Regina dos Santos Silva, com Voucher depositado no HUEFS sob número 83.373).

O experimento foi realizado em Feira de Santana-BA, com temperatura anual média da região de 24°C e a pluviosidade média de 848 mm, estando a 257 metros de altitude na latitude de 12°16'00" Sul e longitude de 38°58'00" Oeste. Mudanças com 45 dias de cultivo (Figura 1.D) foram transplantadas para tubos de PVC (cloreto de polivinila rígido) com 60 cm de altura, 25 cm de diâmetro e capacidade para 15 litros, amparados por pratos plásticos (Figura 1.E). Os tubos foram preenchidos com terra vegetal e esterco bovino na proporção de 5:1 e fertilizante superfosfato simples (18% de P₂O₅) na proporção de 1 kg por m³ da mistura.

Oito meses após o transplante iniciou-se a aplicação dos tratamentos, realizando-se três aplicações com 14 dias de intervalo entre elas. Os tratamentos foram aplicados entre os horários de seis e sete da manhã com pulverizador de pressão manual com capacidade de 0,5L, aplicando-se o volume de 15 mL por planta, sobre as folhas, deixando-as com aspecto orvalhado (Figura 1.F). Os tratamentos testados foram: ácido giberélico (GA₃) a 100 mg L⁻¹, 6-benzilaminopurina (BAP) a 100 mg L⁻¹, ácido jasmônico (AJ) a 0,105 mg L⁻¹, ácido acetilsalicílico (AAS) a 90,08 mg L⁻¹ e o bioestimulante vegetal Stimulate[®] a 2% (composto por 0,09 g L⁻¹ de cinetina, 0,05 g L⁻¹ de ácido indolbutírico e 0,05 g L⁻¹ de GA₃). Como controle, as plantas foram pulverizadas com o mesmo volume de água destilada..

Passados sete dias de cada aplicação, a parte aérea de três plantas, sorteadas aleatoriamente dentro de cada tratamento, foi coletada e encaminhada ao Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos (UEFS) para obtenção do óleo essencial. Para tanto, foi realizada 3 horas de hidrodestilação em aparelhos tipo Clevenger (Figura 1.H-I), utilizando-se folhas e inflorescências frescas de cada planta (Figura 1.G), totalizando três amostras por tratamento em cada época de colheita. Posteriormente, a fase oleosa foi separada do hidrolato através de adição por três vezes de 3 mL de diclorometano, com separação das fases com funil de separação (Figura 1.J). Finalmente, foi adicionado cerca de 0,05 g de sulfato de sódio anidro à solução contendo óleo e diclorometano. Após ser

filtrada, permaneceu em câmara com circulação de ar por 24 horas à temperatura ambiente para a evaporação do solvente (Figura 1.K), sendo pesado o óleo essencial restante. Um grama do material vegetal de cada repetição foi anteriormente separado e levado à estufa com circulação forçada de ar a 70°C até peso constante, para o cálculo da porcentagem de umidade do material utilizado. O teor de óleo essencial foi calculado a partir da fórmula: $\text{Teor} = \text{massa do óleo essencial} / \text{massa da matéria seca do material vegetal utilizado} * 100$. O rendimento de óleo essencial por planta correspondeu à massa de óleo essencial obtido de folhas e inflorescências de cada planta.

A identificação e a quantificação dos componentes do óleo essencial foi feita através da combinação de aparelho Cromatógrafo a gás Varian CP-3380 (Figura 1.L), operando com sistema de processamento de dados Star Integrator (versão 4.51), equipado com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar Chrompack CP-SIL 5 (30m x 0,5mm, espessura de filme 0.25 µm), e de aparelho Cromatógrafo a gás Shimadzu CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu, com injetor automático AOC-500, utilizando coluna capilar DB-5ms (30m x 0,25mm, espessura de filme 0.25µm), pertencente à Universidade Federal de Sergipe, Aracaju - SE. Ambos os aparelhos foram programados com temperatura do forno: 60°C a 240°C (3°C/min), 240°C (20min); temperatura do injetor 220°C; gás de arraste hélio (1mL/min); relação de split de 1:50 a 1:200; temperatura da interface: 240°C; temperatura da fonte de ionização: 240°C; energia de ionização 70 eV; corrente de ionização: 0,7kV. Cada pico do cromatograma foi identificado pelo seu espectro de massas, por comparação com a biblioteca do equipamento (Wiley Nist 21 e Nist 72), através de verificação de índice de Kovats calculado em fontes da literatura (ADAMS, 1995; JOULAIN & KONIG, 1998) e injeções de padrões autênticos. Os seis componentes majoritários tiveram as suas concentrações analisadas estatisticamente em relação aos tratamentos aplicados.

A massa da matéria seca de folhas e inflorescências, o rendimento de óleo essencial por planta, o teor de óleo essencial na matéria seca das folhas e flores e as concentrações dos componentes majoritários foram submetidos à análise de variância pelo teste de F e posteriormente aos testes de média Scott-Knott, para comparação entre os biorreguladores vegetais, e ao teste de Tukey para comparação entre as épocas de colheita, respectivamente, a 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2010).

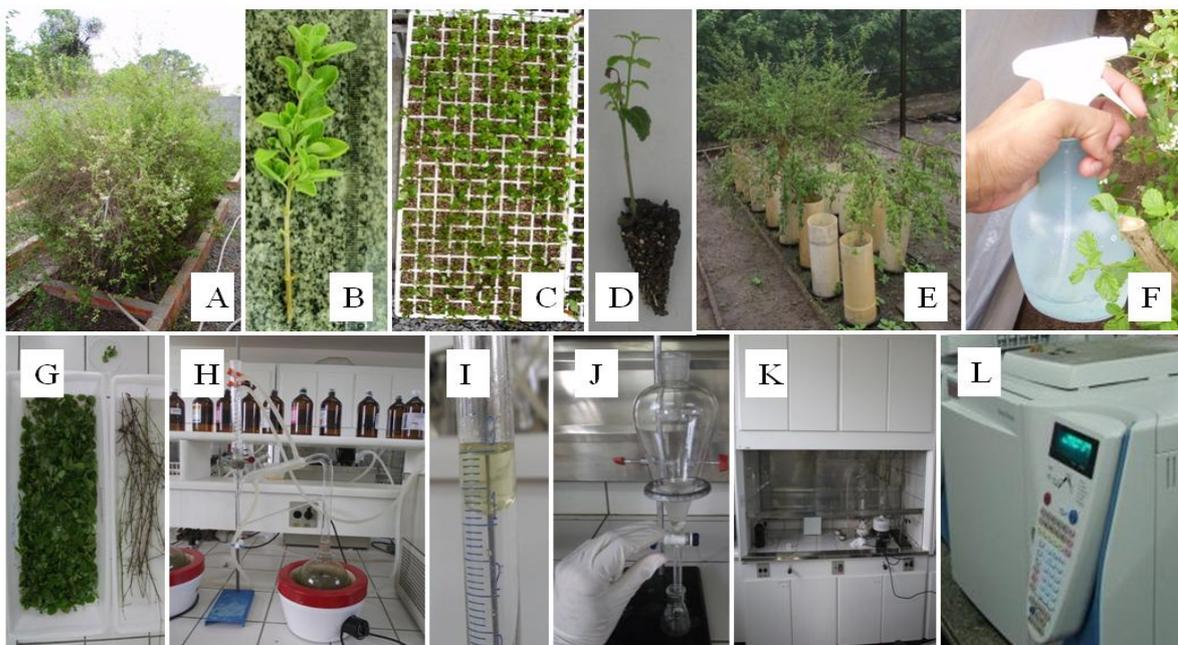


Figura 1: A - Plantas de *Lippia origanoides* Kunth da coleção de plantas aromáticas da Unidade Experimental Horto Florestal - UEFS; B - Estaca de *L. origanoides*. C - Estacas de *L. origanoides* cultivadas em bandejas de poliestireno; D - Mudas de *L. origanoides*; E – Plantas cultivadas em tubos de PVC em casa de vegetação; F – Pulverização manual dos biorreguladores sobre a parte aérea das plantas; G – Separação de folhas e inflorescências para obtenção do óleo; H – Aparelho de hidrodestilação tipo Clevenger; I – Óleo essencial obtido após 3 horas de destilação; J – Separação líquido/líquido (óleo essencial + diclorometano/hidrolato); K – Câmara com circulação de ar; L – Cromatógrafo a gás. Feira de Santana-BA, 2012.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, no qual os biorreguladores vegetais constituíram as parcelas e as épocas de colheita as subparcelas. Para cada época foram utilizadas três repetições por tratamento, constituídas por uma planta cada, totalizando 54 plantas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo os resultados da análise de variância, a interação entre os biorreguladores vegetais e as épocas de colheita, assim como estes fatores de variação de forma isolada, não foram significativos para a variável massa da matéria seca de folhas e inflorescências ($p > 0,05$). Porém, para a variável rendimento de óleo essencial por planta a interação mostrou-se significativa ($p < 0,05$) e para o teor de óleo essencial mostrou-se altamente significativa ($p < 0,01$) (Anexo C).

A média geral de massa da matéria seca de folhas e inflorescências foi de 27,17g por planta. O rendimento de óleo essencial por planta na primeira e na terceira época de colheita não apresentou alteração em relação à utilização das substâncias estimuladoras aplicadas (Tabela 1). Na segunda época, o uso de BAP, AAS, AJ e Stimulate[®] promoveu redução no rendimento de óleo essencial por planta em relação ao tratamento testemunha.

Em relação à época de colheita, o rendimento de óleo do tratamento testemunha apresentou um aumento da primeira para a segunda, seguido de um regresso ao nível inicial observado na terceira colheita. Com o uso de AJ e AAS não foi constatado alteração do rendimento ao longo do tempo. Por outro lado, os biorreguladores vegetais BAP, Stimulate[®] e GA₃ promoveram o aumento do rendimento na terceira colheita em relação à primeira. O rendimento de óleo essencial por planta apresentou coeficientes de variação elevados, provavelmente devido a diferenças aleatórias no crescimento inicial das plantas, antes da aplicação dos tratamentos, tendo em vista que estas plantas não sofreram poda para padronização do tamanho para não causar influência na produção e composição do óleo.

Plantas da espécie *Ocimum selloi* Benth. não tratadas com biorreguladores apresentaram comportamento quadrático em relação ao tempo de coleta, semelhante ao observado nas plantas testemunha do presente trabalho (COSTA et al., 2007). Diferente dos resultados obtidos no atual estudo, a aplicação de 100 mg L⁻¹ de GA₃ em plantas de *Salvia officinalis* L. promoveu o aumento do rendimento de óleo por planta comparado a plantas controle, observado também com a aplicação de Stimulate[®]. Por outro lado, o uso de 100mg L⁻¹ de BAP também ocasionou redução na produtividade de terpenos voláteis nestas plantas (POVH & ONO, 2008).

Tabela 1: Média de massa da matéria seca, rendimento e teor de óleo essencial de folhas e inflorescências de plantas cultivadas de *Lippia organoides* Kunth submetidas a pulverizações foliares com ácido giberélico (GA₃), 6-benzilaminopurina (BAP), ácido acetilsalicílico (AAS), ácido jasmônico (AJ), Stimulate[®] e água destilada (Testemunha), em três épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Tratamento	Colheitas			Média
	1ª época	2ª época	3ª época	
Massa da matéria seca de folhas e inflorescências (g)				
GA ₃	22,64	33,48	32,24	29,45
BAP	11,45	20,72	24,47	18,88
AAS	19,68	18,96	23,29	20,64
AJ	34,84	22,25	20,73	25,94
Stimulate [®]	16,52	12,31	27,80	18,87
Testemunha	23,18	34,15	25,32	27,55
Média	21,38	23,64	25,64	
Rendimento de óleo (g planta ⁻¹)				
GA ₃	0,417aB*	0,704aAB	0,879aA	0,667
BAP	0,247aB	0,434bA	0,584aA	0,422
AAS	0,438aA	0,475bA	0,672aA	0,528
AJ	0,476aA	0,483bA	0,681aA	0,547
Stimulate [®]	0,216aB	0,323bB	0,841aA	0,460
Testemunha	0,581aB	1,007aA	0,579aB	0,722
Média	0,396	0,571	0,706	
CV 1 (%)	38,62			
CV 2 (%)	31,77			
Teor de óleo (%)				
GA ₃	2,13aB	2,13cB	2,74bA	2,33
BAP	2,22aA	2,04cA	2,35cA	2,20
AAS	2,24aB	2,49bAB	2,89bA	2,54
AJ	1,30bC	2,14cB	3,28aA	2,24
Stimulate [®]	1,33bC	2,60bB	3,16aA	2,36
Testemunha	2,36aB	2,99aA	2,32cB	2,56
Média	1,93	2,40	2,79	
CV 1 (%)	10,09			
CV 2 (%)	10,63			

*Médias seguidas por mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não têm diferença estatística segundo os testes de Scott-Knott e Tukey, respectivamente, a 5 % de probabilidade de erro. CV1: referente às parcelas (estimulador), CV2: referente às subparcelas (épocas de colheita).

Em relação ao teor de óleo essencial, na primeira colheita os biorreguladores vegetais AJ e Stimulate[®] promoveram reduzida porcentagem de óleo em folhas e inflorescências em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Na segunda época, todos os biorreguladores vegetais promoveram teores inferiores quando comparados à testemunha. Já na terceira colheita, as aplicações de GA₃, AAS, AJ e Stimulate[®] promoveram aumento do teor de óleo de 18%, 24%, 70% e 70%, respectivamente, comparados à testemunha. Em relação às épocas de colheita, a utilização de GA₃, AAS, AJ e Stimulate[®] promoveu aumento do teor de óleo ao longo do tempo, enquanto que com o uso de BAP não houve alteração desta variável entre as colheitas. Sem o uso de biorreguladores vegetais, o teor de óleo apresentou aumento da primeira para a segunda e redução da segunda para a terceira época (Tabela 1).

O comportamento na acumulação de óleo essencial observado em plantas do tratamento testemunha também foi observado em plantas não tratadas de *Ocimum selloi* Benth., havendo uma idade intermediária com maior produtividade (COSTA et al., 2007). O conteúdo de óleo essencial é um caráter bastante variável, sofrendo influência de diversos fatores, como condições ambientais, hora e período de colheita. Isto foi observado para a espécie *L. origanoides*, que no Pará apresentou teor de óleo de 1% da massa seca das folhas (OLIVEIRA et al., 2007), no Piauí apresentou teor de 4,6% (CAVALCANTE et al., 2009) e na Colômbia, variou de 1,0% a 4,4% (ESCOBAR et al., 2010). Seu teor também apresentou variação de 1,5%, 0,7% e 1,3% ao longo do dia (SILVA et al., 2009).

Em relação à aplicação de biorreguladores, a resposta da acumulação de óleo essencial apresenta alta divergência entre espécies e ao tempo de colheita. Plantas de *Rosa damascena* Mill. tratadas com cinetina (citocinina) e ácido naftalenoacético (auxina) apresentaram aumento do conteúdo de óleo essencial da matéria fresca, porém, com o uso de GA₃ foi observada redução no teor destes metabólitos (SAFFARI et al., 2004). Por outro lado, Scavroni et al. (2006) observaram menor acumulação de óleo essencial em detrimento da produção de matéria seca da parte aérea de plantas de *Mentha piperita* L. com o uso de 50 mg L⁻¹ da citocinina BAP aos 15 e 30 dias após a implantação do experimento. Com o uso de 50 mg L⁻¹ de GA₃ foi observado aumento na acumulação de biomassa da parte aérea no 30º dia, porém, sem afetar a porcentagem de óleo essencial.

O mecanismo de ação de giberelinas sobre a produção de óleos essenciais ainda não está bem estabelecido. Sabe-se, contudo, que a aplicação exógena de giberelinas em plantas provoca a inibição da produção de enzimas de síntese e aumento da síntese de enzimas de degradação destes hormônios (TAIZ & ZEIGER, 2009). Tendo em vista que as

giberelinas são compostos terpênicos e sua via inicial de síntese até a produção de geranylgeranyl difosfato é a mesma de muitos compostos dos óleos essenciais (TAIZ & ZEIGER, 2009), sugere-se que a redução na produção destes fitormônios provocada pela aplicação exógena reduziu a competição por substrato entre estas vias, culminando na elevação da síntese e acumulação de óleos essenciais observada nas plantas de *L. origanoides* tratadas com GA₃ e Stimulate[®] na terceira época de colheita. O maior teor observado com o uso deste último pode ser atribuído a um sinergismo entre os reguladores presentes neste bioestimulante vegetal, causando a potencialização do resultado obtido só com a aplicação de GA₃.

A influência do AJ sobre a produção de metabólitos de defesa está bem estabelecida, atuando na fisiologia da resposta ao ataque de organismos patogênicos e herbívoros na planta (ZHAO et al., 2005). Este composto é sintetizado através de uma cadeia de reações químicas ativada pelo reconhecimento por receptores de membrana de substâncias oriundas do organismo agressor e pelo dano à membrana celular vegetal causado por herbivoria ou fitopatógenos (YUE et al., 2001; ZHAO et al., 2005). O AJ e seu derivado, o metil jasmonato, provocam uma série de alterações citoplasmáticas que culmina na expressão de genes de defesa, com isso, ativando a síntese de metabólitos secundários como alcaloides, terpenoides e flavonoides (ZHAO et al., 2005).

De maneira semelhante, o aumento do teor de óleo provocado por AAS deve estar associado à ativação, por este sinalizador vegetal, de defesas contra organismos parasitas ou predadores de plantas, podendo este aumento estar relacionado com a resposta sistêmica adquirida (RSA). A RSA é conhecidamente promovida após sinalização química realizada pelas células vegetais danificadas através da produção e difusão do AS para as células intactas, ativando nestas últimos mecanismos de proteção específicos contra o determinado organismo (ZHAO et al., 2005; TAIZ & ZEIGER, 2009; MENEZES, 2009).

Cromatograma de uma das amostras encontra-se no anexo D e o quadro contendo todos os componestes quantificados com suas concentrações em cada tratamento por época de colheita está disposto no anexo E. Os componentes identificados nos óleos essenciais produzidos neste experimento são apresentados no quadro 1. No presente estudo, foi quantificado no total 85 compostos dos quais 22 foram identificados correspondendo a 93,77% do óleo essencial. Os compostos encontrados em maior concentração foram carvacrol (46,39%), γ -terpineno (9,99%), *p*-cimeno (8,15%), (E)-cariofileno (4,72%), biciclogermacreno (18) (4,73%) e timol (3,80%). Oliveira et al. (2007) também verificaram em plantas de *L. origanoides* cultivadas no estado do Pará a ocorrência de

carvacrol, ambos os fatores de variação apresentaram influência sobre as concentrações de maneira isolada ($p < 0,01$). Porém, para ρ -cimeno e γ -terpineno, apenas a época de colheita promoveu ação sobre as concentrações ($p < 0,01$). Já para o biciclogermacreno somente os biorreguladores vegetais tiveram efeito significativo sobre as concentrações ($p < 0,05$). Para o (E)-cariofileno tanto os biorreguladores vegetais quanto as épocas de colheita não apresentaram efeito sobre sua concentração ($p > 0,05$) (Anexo C).

Quadro 1: Componentes químicos identificados e seus respectivos índices de Kovats calculados (IK_C), índices de Kovats da literatura (Ik_L), amplitudes e médias de suas concentrações dos óleos essenciais das plantas de *Lippia origanoides* Kunth produzidas no experimento. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Compostos	IK_C	Ik_L	Amplitude (%)	Média Geral (%)
(E)-2-hexenal	850	855	0,46 – 1,38	0,90
α -fencheno	955-954	952	0,05 – 0,54	0,30
mirreno	991-992	990	1,15 – 2,18	1,88
α -terpineno	1020	1017	1,06 – 1,82	1,58
ρ -cimeno	1028-1029	1024	6,18 – 9,46	8,15
limoneno	1033-1034	1029	0,22 – 0,44	0,34
γ -terpineno	1063-1064	1059	8,13 – 11,36	9,99
Linalol	1099-1100	1098	1,07 – 3,97	2,60
Cânfora	1147-1149	1146	0,5 – 1,41	0,93
epóxido de rosefurano	1169-1170	1180	0,21 – 0,67	0,42
terpinen-4-ol	1180-1181	1177	0,32 – 0,49	0,44
metil timol	1235-1236	1235	2,32 – 2,81	2,61
Timol	1288-1289	1290	3,19 – 5,08	3,80
carvacrol	1300	1299	41,91 – 53,2	46,39
acetato de carvacrol	1372-1373	1372	0,28 – 0,50	0,38
(E)-cariofileno	1426-1428	1419	4,23 – 5,35	4,72
α -guaiano	1445-1447	1439	0,37 – 0,64	0,51
α -humuleno	1459 – 1462	1454	1,2 – 1,55	1,36
biciclogermacreno	1502-1503	1500	4,06 – 5,46	4,73
α -7-epi-selineno	1523-1525	1522	0,27 – 0,35	0,31
espatulenol	1583-1585	1578	0,71 – 1,11	0,89
óxido de cariofileno	1590 – 1591	1583	0,40 – 0,64	0,53
Total identificado				93,77
Total não identificado				6,33

Os compostos ρ -cimeno e γ -terpineno apresentaram o mesmo comportamento frente às épocas de colheita, tendo um aumento de suas concentrações da primeira para a segunda (Tabela 2). Em contrapartida, o timol e o carvacrol apresentaram redução em suas concentrações com o tempo.

Diversos trabalhos têm demonstrado que diferenças nas concentrações dos componentes majoritários do óleo podem ser atribuídas a fatores ambientais. Silva et al. (2009) verificaram grande variação diária no teor dos componentes majoritários de *L. origanoides* na qual as coletas realizadas entre as 8 e 18 horas do dia apresentaram concentrações de timol altamente elevadas, atingindo 53,23% e 56,01% do óleo, respectivamente, enquanto que as concentrações de carvacrol nestes horários foram inferiores a 1%, entretanto, no horário de 12 horas o timol passou a ter concentração de 5,33% e o carvacrol tornou-se o componente majoritário com 42,88%. Oliveira et al. (2011) observaram para em plantas desta espécie cultivadas em Manaus-AM, no inverno, o carvacrol representou 48,8% e o timol 9,4% do óleo essencial, enquanto que no verão estes compostos apresentaram porcentagens de 39,2% e 6,5%, respectivamente. Contudo, assim como no atual trabalho (Tabela 2), as alterações nas concentrações dos componentes majoritários provocadas pelos fatores de variação estudados não foram suficientemente elevadas para causar uma modificação substancial no padrão de composição do óleo do alecrim-de-tabuleiro, apesar de as diferenças terem sido estatisticamente significativas.

Os compostos timol e carvacrol também tiveram suas concentrações aumentadas com o uso dos biorreguladores BAP, AAS, AJ e Stimulate[®] na última coleta (Tabela 2). Estes mesmos biorreguladores vegetais apresentaram efeito oposto sobre o conteúdo de biciclogermacreno, promovendo a redução de sua concentração comparada ao tratamento testemunha. O aumento da concentração de ρ -cimeno e γ -terpineno e a redução de o timol e o carvacrol com o tempo deve-se ao fato de os dois primeiros compostos serem precursores dos dois últimos (HYLDGAARD et al., 2012). Isto significa que houve progressiva redução na síntese de timol e carvacrol ao longo do tempo, provocando, por consequência, a acumulação de ρ -cimeno e γ -terpineno nas plantas de *L. origanoides*.

Tabela 2: Concentração dos seis principais componentes majoritários do óleo essencial de folhas e inflorescências de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth submetidas a três pulverizações foliares com ácido giberélico (GA₃), 6-benzilaminopurina (BAP), ácido acetilsalicílico (AAS), ácido jasmônico (AJ), Stimulate[®] e água destilada (testemunha), e avaliadas em três épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Tratamento	Épocas de coleta			Média	Tratamento	Épocas de coleta			Média
	1 ^a	2 ^a	3 ^a			1 ^a	2 ^a	3 ^a	
p-cimeno					carvacrol				
GA ₃	7,85	8,21	9,12	8,39a	GA ₃	47,23	47,02	42,06	45,44b
BAP	6,18	8,55	8,91	7,88a	BAP	52,31	46,52	43,75	47,53a
AAS	7,33	7,82	8,93	8,03a	AAS	49,14	45,40	44,85	46,46a
AJ	7,23	8,77	9,09	8,37a	AJ	48,11	47,97	46,39	47,49a
Stimulate [®]	6,26	7,56	8,63	7,49a	Stimulate [®]	53,20	47,80	43,12	48,04a
Testemunha	8,12	9,46	8,68	8,75a	Testemunha	45,73	42,52	41,92	43,39b
Média	7,16B	8,40A	8,89A		Média	49,29A	46,21B	43,68C	
CV 1 (%)	11,17				CV 1 (%)	5,44			
CV 2 (%)	11,22				CV 2 (%)	5,77			
γ-terpineno					(E)-cariofileno				
GA ₃	9,61	9,57	10,34	9,84a	GA ₃	4,58	4,97	5,09	4,88a
BAP	7,75	10,99	11,36	10,03a	BAP	4,29	4,56	4,49	4,45a
AAS	9,07	11,33	10,94	10,45a	AAS	4,33	4,88	4,56	4,59a
AJ	8,13	9,92	10,19	9,42a	AJ	4,89	4,44	4,72	4,68a
Stimulate [®]	8,63	10,94	10,57	10,05a	Stimulate [®]	4,42	4,23	5,06	4,57a
Testemunha	10,16	10,17	10,14	10,16a	Testemunha	4,85	5,18	5,35	5,12a
Média	8,89B	10,49A	10,59 A		Média	4,56A	4,71A	4,88A	
CV 1 (%)	9,47				CV 1 (%)	9,67			
CV 2 (%)	9,36				CV 2 (%)	9,29			
timol					biciclogermacreno				
GA ₃	3,72	3,75	3,19	3,56b	GA ₃	4,84	5,04	5,11	4,99a
BAP	4,39	3,90	3,39	3,90a	BAP	4,06	4,35	4,79	4,40b
AAS	3,94	3,84	3,72	3,84a	AAS	4,59	5,02	4,52	4,71b
AJ	3,90	3,93	3,66	3,83a	AJ	5,17	4,89	4,53	4,60b
Stimulate [®]	5,08	4,32	3,53	4,31a	Stimulate [®]	4,09	4,36	5,46	4,64b
Testemunha	3,65	3,33	3,19	3,39b	Testemunha	4,91	4,87	5,34	5,04a
Média	4,11A	3,84A	3,45B		Média	4,61A	4,62A	4,96A	
CV 1 (%)	9,33				CV 1 (%)	7,22			
CV 2 (%)	9,29				CV 2 (%)	11,56			

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não apresentam

diferença significativa segundo os testes estatísticos Scott-Knott e Tukey, respectivamente, a 5% de probabilidade de erro. CV 1: referente às parcelas (biorreguladores vegetais), CV 2: referente às subparcelas (época de coleta).

A adição de ácido indol-3-acético (auxina) e BAP no meio de crescimento do cultivo *in vitro* de *Melissa officinalis* L., segundo Silva et al. (2005), promoveu atraso na reação de oxidação dos álcoois nerol e geraniol para a produção dos neral e geranial, respectivamente, causando o aumento da concentração dos dois primeiros. Scavroni et al. (2006) verificaram um aumento na concentração de mentona no óleo essencial de *Mentha piperita* L. com a aplicação de 50 mg L⁻¹ de BAP, aos 15 dias após a montagem do experimento, contudo, aos 30 dias houve redução na porcentagem de mentona e terpinoleno comparados ao controle. Por outro lado, em ambas as épocas de colheita não foram observadas interferência da utilização do regulador GA₃ em mesma concentração sobre a proporção dos compostos do óleo essencial desta espécie.

Yue et al. (2001) observaram que a pulverização de ácido jasmônico em plantas de *Festuca arundinacea* Schreb. cultivadas em casa de vegetação promoveu o aumento em até mais de 200 vezes da acumulação dos monoterpenos (E)-β-ocimeno (20), (Z)-β-ocimeno/(E)-α-ocimeno (21) e (E,Z)-allo-ocimeno (Figura S). Já a aplicação de 0,1 mM de metil jasmonato em plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas em sistema hidropônico produziu uma redução inicial da concentração dos principais componentes do óleo essencial, β-cariofileno, linalol, 1,8-cineno e limoneno, seguida por incrementos totais de 60%, 75%, 66% e 65%, respectivamente, em relação às plantas controle (DESCHAMPS & SIMON, 2006). Por outro lado, com a aplicação de metil salicilato foi constatado efeito contrário ao anterior, com aumento inicial do teor de todos estes compostos acompanhada por diminuição quando comparado a plantas não tratadas (DESCHAMPS & SIMON, 2006).

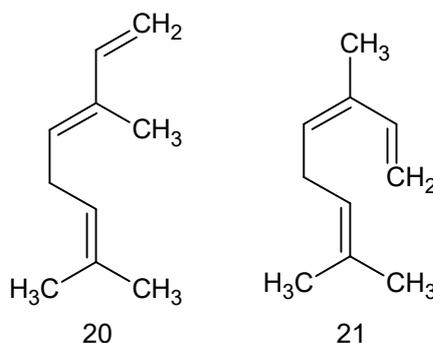


Figura 3: Estruturas moleculares de (E)-β-ocimeno (20) e (Z)-β-ocimeno/(E)-α-ocimeno (21). Feira de Santana-BA, UEFS, 2012.

Grande parte do uso medicinal e da atividade biológica atribuída à espécie *L. origanoides* deve-se aos conteúdos de carvacrol, ρ -cimeno e timol, que apresentam comprovada atividade contra micro-organismos patogênicos. O carvacrol é um monoterpeneo oxigenado largamente estudado devido a sua elevada atividade antimicrobiana atribuída ao dano causado à estrutura e função da membrana plasmática do micro-organismo, tendo como um dos modos de ação a ligação à membrana, causando o aumento da permeabilidade celular. Apesar de sua alta eficiência, este composto apresenta sua atividade biológica bastante reduzida quando testado em mistura com os demais componentes do óleo essencial (HYLDGAARD et al., 2012).

O ρ -cimeno, monoterpeneo precursor do carvacrol, não apresenta atividade antibiótica significativa contra fungos e bactérias patogênicos quando testado isoladamente, porém, mostrou-se um potencializador da ação de outros compostos, como o carvacrol. Por possuir alta afinidade à membrana celular, o ρ -cimeno provoca a sua expansão e altera o potencial de membrana, reduzindo a entalpia e difundindo a temperatura celular (HYLDGAARD et al., 2012). Já o timol é isômero do carvacrol, tendo como única diferença entre eles a posição do radical hidroxila no anel benzênico. Assim como o carvacrol, apresenta elevada ação contra micro-organismos (fungos e bactérias) também associada ao dano à membrana celular (HYLDGAARD et al., 2012).

CONCLUSÕES

Os componentes majoritários do óleo essencial de *L. origanoides* em ambiente de cultivo são carvacrol, γ -terpineno, ρ -cimeno, (E)-cariofileno, biciclogermacreno e timol. Aplicações foliares de ácido giberélico, ácido acetilsalicílico, principalmente, ácido jasmônico e Stimulate[®] proporcionam o incremento no teor de óleo essencial dessa espécie. As concentrações de carvacrol e timol são aumentadas e de biciclogermacreno reduzida por aplicações foliares de BAP, AAS, AJ e Stimulate[®].

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UEFS pelo apoio ao projeto de pesquisa, a CAPES e a FAPESB pela concessão de bolsas de estudo, aos funcionários e estudantes da Unidade Experimental Horto Florestal pelo apoio na montagem do experimento, Tycia Twane da Siva Souza pelo auxílio na execução dos experimentos, a Prof^a Dra. Claudinéia Regina Pelacani pela disponibilização de material e ao Prof. Dr. Elvis Lima Vieira, do Centro de Ciências Agrárias da UFRB, pela concessão do bioestimulante Stimulate[®].

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography / Mass Spectropy**. Illinois: Allure Publishing Corporation, 1995. p.804

AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

CAVALCANTE, I.M.S.M. et al. Potencial Mutagênico (Teste de micronúcleos) e composição química dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia origanoides*. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza-CE, **Anais...** Fortaleza: Adaltech Soluções para eventos, 2009. Disponível em: <sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0627-2.pdf>. Acesso em: 09/05/2010.

CORRÊA JÚNIOR, C. & SCHEFFER, M.C. Fundamentos do cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. **Horticultura Brasileira**, v. 19, p. 198 Suplemento, Palestras, 2001.

COSTA, L.C.B. et al. Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 175-179, 2007.

DESCHAMPS, C. & SIMON, J.E. Terpenoid essential oil metabolism in basil (*Ocimum basilicum* L.) following elicitation. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p. 618-621, 2006.

ESCOBAR, P. et al. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp. essential oils and their major components. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 184-190, 2010.

FERREIRA, D.F. **SISVAR**: Programa estatístico experimental, versão 5.3. 5.ed. Lavras: UFLA. 2010.

GIULIETTI, A.M.; CONCEICAO, A.; QUEIROZ, L.P. **Diversidade e caracterização das fanerogamas do Semi-árido brasileiro**. Recife: Associação das Plantas do Nordeste, 2006. 488p.

GOVAERTS, R. & ATKINS, S. **World Checklist of Verbenaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp/synonymy.do?name_id=113656> Acesso em: 07/03/2012.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 1-24, 2012.

JOULAIN, D. & KONIG, W. A. **The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpenes Hydrocarbons**. Hamburg: EB-Verlag, 1998.

JUDD, W.S. et al. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, 2007. 565p.

MAGALHÃES, P.M. Colheita e secagem de plantas medicinais. **Horticultura Brasileira**, v. 19, Suplemento, Palestras, p. 199, 2001.

SILVA, M.M. et al. Variação de timol e carvacrol em *Lippia microphylla* Cham. ao longo do dia. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza – CE, 2009. **Anais...** Disponível em: <sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T1075-1.pdf>. Acesso em: 09/11/2009.

MONTANARI Jr., I. Comercialização de plantas medicinais e tendências do mercado. **Horticultura Brasileira**, v. 19, Suplemento, Palestras, p. 198, 2001.

MENEZES, H. Imunidade inata e específica em plantas, **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 30, n. 2, p. 195-212, 2009.

MORAIS, S.M. et al. Atividade sequestradora de radical livre, teor de compostos fenólicos e Inibição da acetilcolinesterase de extratos de plantas medicinais das Farmácias Vivas. In: 48º Congresso Brasileiro de Química, Rio de Janeiro – RJ, 2008. **Anais...** Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/7/7-445-4813.htm>>. Acesso em: 09/11/2009.

OLIVEIRA, D.R. et al. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chemistry**, v. 101, p. 236–240, 2007.

OLIVEIRA, D.R. et al. Análise sazonal da composição química do óleo essencial de salva-de-marajó (*Lippia organoides* Kunth). In: VI Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais. Campinas - SP, 2011. **Anais...** Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/906553/1/SBOE2011p214.pdf>>. Acesso em: 01/03/2012.

PASCUAL, M.E. et al. *Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201–214, 2001.

POVH, J.A. & ONO, E.O. Crescimento de plantas de *Salvia officinalis* sob ação de reguladores de crescimento vegetal. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2186-2190, 2008.

SAFFARI, V.R. et al. Effects of different plant growth regulators and time of pruning on yield components of *Rosa damascena* Mill. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 6, n. 6, p. 1040-1042, 2004.

SANTOS, H.S. et al. Cytotoxic Naphthoquinones from Roots of *Lippia microphylla* Cham. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 58, p. 5117-5120, 2003.

SCAVRONI, J. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L. submetida a aplicações de giberelina e citocinina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 40-43, 2006.

SILVA, S. et al. Essential oil composition of *Melissa officinalis* L. *in vitro* produced under the influence of growth regulators. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6b, p. 1387-1390, 2005.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p

YUE, Q. et al. Volatile compounds of endophyte-free and infected tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). **Phytochemistry**, v. 58, p. 935–941, 2001.

ZHAO, J.; DAVIS, L.C.; VERPOORTE, R.; Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 283–333, 2005.

CONCLUSÕES GERAIS

- A estaquia é um método adequado para propagação de *L. organoides*;
- A imersão de estacas apicais por 24 horas em solução de AIB na concentração

de 278 mg L⁻¹ seguida por cultivo durante 45 dias em substrato composto por vermiculita expandida e Biomix[®] promove bom desenvolvimento das mudas.

- Os biorreguladores
- O uso de biorreguladores pode ser utilizado para potencializar a atividade biológica dos óleos essenciais dessa espécie.

ANEXOS

ANEXO A: Resultados das análises de variância pelo teste de F das as variáveis

sobrevivência, comprimento do caule e da maior raiz, número de folhas por muda, massa da matéria seca de folhas, ramos, raiz e total de mudas de *Lippia organoides* Kunth obtidas através de estacas tratadas com cinco concentrações de AIB e cultivadas em três tipos de substratos. Feira de Santana-BA, 2012.

----- Sobrevivência -----					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	13.858333	6.929167	12.792	0.0023
erro 1	6	4.875000	0.541667		
AIB	4	48.725000	12.181250	34.394	0.0000
SUBSTRATO*AIB	8	49.725000	6.215625	17.550	0.0000
erro 2	24	12.750000	0.354167		
Total corrigido	44	129.933333			
CV 1 (%) =	11.56				
CV 2 (%) =	9.35				
Média geral:	6.3666667	Número de observações:	45		
----- Número de folhas / muda -----					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	1253.733333	626.866667	59.544	0.0001
erro 1	6	63.166667	10.527778		
AIB	4	229.644444	57.411111	19.316	0.0000
SUBSTRATO*AIB	8	377.822222	47.227778	15.890	0.0000
erro 2	24	71.333333	2.972222		
Total corrigido	44	1995.700000			
CV 1 (%) =	27.11				
CV 2 (%) =	14.41				
Média geral:	11.9666667	Número de observações:	45		
----- Comprimento do caule -----					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	14.070111	7.035056	12.074	0.0079
erro 1	6	3.496000	0.582667		
AIB	4	2.118111	0.529528	0.907	0.4755
SUBSTRATO*AIB	8	28.694889	3.586861	6.145	0.0002
erro 2	24	14.009000	0.583708		
Total corrigido	44	62.388111			
CV 1 (%) =	6.46				
CV 2 (%) =	6.47				
Média geral:	11.8144444	Número de observações:	45		

ANEXO A: Continuação.

----- Comprimento da maior raiz -----					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

SUBSTRATO	2	7.609333	3.804667	13.275	0.0063
erro 1	6	1.719667	0.286611		
AIB	4	5.584111	1.396028	2.629	0.0595
SUBSTRATO*AIB	8	11.216222	1.402028	2.640	0.0313
erro 2	24	12.743667	0.530986		

Total corrigido 44 38.873000

CV 1 (%) = 14.06

CV 2 (%) = 19.14

Média geral: 3.8066667 Número de observações: 45

Massa da matéria seca das folhas

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	0.009878	0.004939	30.180	0.0007
erro 1	6	0.000982	0.000164		
AIB	4	0.000673	0.000168	3.307	0.0271
SUBSTRATO*AIB	8	0.003036	0.000380	7.458	0.0001
erro 2	24	0.001221	0.000051		

Total corrigido 44 0.015791

CV 1 (%) = 42.20

CV 2 (%) = 23.54

Média geral: 0.0303111 Número de observações: 45

Massa da matéria seca do caule

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	0.000275	0.000138	0.550	0.6033
erro 1	6	0.001499	0.000250		
AIB	4	0.002345	0.000586	19.442	0.0000
SUBSTRATO*AIB	8	0.004019	0.000502	16.664	0.0000
erro 2	24	0.000724	0.000030		

Total corrigido 44 0.008862

CV 1 (%) = 23.83

CV 2 (%) = 8.28

Média geral: 0.0663444 Número de observações: 45

Massa da matéria seca da raiz

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	0.002700	0.001350	28.506	0.0009
erro 1	6	0.000284	0.000047		
AIB	4	0.001158	0.000290	9.766	0.0001
SUBSTRATO*AIB	8	0.002119	0.000265	8.934	0.0000
erro 2	24	0.000712	0.000030		

Total corrigido 44 0.006973

CV 1 (%) = 29.15

CV 2 (%) = 23.06

Média geral: 0.0236111 Número de observações: 45

ANEXO A: Continuação.

Massa da matéria seca total

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBSTRATO	2	0.057797	0.028899	7.847	0.0212

erro 1	6	0.022097	0.003683		
AIB	4	0.012135	0.003034	12.880	0.0000
SUBSTRATO*AIB	8	0.045289	0.005661	24.033	0.0000
erro 2	24	0.005653	0.000236		

Total corrigido	44	0.142971			

CV 1 (%) =	32.18				
CV 2 (%) =	8.14				
Média geral:	0.1885733	Número de observações:	45		

ANEXO B: Resultados das análises de variância pelo teste de F das as variáveis altura, área foliar, comprimento da maior raiz, massa da matéria seca de raiz, ramos, inflorescências, folhas e total de plantas cultivadas de *Lippia organoides* Kunth pulverizadas com biorreguladores e avaliadas em três épocas. Feira de Santana-BA, 2012.

Altura					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

ESTIMULANTE	5	335.683222	67.136644	3.646	0.0135
erro 1	24	441.961333	18.415056		
ÉPOCA	2	1014.731556	507.365778	19.598	0.0000
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	256.849778	25.684978	0.992	0.4633
erro 2	48	1242.658667	25.888722		

Total corrigido	89	3291.884556			

CV 1 (%) =	8.75				
CV 2 (%) =	10.37				
Média geral:	49.0477778	Número de observações:	90		

Área foliar					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

ESTIMULANTE	5	0.613437	0.122687	1.731	0.1659
ÉPOCA	2	1.353810	0.676905	9.549	0.0009
erro 1	24	1.701298	0.070887		
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	2.720861	0.272086	4.410	0.0002
erro 2	48	2.961594	0.061700		

Total corrigido	89	9.351000			

CV 1 (%) =	36.87				
CV 2 (%) =	34.40				
Média geral:	0.7221222	Número de observações:	90		

ANEXO B: Continuação.

Comprimento da maior raiz					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

ESTIMULANTE	5	122.252000	24.450400	0.302	0.9067

erro 1	24	1941.824000	80.909333		
ÉPOCA	2	38.764667	19.382333	0.449	0.6411
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	810.791333	81.079133	1.877	0.0721
erro 2	48	2073.244000	43.192583		

Total corrigido 89 4986.876000

CV 1 (%) = 20.77
 CV 2 (%) = 15.18
 Média geral: 43.3066667 Número de observações: 90

Massa da matéria seca da raiz

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULANTE	5	1.741836	0.348367	2.170	0.0913
erro 1	24	3.852880	0.160537		
ÉPOCA	2	10.411469	5.205734	29.985	0.0000
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	5.440438	0.544044	3.134	0.0037
erro 2	48	8.333360	0.173612		

Total corrigido 89 29.779982

CV 1 (%) = 22.50
 CV 2 (%) = 23.40
 Média geral: 1.7804444 Número de observações: 90

Massa da matéria seca dos ramos

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULANTE	5	3.492413	0.698483	0.993	0.4426
erro 1	24	16.876227	0.703176		
ÉPOCA	2	41.450587	20.725293	45.852	0.0000
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	15.118160	1.511816	3.345	0.0023
erro 2	48	21.696253	0.452005		

Total corrigido 89 98.633640

CV 1 (%) = 26.05
 CV 2 (%) = 20.89
 Média geral: 3.2186667 Número de observações: 90

Massa da matéria seca das inflorescências

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULANTE	5	0.352739	0.070548	0.441	0.8156
erro 1	24	3.841427	0.160059		
ÉPOCA	2	0.771902	0.385951	3.306	0.0452
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	1.744978	0.174498	1.495	0.1706
erro 2	48	5.603453	0.116739		

Total corrigido 89 12.314499

CV 1 (%) = 64.54
 CV 2 (%) = 55.12
 Média geral: 0.6198889 Número de observações: 90

ANEXO B: Continuação.

Massa da matéria seca das folhas

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULANTE	5	3.584712	0.716942	2.187	0.0892

erro 1	24	7.867133	0.327797		
ÉPOCA	2	23.692642	11.846321	33.805	0.0000
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	9.979678	0.997968	2.848	0.0073
erro 2	48	16.820547	0.350428		

Total corrigido	89	61.944712			

CV 1 (%) =	20.81				
CV 2 (%) =	21.51				
Média geral:	2.7514444	Número de observações:	90		

Massa da matéria seca total					

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

ESTIMULANTE	5	17.158277	3.431655	2.365	0.0702
erro 1	24	34.821467	1.450894		
ÉPOCA	2	234.760327	117.380163	63.168	0.0000
ESTIMULANTE*ÉPOCA	10	78.305647	7.830565	4.214	0.0003
erro 2	48	89.194293	1.858214		

Total corrigido	89	454.240010			

CV 1 (%) =	14.46				
CV 2 (%) =	16.37				
Média geral:	8.3276667	Número de observações:	90		

ANEXO C: Resultados das análises de variância pelo teste de F das as variáveis massa da matéria seca de folhas e inflorescências, rendimento de óleo por planta, teor de óleo, concentração de ρ -cimeno, γ -terpineno, carvacrol, timol, biciclogermacreno e (E)-cariofileno no óleo essencial de plantas cultivadas de *Lippia origanoides* Kunth pulverizadas com biorreguladores e avaliadas em três épocas. Feira de Santana-BA, 2012.

Massa da matéria seca de folhas e inflorescências					

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

ESTIMULADOR	5	858.278306	171.655661	1.878	0.1668
erro 1	13	1188.319244	91.409173		
ÉPOCA	2	94.270633	47.135317	0.655	0.5289
ESTIMULADOR* ÉPOCA	10	1596.349478	159.634948	2.218	0.0553
erro 2	23	1655.419422	71.974757		

Total corrigido	53	5392.637083			

CV 1 (%) =	41.26				
CV 2 (%) =	36.62				
Média geral:	23.1694444	Número de observações:	54		

ANEXO C: Continuação.

Rendimento de óleo por planta					

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc

ESTIMULADOR	5	0.637750	0.127550	2.810	0.0619
erro 1	13	0.590150	0.045396		
ÉPOCA	2	0.871644	0.435822	14.186	0.0001
ESTIMULADOR* ÉPOCA	10	0.899422	0.089942	2.928	0.0160
erro 2	23	0.706583	0.030721		

Total corrigido	53	3.705550			

CV 1 (%) =	38.62				
CV 2 (%) =	31.77				
Média geral:	0.5516667	Número de observações:		54	

Teor de óleo essencial

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	0.963689	0.192738	3.361	0.0362
erro 1	13	0.745511	0.057347		
ÉPOCA	2	6.700633	3.350317	52.572	0.0000
ESTIMULADOR* ÉPOCA	10	6.927744	0.692774	10.871	0.0000
erro 2	23	1.465756	0.063729		

Total corrigido	53	16.803333			

CV 1 (%) =	10.09				
CV 2 (%) =	10.63				
Média geral:	2.3744444	Número de observações:		54	

p-cimeno

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	8.980817	1.796163	2.169	0.1262
erro 1	12	9.938000	0.828167		
ÉPOCA	2	28.618678	14.309339	17.106	0.0000
ESTIMULADOR*ÉPOCA	10	8.326122	0.832612	0.995	0.4741
erro 2	24	20.076267	0.836511		

Total corrigido	53	75.939883			

CV 1 (%) =	11.17				
CV 2 (%) =	11.22				
Média geral:	8.1505556	Número de observações:		54	

γ-terpineno

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	5.342076	1.068415	1.193	0.3690
erro 1	12	10.748978	0.895748		
ÉPOCA	2	32.624293	16.312146	18.645	0.0000
HORM*ÉPOCA	10	17.642152	1.764215	2.016	0.0774
erro 2	24	20.997556	0.874898		

Total corrigido	53	87.355054			

CV 1 (%) =	9.47				
CV 2 (%) =	9.36				
Média geral:	9.9909259	Número de observações:		54	

ANEXO C: Continuação.

carvacrol

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	136.164289	27.232858	4.280	0.0182
erro 1	12	76.347311	6.362276		

ÉPOCA	2	283.954178	141.977089	19.822	0.0000
ESTIMULADOR*ÉPOCA	10	98.015267	9.801527	1.368	0.2529
erro 2	24	171.904289	7.162679		

Total corrigido 53 766.385333

CV 1 (%) = 5.44
CV 2 (%) = 5.77
Média geral: 46.3911111 Número de observações: 54

timol

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	4.490943	0.898189	7.143	0.0026
erro 1	12	1.508978	0.125748		
ÉPOCA	2	4.035659	2.017830	16.180	0.0000
ESTIMULADOR*ÉPOCA	10	2.226852	0.222685	1.786	0.1185
erro 2	24	2.993156	0.124715		

Total corrigido 53 15.255587

CV 1 (%) = 9.33
CV 2 (%) = 9.29
Média geral: 3.8024074 Número de observações: 54

biciclogermacreno

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	2.711409	0.542282	4.646	0.0137
erro 1	12	1.400622	0.116719		
ÉPOCA	2	1.413248	0.706624	2.363	0.1157
ESTIMULADOR*ÉPOCA	10	5.331841	0.533184	1.783	0.1191
erro 2	24	7.177378	0.299057		

Total corrigido 53 18.034498

CV 1 (%) = 7.22
CV 2 (%) = 11.56
Média geral: 4.7301852 Número de observações: 54

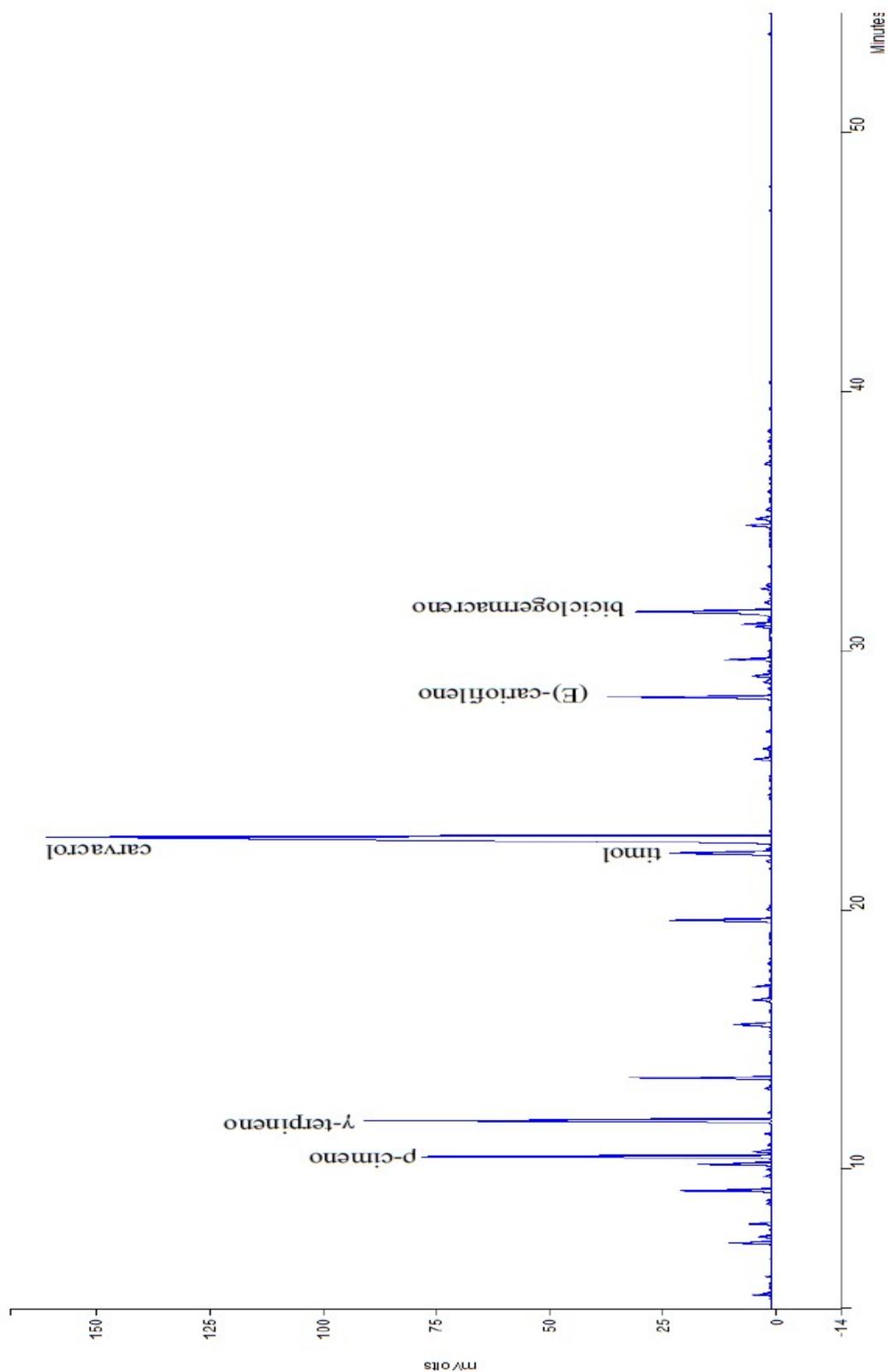
(E)-cariofileno

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ESTIMULADOR	5	2.738454	0.547691	2.631	0.0788
erro 1	12	2.497800	0.208150		
ÉPOCA	2	0.909570	0.454785	2.371	0.1149
ESTIMULADOR*ÉPOCA	10	1.923430	0.192343	1.003	0.4687
erro 2	24	4.604267	0.191844		

Total corrigido 53 12.673520

CV 1 (%) = 9.67
CV 2 (%) = 9.29
Média geral: 4.7157407 Número de observações: 54

ANEXO D: Cromatograma do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. Feira de Santana-BA, 2012.



ANEXO E: Médias das concentrações de todos os componentes químicos do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth quantificados para cada tratamento em três épocas de colheita (14, 28 e 35 dias após

a primeira coleta). (NI: não identificado; IK_C: índice de Kovats calculado; H₂O: água destilada (Testemunha); AJ: ácido jasmônico; GA₃: ácido giberélico; ST: Stimulate; AAS: ácido acetilsalicílico; BA: 6-benzilaminopurina).

Composto	IK _C	1ª Época						2ª Época						3ª Época					
		H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA	H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA	H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA
(E)-2-hexenal	850	0,67	0,81	0,84	1,34	0,73	0,77	0,52	1,35	1,04	1,38	1,38	1,13	0,58	0,56	0,46	0,75	1,00	0,84
NI	853	0,19	0,23	0,22	0,28	0,18	0,19	0,16	0,27	0,25	0,26	0,29	0,27	0,11	0,23	0,17	0,17	0,17	0,19
NI	882	0,08	0,06	0,09	0,07	0,07	0,08	0,07	0,09	0,08	0,08	0,07	0,09	0,10	0,07	0,08	0,07	0,08	0,09
NI	931	0,78	0,62	0,69	0,38	0,48	0,25	1,03	0,82	0,71	0,68	0,83	0,82	0,75	0,91	0,86	1,01	0,92	0,96
NI	939	0,20	0,16	0,18	0,07	0,13	0,14	0,28	0,19	0,17	0,15	0,19	0,18	0,23	0,22	0,26	0,25	0,23	0,26
α-fencheno	954	0,34	0,27	0,29	0,05	0,24	0,19	0,49	0,18	0,26	0,19	0,25	0,21	0,51	0,29	0,54	0,37	0,35	0,44
NI	978	0,16	0,13	0,16	0,20	0,17	0,14	0,14	0,15	0,16	0,20	0,17	0,17	0,15	0,20	0,13	0,18	0,17	0,14
NI	982	0,07	0,05	0,06	-	0,06	0,06	0,09	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06	0,09	0,07	0,08	0,08	0,07	0,08
mirceneno	992	1,91	1,59	1,81	1,40	1,55	1,15	2,15	1,97	1,83	1,90	2,02	2,06	1,90	2,08	2,03	2,11	2,12	2,18
NI	1007	0,14	0,11	0,14	0,11	0,12	0,10	0,16	0,15	0,14	0,15	0,16	0,16	0,15	0,16	0,14	0,16	0,16	0,16
NI	1014	0,08	0,07	0,08	0,05	0,06	0,05	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,10	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
α-terpineno	1020	1,62	1,29	1,51	1,24	1,35	1,06	1,71	1,58	1,51	1,66	1,76	1,73	1,88	1,66	1,66	1,74	1,75	1,82
ρ-cimeno	1028	8,12	7,23	7,85	6,26	7,33	6,18	9,46	8,77	8,21	7,56	7,82	8,55	8,67	9,09	9,12	8,64	8,93	8,91
limoneno	1033	0,36	0,29	0,33	0,22	0,32	0,24	0,30	0,31	0,33	0,32	0,34	0,34	0,41	0,35	0,44	0,38	0,38	0,41
NI	1040	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
NI	1051	0,11	0,10	0,11	0,10	0,11	0,09	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,13	0,14	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13
NI	1056	-	0,03	-	0,05	-	-	-	0,05	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-terpineno	1064	10,1	8,13	9,62	8,63	9,07	7,76	10,1	9,92	9,58	10,9	11,3	10,9	10,1	10,1	10,3	10,5	10,9	11,3
NI	1071	0,12	0,19	0,22	0,21	0,18	0,24	0,15	0,21	0,19	0,22	0,14	0,21	0,15	0,19	0,16	0,20	0,15	0,18
NI	1091	0,11	0,09	0,10	0,06	0,10	0,08	0,12	0,08	0,09	0,09	0,10	0,09	0,13	0,09	0,13	0,10	0,11	0,12
NI	1094	-	-	-	-	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
linalol	1100	2,96	2,71	2,58	1,07	3,28	3,14	3,31	1,44	2,08	2,20	2,37	1,77	3,97	1,82	3,78	2,72	2,82	2,83
cânfora	1149	1,00	0,95	0,94	0,50	1,03	1,02	1,13	0,66	0,83	0,77	0,78	0,71	1,41	0,75	1,34	0,96	0,94	1,05
epóxido de rosefurano	1170	0,41	0,40	0,47	0,21	0,42	0,42	0,45	0,36	0,42	0,27	0,30	0,32	0,62	0,45	0,67	0,42	0,41	0,51
NI	1175	-	-	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI	1177	0,05	0,06	0,07	0,07	0,06	0,09	0,05	0,06	0,05	0,07	0,06	0,06	0,04	0,06	-	0,07	0,05	0,05
terpinen-4-ol	1180	0,49	0,44	0,42	0,48	0,32	0,36	0,45	0,45	0,44	0,44	0,47	0,43	0,46	0,45	0,46	0,41	0,48	0,44
NI	1186	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04
NI	1192	0,04	-	0,03	-	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	-	0,03	0,03	0,03	-	0,04	-	0,04	0,04
NI	1198	0,05	0,05	0,06	0,04	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,06	0,05	0,06	0,05	0,05	0,06
NI	1216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-
NI	1222	-	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	-
metil	1236	2,62	2,53	2,70	2,32	2,65	2,81	2,67	2,63	2,62	2,40	2,47	2,61	2,70	2,67	2,79	2,54	2,57	2,71

Composto	IK _C	1ª Época						2ª Época						3ª Época					
		H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA	H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA	H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA
timol																			
NI	1245	0,09	0,09	0,09	0,07	0,08	0,09	0,09	0,08	0,09	0,07	0,07	0,08	0,10	0,09	0,10	0,08	0,08	0,10
NI	1277	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-
NI	1282	0,11	0,12	0,11	0,23	0,12	0,12	0,12	0,13	0,12	0,11	0,09	0,11	0,12	0,13	0,12	0,15	0,11	0,11
timol	1288	3,64	3,90	3,72	5,08	3,94	4,39	3,33	3,93	3,76	4,32	3,84	3,90	3,19	3,66	3,19	3,53	3,72	3,39
NI	1291	0,08	0,09	0,08	0,07	0,08	0,07	0,09	0,09	0,09	0,07	0,06	0,08	0,19	0,09	0,10	0,51	0,08	0,08
carvacrol	1300	45,7	48,1	47,2	53,2	49,1	52,3	42,5	47,9	47,0	47,8	45,4	46,5	41,9	46,3	42,0	43,1	44,8	43,7
NI	1306	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,05	0,04	-	0,06	0,04	0,04
NI	1340	0,06	0,07	0,06	0,05	0,05	0,06	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,07	0,05	0,06	0,07	0,05	0,06
NI	1346	0,05	0,06	0,06	0,04	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
NI	1353	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,03	-	-	-	-	-
NI	1357	-	-	0,04	0,03	0,03	0,04	-	-	0,03	0,03	-	0,03	-	0,04	-	0,04	0,03	-
acetato de carvacrol	1372	0,37	0,38	0,46	0,33	0,37	0,46	0,36	0,35	0,34	0,37	0,28	0,41	0,49	0,33	0,45	0,34	0,33	0,50
NI	1378	0,04	0,05	0,04	-	0,02	-	0,05	0,05	0,04	-	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	-	0,04
NI	1381	0,15	0,12	0,11	0,06	0,12	0,11	0,18	0,07	0,10	0,10	0,13	0,08	0,21	0,09	0,19	0,14	0,12	0,12
NI	1395	0,08	0,08	0,07	0,05	0,07	0,06	0,09	0,04	0,05	0,06	0,06	0,04	0,11	0,05	0,11	0,08	0,07	0,07
NI	1416	0,04	0,05	0,04	-	0,03	0,03	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04	0,03	0,04
(E)-cariofileno	1427	4,85	4,89	4,58	4,42	4,33	4,29	5,18	4,44	4,97	4,23	4,88	4,57	5,35	4,72	5,09	5,06	4,57	4,49
NI	1435	0,05	0,06	0,05	0,04	0,05	0,04	0,06	0,05	0,06	0,04	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04
NI	1441	0,19	0,16	0,16	0,11	0,14	0,15	0,27	0,11	0,15	0,14	0,20	0,16	0,27	0,14	0,25	0,19	0,16	0,18
NI	1442	0,07	0,07	-	0,03	0,05	0,06	-	0,06	-	-	-	-	-	0,05	-	0,04	0,05	-
α-guaieno	1446	0,54	0,62	0,52	0,44	0,50	0,46	0,64	0,53	0,63	0,37	0,50	0,46	0,54	0,53	0,53	0,51	0,45	0,47
NI	1450	0,07	0,08	0,06	0,05	0,06	0,06	0,08	0,07	0,07	0,05	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,05	0,06
NI	1456	0,30	-	-	-	-	-	-	0,03	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
α-humuleno	1461	1,39	1,42	1,33	1,23	1,26	1,22	1,46	1,32	1,41	1,20	1,34	1,33	1,55	1,39	1,52	1,47	1,29	1,29
NI	1468	0,06	0,06	0,05	0,04	0,05	0,05	0,07	0,05	0,06	0,04	0,05	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,05
NI	1483	0,06	0,07	0,08	0,08	0,05	0,06	0,05	0,05	0,06	0,07	0,05	0,05	0,06	0,06	0,04	0,07	0,05	0,05
NI	1487	-	-	-	-	-	-	0,04	-	-	-	-	-	0,04	-	0,23	0,05	-	-
NI	1489	0,28	0,42	0,40	0,37	0,34	0,36	0,42	0,38	0,43	0,35	0,40	0,37	0,44	0,40	0,55	0,42	0,37	0,37
NI	1492	1,01	1,12	1,08	1,07	1,03	1,14	0,94	0,91	0,96	0,99	0,92	1,01	1,00	0,95	0,57	1,03	0,86	0,93
NI	1495	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,08	0,06	0,07	0,03	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05
bicicloger macreno	1502	4,91	5,17	4,84	4,09	4,59	4,06	4,86	4,08	5,04	4,36	5,02	4,35	5,34	4,53	5,10	5,46	4,52	4,79
NI	1512	0,14	0,13	0,12	0,07	0,12	0,10	0,17	0,09	0,11	0,10	0,13	0,09	0,19	0,10	0,17	0,15	0,11	0,11
α-7-epi-selineno	1525	0,32	0,33	0,31	0,30	0,29	0,29	0,34	0,29	0,33	0,27	0,31	0,29	0,35	0,32	0,34	0,34	0,29	0,29
NI	1529	0,11	0,11	0,09	0,06	0,10	0,09	0,14	0,06	0,09	0,08	0,10	0,07	0,15	0,08	0,14	0,12	0,34	0,09
NI	1546	0,06	0,04	0,04	-	0,04	0,05	0,06	0,03	0,04	0,04	0,05	0,04	0,07	0,05	0,06	0,06	0,04	0,04
NI	1566	0,04	0,05	0,05	-	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,06	0,04	0,05	0,04	0,06	0,05
NI	1571	0,05	0,07	0,06	0,04	0,06	0,06	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,04	0,06

Composto	IK _C	1ª Época						2ª Época						3ª Época					
		H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA	H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA	H ₂ O	AJ	GA ₃	ST	AAS	BA
NI	1575	0,04	0,04	0,04	-	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04
espatuleno I	1584	0,84	1,03	0,90	0,98	0,97	1,11	0,84	0,89	0,85	0,92	0,71	0,86	0,78	0,87	0,99	0,85	0,83	0,83
óxido de cariofileno	1590	0,55	0,64	0,57	0,40	0,54	0,55	0,56	0,57	0,56	0,40	0,41	0,48	0,53	0,62	0,63	0,55	0,53	0,52
NI	1600	0,16	0,16	0,15	0,11	0,15	0,15	0,14	0,14	0,15	0,11	0,13	0,13	0,15	0,15	0,16	0,13	0,14	0,14
NI	1608	0,06	0,06	0,06	0,04	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,04	0,05	0,04	0,06	0,06	0,07	0,04	0,05	0,05
NI	1617	0,09	0,11	0,10	0,07	0,10	0,10	0,10	0,11	0,10	0,07	0,06	0,08	0,10	0,11	0,11	0,10	0,09	0,09
NI	1630	0,04	0,06	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04	0,04
NI	1645	0,20	0,25	0,22	0,22	0,23	0,23	0,21	0,23	0,20	0,22	0,17	0,20	0,23	0,24	0,25	0,21	0,19	0,20
NI	1661	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,05	0,03	0,03	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04
NI	1667	0,11	0,11	0,12	0,10	0,10	0,11	0,09	0,10	0,14	0,09	0,09	0,10	0,11	0,12	0,11	0,10	0,09	0,10
NI	1677	0,06	0,07	0,07	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06	0,05	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06
NI	1700	0,04	0,17	0,05	0,04	0,04	0,19	0,04	0,04	0,05	0,05	0,15	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
NI	1725	-	-	-	0,05	-	0,04	-	0,04	-	0,04	-	0,04	-	-	-	-	-	-
NI	2114	0,14	0,23	0,10	0,28	0,12	0,11	0,14	0,07	0,11	0,12	0,23	0,14	0,12	0,07	0,05	0,13	0,13	0,08
NI	2334	-	-	-	-	-	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total identif.		93,8	93,1	93,8	94,1	94,2	94,2	92,8	94,0	94,0	94,2	93,9	94,0	93,3	93,7	93,5	92,8	94,0	93,8
Total não identif.		6,57	6,30	5,51	5,76	6,00	6,89	6,21	6,14	5,97	6,22	6,13	6,91	6,41	6,62	7,30	6,34	6,31	6,95