



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**



**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS  
VEGETAIS**

**ARIANA REIS MESSIAS FERNANDES DE OLIVEIRA**

**MORFOANATOMIA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE  
BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES NATIVAS DE  
*LIPPIA***

**FEIRA DE SANTANA – BA**

**2014**

**ARIANA REIS MESSIAS FERNANDES DE OLIVEIRA**

**MORFOANATOMIA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE  
BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES NATIVAS DE  
*LIPPIA***

**FEIRA DE SANTANA – BA**

**2014**

**ARIANA REIS MESSIAS FERNANDES DE OLIVEIRA**

**MORFOANATOMIA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE  
BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES NATIVAS DE  
*LIPPIA***

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

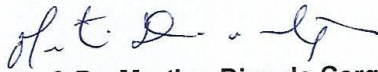
Orientador: Professor Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira

Co-orientadora: Professora Dra. Tânia Regina dos Santos Silva

**FEIRA DE SANTANA – BA**

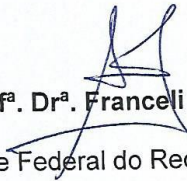
**2014**

**BANCA EXAMINADORA**



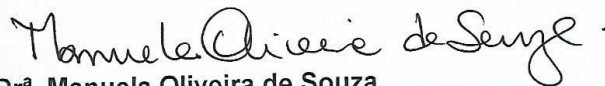
**Prof. Dr. Martins Dias de Cerqueira**

Universidade Federal da Bahia



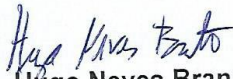
**Prof.ª Dr.ª Franceli da Silva**

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



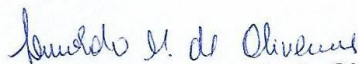
**Prof.ª Dr.ª Manuela Oliveira de Souza**

Universidade Estadual de Feira de Santana



**Prof. Dr. Hugo Neves Brandão**

Universidade Estadual de Feira de Santana



**Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira**

Universidade Estadual de Feira de Santana

Orientador e Presidente da Banca

**Feira de Santana – BA  
2014**

### Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

O51m Oliveira, Ariana Reis Messias Fernandes de  
Morfoanatomia, composição química e atividade biológica do óleo essencial de espécies nativas de *Lippia* / Ariana Reis Messias Fernandes de Oliveira. – Feira de Santana, BA, 2014.

114 f: il..

Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tânia Regina dos Santos Silva

Doutorado (tese) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2014.

1. Morfoanatomia. 2. Composição química. 3. *Lippia*. I. Oliveira, Lenaldo Muniz de, orient. II. Silva, Tânia Regina dos Santos, cocorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 581.4

*Ao meu Príncipe Miguel, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Ao nosso Deus, pela vida, pelas dificuldades e aprendizados e pelas vitórias.

Ao meu filho Miguel e esposo Heber MEUS AMORES, MINHA VIDA, pelo companheirismo, sempre apoiando minhas decisões e compreendendo as minhas ausências!

À minha família: meu avô Miguel, minha mãe Rose, meus irmãos Rafael, Luiza, Gabriela e Silas e minha tia Rege, por todas as coisas boas que representam em minha vida.

Ao meu Orientador Dr. Lenaldo Muniz, agradeço por todo conhecimento transmitido, todos os ensinamentos e pela amizade.

À Professora Dra. Larissa Correa, por ter aberto as portas novamente para mim, sempre com muito carinho.

À Professora Dra. Franceli Silva, que me apresentou às plantas medicinais, por todos os ensinamentos!

Ao Professor Dr. Hugo Neves Brandão por todos os ensinamentos e essencial ajuda na química.

Às Professoras Angélica Luccesse e Tânia Regina, pela disponibilidade e ajuda no processo.

Aos amigos do doutorado Micaele Costa, Cíntia Luiza, Ronaldo Simões, Anderson Carvalho, Mayana Matos e em especial Simone Teles: como foi bom estar com vocês!

Aos funcionários da Unidade Experimental Horto Florestal, foi tanto tempo juntos, considero-os como amigos.

À Colega Joseane Carneiro pela essencial ajuda na parte de anatomia vegetal.

Ao Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz (FIOCRUZ), onde pude fazer a microscopia de varredura; muito atenciosos.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UESC, novamente abrindo portas para mim!

Ao Dr. João de Cássia do Bonfim Costa, obrigada pelos ensinamentos na área de fitopatologia, e à CEPLAC, onde pude realizar os experimentos.

Aos amigos da vida, poucos, porém valiosos, obrigada por tudo!

Aos Colegas Professores do IF Baiano *Campus* Uruçuca, em especial, Rilvaynia Dantas, Wanessa Camboim, Julianna Torres, Leandro Sampaio, Carlindo Santos e Verena Abreu por todo carinho com que me receberam, sempre disponíveis para me ajudar nessa luta de ser Professora e Estudante. Obrigada!

A Capes e Fapesb, por tornarem mais esse sonho possível.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho, **MUITO OBRIGADA!**



## **JARDINS**

“...Quando chovia, depois de muito sol quente, meu pai gostava de ficar na janela da casa velha, vendo as plantas no quintal, cada uma delas fazendo gesto que sabia. Os tomateiros, hortelãs e manjeriço, exalando seus perfumes...as árvores e arbustos executando seus passos de dança, balançando as folhas sob os pingos que caíam. Ele olhava, sorria, baforava o seu cachimbo e dizia: “Veja só como estão agradecidas”. Fico triste pensando que, morrendo, não estarei mais aqui para cuidar dessas coisas e para dizer a elas que são belas. Gostaria que houvesse alguém que delas cuidassem... Desejo que as coisas que amo continuem a ser amadas e cuidadas, mesmo depois da minha partida...”

Do universo à Jabuticaba, Rubens Alves, 2013.

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** Hábito de crescimento (HB), tipo de ramificação (TR), formato do limbo (FL), formato da base do limbo (FBL), formato do ápice do limbo (FAL), margem do limbo (ML), venação (VN), filotaxia (FT), consistência (CS), pilosidade do pecíolo (PP), cor das brácteas (CB), formato das brácteas (FB), tipo de inflorescência (TI), posição das inflorescências (PI), cor das pétalas (CP), tipo de perianto (TP), tricomas na face abaxial (TFAB), tricomas face adaxial (TFAD) em quatro espécies de *Lippia* nativas no semiárido baiano. Feira de Santana, Bahia. 53
- TABELA 2** Altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), diâmetro da copa (DCO), comprimento (CF), largura (LF) e relação comprimento/largura da folha (C/L), peso da folha (PF), tamanho do pecíolo (TPC), tamanho do pedicelo (TPD), tamanho da bráctea (TBR), número de flores por inflorescência (F/I) e número de inflorescência por planta (I/P), em quatro espécies de *Lippia* nativas do semiárido. Feira de Santana, Bahia. 54
- TABELA 3** Peso fresco da biomassa foliar (PFBF), peso fresco do caule (PFC), peso fresco das inflorescências (PFI), peso seco da biomassa foliar (PSBF), peso seco do caule (PSC), peso seco das inflorescências (PSI), teor de óleo essencial (TO) e rendimento de óleo essencial (RO) em quatro espécies de *Lippia* nativas do semiárido baiano. Feira de Santana, Bahia. 56
- TABELA 4** Descrição e ocorrência de tricomas tectores e glandulares em espécies de *Lippia* nativas do semiárido baiano e cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, 2014. Feira de Santana, Bahia. 68
- TABELA 5** Frequência de tricomas (mm<sup>2</sup>) na face abaxial e adaxial das folhas de quatro espécies de *Lippia* nativas do semiárido baiano e cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana. TT = tricoma tector, TGC = tricoma glandular capitado e TGP = tricoma glandular peltado. Feira de Santana, Bahia. 72
- TABELA 6** Número de compostos identificados (CI), compostos majoritários (CM), teor de monoterpenos (MT), sesquiterpenos (ST) e fenilpropanoides (FP) nos óleos essenciais de espécies de *Lippia bromleyana* Moldenke (LB), *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), *Lippia insignis* Moldenke (LI) e *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (LT), colhidas aos 170 dias após o transplante das mudas. Feira de Santana, Bahia. 85
- TABELA 7** Número de compostos identificados (CI), compostos majoritários (CM), teor de monoterpenos (MT), sesquiterpenos (ST) e fenilpropanoides (FP) nos óleos essenciais de espécies de *Lippia bromleyana* Moldenke (LB), *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), *Lippia insignis* Moldenke (LI) e *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (LT), colhidas aos 210 dias após a primeira colheita. Feira de Santana, Bahia. 85

Santana, Bahia.

**TABELA 8** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *M. pernicioso* 90  
cultivado em meio B.D.A suplementado com diferentes  
concentrações de óleo essencial de *Lippia bromleyana* Moldenke,  
*L. insignis* Moldenke e *L. lasiocalycina* Cham. Ilhéus, Bahia.

**TABELA 9** Índice de velocidade de crescimento micelial (cm) de *M. pernicioso* 91  
cultivado em meio B.D.A suplementado com diferentes  
concentrações de óleo essencial de *Lippia bromleyana* Moldenke,  
*L. insignis* Moldenke e *L. lasiocalycina* Cham. Ilhéus, Bahia.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Detalhe da inflorescência (A), folha (B) e ramo de *Lippia bromleyana* Moldenke (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia. 23
- FIGURA 2** Detalhe da inflorescência (A), folha (B) e ramo de *Lippia lasiocalycina* Cham. (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia. 24
- FIGURA 3** Detalhe da inflorescência (A), folha (B) e ramo de *Lippia insignis* Moldenke (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia. 26
- FIGURA 4** Detalhe da inflorescência e folha (A), ramo (B) e planta inteira de *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia. 27
- FIGURA 5** Mudanças de espécies de *Lippia* acondicionadas em bandejas de poliestireno (A), mudas em aclimação com 45 dias (B), aberturas das covas para o plantio (C) e implantação do experimento na Unidade Experimental Horto Florestal (D). Feira de Santana, Bahia 48
- FIGURA 6** Hidrodestilação em aparato de Clevenger (A), óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke (B) e *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (C) após 3 horas de extração. Feira de Santana, Bahia 50
- FIGURA 7** *Lippia insignis* Moldenke: a= ramo, b= inflorescência, c= bráctea, d= folha, e= pecíolo. *Lippia lasiocalycina* Cham.: f= ramos, g= inflorescência, h= bráctea, i= folha, j= pecíolo. *Lippia bromleyana* Moldenke: k= ramo, l= inflorescência, m= bráctea, n= folha, o= pecíolo. *Lippia thymoides* Mart. e Schauer: p= ramo, q= inflorescência, r= bráctea, s= folha. Feira de Santana, Bahia 52
- FIGURA 8** A: Amostras de folhas de *Lippia bromleyana* Moldenke, *L. insignis* Moldenke, *L. lasiocalycina* Cham. e *L. thymoides* Mart e Schauer fixadas em álcool 70% para posterior análise. B: Lâminas com seções apicais, medianas, basais e do pecíolo das folhas para a análise da anatomia. C: Microscópio de luz binocular. Feira de Santana, Bahia 64
- FIGURA 9** Fotomicrografia da seção transversal da nervura e do mesófilo de *Lippia bromleyana* Moldenke (A e B), *Lippia insignis* Moldenke (C e D), *Lippia lasiocalycina* Cham. (E e F) e *Lippia thymoides* Mart. e Schauer. Feira de Santana, Bahia 66
- FIGURA 10** Eletromicrografia de varredura da face abaxial (A, C, E, e G) e adaxial (B, D, F e H) da folha de *Lippia bromleyana* Moldenke (A, B), *Lippia insignis* Moldenke (C, D), *Lippia lasiocalycina* Cham. (E, F) e *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (G, H). TT = tricoma tector, TGC = tricoma glandular capitado, TGP = 70

tricoma glandular peltado. Salvador, Bahia.

- FIGURA 11** Fotomicrografia dos tricomas glandulares tipo II em *L. bromleyana* Moldenke (A), tipo IV (B), tipo V (C) e tipo VI (D) em *L. lasiocalycina* Cham. Barra de 20µm. Feira de Santana, Bahia. 71
- FIGURA 12** A: Identificação do material a ser utilizado no experimento. B: Elermayer contendo as diferentes concentrações de óleo essencial de *L. bromleyana* Moldenke, *L. lasiocalycina* Cham. e *L. insignis* Moldenke. C: Meio de cultura BDA ainda fundente e placas de petri de 9mm de diâmetro. D: Incubadora B.O.D à 25°C, onde as placas com os tratamentos ficaram acondicionadas. Ilhéus, Bahia. 82
- FIGURA 13** Atividade antioxidante dos óleos essenciais na concentração de 18mg mL<sup>-1</sup> de *Lippia thymoides* Mart. e Schauer, *Lippia bromleyana* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia insignis* Moldenke. Feira de Santana, Bahia. 88
- FIGURA 14** Crescimento micelial de *Moniliophytora pernicioso* cultivado em meio BDA suplementado de diferentes concentrações de óleo essencial de *Lippia bromleyana* Moldenke (LB), *Lippia insignis* Moldenke (LI) e *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), comparados aos controles absoluto (Controle) e relativo (Controle T). Ilhéus, Bahia. 89
- FIGURA 15** Porcentagem de inibição de *M. pernicioso* em diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke (A) e *Lippia lasiocalycina* Cham. (B). Ilhéus, Bahia. 92
- FIGURA 16** Índice de crescimento micelial de *M. pernicioso* em diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke (A) e *Lippia lasiocalycina* Cham. (B). Ilhéus, Bahia. 93

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana
HUEFS	Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana
UESC	Universidade Estadual de Santa Cruz
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
FIOCRUZ	Fundação Osvaldo Cruz
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
CEPLAC	Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira
CEPEC	Centro de Pesquisa do Cacau
SEFIT	Setor de Fitopatologia
BAG	Banco ativo de germoplasma
RGV	Recursos Genéticos Vegetais
DNA	Deoxyribonucleic acid
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
DBC	Delineamento blocos casualizados
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
CG/DIC	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectômetro de massas
BDA	Batata-dextrose-ágar
BOD	Biochemical oxygen demand
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DPPH	2,2-difenil-1-picrihidrazil
M	Metros
Mm	Milímetros
Cm	Centímetros
G	Gramas
Kg	Quilograma
°C	Graus Celsius
ml	Mililitro
µm	Micrômetro

$\mu\text{L}$	Microlitro
A	Alfa
B	Beta
$\Gamma$	Gama

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b>	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	20
<b>2.1 Plantas medicinais</b>	20
<b>2.2 O gênero <i>Lippia</i> (Verbenaceae)</b>	20
<b>2.3 Caracterização e avaliação de germoplasma de plantas medicinais</b>	28
2.3.1 Caracterização morfológica e agronômica	28
2.3.2 Caracterização anatômica	30
2.3.3 Caracterização química	31
<b>2.4 Metabólitos secundários e óleos essenciais</b>	32
2.4.1 Atividade antioxidante dos óleos essenciais	34
2.4.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais	35
<b>2.5. REFERÊNCIAS</b>	36
<b>3. CAPÍTULO I. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA DE ESPÉCIES NATIVAS DE <i>LIPPIA</i>.</b>	43
3.1 INTRODUÇÃO	46
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	47
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.4 CONCLUSÕES	56
3.5 REFERÊNCIAS	57
<b>4. CAPÍTULO II. ANATOMIA FOLIAR, FREQUÊNCIA DE TRICOMAS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM ESPÉCIES NATIVAS DE <i>LIPPIA</i></b>	59
4.1 INTRODUÇÃO	62
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	63
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.4 CONCLUSÕES	73
4.5 REFERÊNCIAS	73
<b>5. CAPÍTULO III. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES NATIVAS DE <i>LIPPIA</i></b>	75
5.1 INTRODUÇÃO	78
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	79



5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
5.4 CONCLUSÕES	94
5.5 REFERÊNCIAS	94
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	98
<b>ANEXOS</b>	99
<b>Anexo A:</b> Coordenadas geográficas, altitude e locais de coleta das espécies estudadas. Feira de Santana, Bahia.	100
<b>Anexo B:</b> Médias da temperatura (°C), umidade (%) e pluviosidade (mm) na região de Feira de Santana – BA, no período realização do experimento (Janeiro a Novembro de 2012). Feira de Santana, Bahia.	101
<b>Anexo C:</b> Análise química do solo no local onde foi realizado o experimento, na Unidade Experimental Horto Florestal, Feira de Santana, Bahia.	102
<b>Anexo D:</b> Detalhes da espécie <i>Lippia thymoides</i> Mart e Schauer: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.	103
<b>Anexo E:</b> Detalhes da espécie <i>Lippia insignis</i> Moldenke: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.	104
<b>Anexo F:</b> Detalhes da espécie <i>Lippia lasiocalycina</i> Cham.: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.	105
<b>Anexo G:</b> Detalhes da espécie <i>Lippia bromleyana</i> Moldenke: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.	106
<b>Anexo H:</b> Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Lippia lasiocalycina</i> Cham. (LL), <i>L. bromleyana</i> Moldenke (LB), <i>L. insignis</i> Moldenke (LI) e <i>L. thymoides</i> Mart e Schauer (LT) cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal, Feira de Santana, Bahia, 2014 e colhidas 120 dias após o transplante das mudas. CM = Compostos majoritários. NC= Número de compostos identificados. M= Monoterpenos. S= Sesquiterpenos. F= Fenilpropanoides.	107
<b>Anexo I:</b> Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Lippia lasiocalycina</i> Cham. (LL), <i>L. bromleyana</i> Moldenke (LB), <i>L. insignis</i> Moldenke (LI) e <i>L. thymoides</i> Mart e Schauer (LT) cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal, Feira de Santana, Bahia, 2014 e colhidas 210 dias após a primeira colheita. CM = Compostos majoritários. NC= Número de compostos identificados. M= Monoterpenos. S= Sesquiterpenos. F= Fenilpropanoides.	110
<b>Anexo J:</b> Estruturas químicas dos compostos presentes nos óleos essenciais das espécies <i>Lippia bromleyana</i> Moldenke, <i>Lippia lasiocalycina</i> Cham., <i>Lippia insignis</i> Moldenke e <i>Lippia thymoides</i> Mart e Schauer.	112

## RESUMO GERAL

O objetivo desse trabalho foi caracterizar a morfologia e a produção, teor, composição química e atividade bioativa de óleos essenciais de *Lippia bromleyana*, *Lippia lasiocalycina*, *Lippia insignis* e *Lippia thymoides*, espécies endêmicas do semiárido baiano. As espécies foram cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), na cidade de Feira de Santana – Bahia. Os óleos essenciais foram extraídos de folhas e inflorescências secas, por meio da hidrodestilação em aparelho de Clevenger e a composição química determinada por CG/EM e CG/DIC. Foram realizadas caracterizações morfológicas quantitativas e qualitativas, além da caracterização agrônômica. A anatomia foliar, tipos e frequência de tricomas foram observados em microscópio de luz binocular e eletrônico de varredura. A atividade antioxidante foi avaliada pela capacidade das substâncias presentes na amostra captarem o radical livre DPPH, utilizando cinco concentrações dos óleos essenciais (2, 6, 10, 14 e 18 mg mL<sup>-1</sup>) e a atividade antifúngica pelo crescimento miceliano *in vitro*, testando cinco concentrações do óleo essencial (0,25, 0,50, 0,75, 1,0 e 1,25 µL mL<sup>-1</sup>). Nas condições em que foi realizado o estudo, pode-se concluir que existem diferenças morfológicas entre as espécies em todas as características avaliadas, com exceção apenas para o número de flores por inflorescência; existem diferenças agrônômicas para todos os caracteres avaliados, sendo que *L. lasiocalycina* se destacou em relação à variável rendimento de óleo, enquanto que *L. insignis* e *L. thymoides* em relação ao teor de óleo essencial; foram identificados seis tipos de tricomas glandulares uni, bi e tetracelular e três tipos de tricomas tectores; a espécie *L. bromleyana* apresenta como diferencial anatômico ausência de tricomas tectores na face abaxial; *L. thymoides* possui tricomas glandulares com contornos irregulares em ambas as faces, distinguindo-a das demais espécies; a frequência de tricomas tectores na face abaxial é superior nas espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina*, as quais são mais semelhantes anatomicamente; os compostos majoritários encontrados nas amostras dos óleos essenciais de *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides* foram: óxido de piperitona e limoneno; *E*-ocimenona, mircenona, mirceno, β-mirceno e ρ-cimeno; timol, mircenona e *E*-ocimenona; β-cariofileno e germacreno D, respectivamente; *L. insignis* e *L. bromleyana* se destacaram em relação à atividade antioxidante e antifúngica, respectivamente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Plantas medicinais e aromáticas, Metabólitos secundários, Verbenaceae, Atividade antioxidante, Atividade antifúngica.

## GENERAL ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the morphology, production, content, chemical composition and bioactive activity of essential oils of *Lippia bromleyana*, *Lippia lasiocalycina*, *Lippia insignis* and *Lippia thymoides*, endemic species of the Bahia semi-arid. The species were grown in the Experimental Station Horto Florestal State University of Feira de Santana (UEFS) in the city of Feira de Santana - Bahia. The essential oils are extracted from dry leaves and inflorescences, by hydrodistillation in Clevenger apparatus, and chemical composition was determined by GC/MS and GC/FID. Were carried out quantitative and qualitative morphological characterizations, in addition to agronomic characterization. The leaf anatomy, types and frequency of hair were observed in binocular microscope and electronic scanning light. The antioxidant activity was assessed by the ability of the substances present in the sample capture the free radical DPPH, using five concentrations of essential oils (2, 6, 10, 14 and 18 mg mL<sup>-1</sup>) and the antifungal activity by mycelium growth in vitro testing five essential oil concentrations (0.25, 0.50, 0.75, 1.0 and 1.25 µL mL<sup>-1</sup>). In conditions where the study was conducted, it can be concluded that there are morphological differences between species in all traits, except only the number of flowers per inflorescence; there agronomic differences for all traits with *L. lasiocalycina* stood out in relation to the variable oil yield, while *L. insignis* and *L. thymoides* regarding the essential oil content; were identified six types of glandular trichomes one, two and tetracelular and three types of trichomes; the species *L. bromleyana* presents as differential anatomical absence of trichomes on the abaxial surface; *L. thymoides* has glandular trichomes with irregular contours on both sides, distinguishing it from other species; the frequency of trichomes on the abaxial surface is higher in species *L. insignis* and *L. lasiocalycina*, which are more anatomically similar; the major compounds found in the samples of essential oils of *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* and *L. thymoides* were piperitone oxide and limonene; *E*-ocimenona, myrcenone, myrcene, β-myrcene and ρ-cymene; thymol, myrcenone and *E*-ocimenona; and β-caryophyllene, germacrene D, respectively; *L. insignis* and *L. bromleyana* stood out in relation to the antioxidant and antifungal activity, respectively.

**KEYWORDS:** Medicinal and aromatic plants, Secondary Metabolites, Verbenaceae, Antioxidant Activity, Antifungal Activity.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil abriga a maior biodiversidade do mundo, com mais de 56.000 espécies vegetais, possui uma das floras mais ricas – quase 19% da flora mundial (GIULIETTI et al., 2005). A região nordeste apresenta rica variação de tipos vegetacionais, representada pela diversidade de espécies nativas com potencial alimentício, forrageiro, medicinal, ornamental e para indústria de fibras e óleos (RAMOS et al., 2008). O Estado da Bahia tem ampla diversidade ambiental, incluindo a região semiárida que acolhe grande biodiversidade vegetal, abrangendo muitas espécies medicinais.

Com a crescente demanda por produtos naturais de origem vegetal tem crescido também a pressão das atividades humanas sobre o meio ambiente. A exploração direta de plantas de uso medicinal da flora nativa, por meio da extração diretamente dos ecossistemas tropicais, tem levado a reduções drásticas das populações naturais de inúmeras espécies, colocando em risco a flora medicinal e a possibilidade de descoberta de novos fármacos (CASTRO et al., 2004). Skorupa e Vieira (2005) indicam que o grande paradigma atual é a conciliação do atendimento às necessidades humanas associadas ao uso sustentável dos recursos vegetais, sob o risco de seu desaparecimento, antes mesmo que possam ser investigados. Diante desse paradigma tem sido consenso que a chance dessa tendência ser revertida aumenta em função do aumento no volume de conhecimentos gerados e agregados, capazes de apoiar justificativas para sua conservação.

Nesse cenário, é constante a utilização extrativista de plantas com fins medicinais, através de coletas não-sustentáveis, pois a maioria das plantas medicinais ainda não é cultivada (CAMELO, 2010). Aliado a esse fato, fatores antrópicos, como a destruição acelerada da vegetação natural, a expansão agrícola, as queimadas, as explorações de madeira e minério, construção de estradas e hidrelétricas, dentre outros, vem causando uma crescente perda desses recursos genéticos vegetais.

Fazendo parte desses importantes recursos encontra-se o gênero *Lippia* L. (Verbenaceae), que reúne cerca de 200 táxons com distribuição pantropical. O maior número de espécies se encontra no Brasil, cerca de 150, com ocorrência especialmente nos campos rupestres e cerrados. No Brasil, os principais centros de diversidade específica do gênero *Lippia* estão localizados na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais, e na Chapada Diamantina, na Bahia (SALIMENA, 2000; 2002). A importância econômica desse gênero está associada principalmente à constituição química das espécies, sobretudo associada aos óleos essenciais presentes em suas folhas e ramos (SALIMENA-PIRES, 1991).

Os óleos essenciais, compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, são encontrados em flores, folhas, cascas, rizomas e frutos e possuem grande aplicação na indústria de cosméticos, de alimentos e farmacêutica, como coadjuvantes em

medicamentos (BIZZO et al., 2009), representando potencial econômico para a indústria e melhoria da renda de famílias que habitam as regiões semiáridas.

Apesar da importância econômica das espécies de *Lippia*, algumas encontradas como espontâneas no semiárido baiano estão em extinção, vulneráveis ou mesmo com deficiência de dados (BRASIL, 2008), sendo exploradas por meio do extrativismo para fins ornamentais e medicinais. Portanto, tornam-se necessários estudos que viabilizem sua exploração de forma sustentável, via técnicas modernas de cultivo, caracterização, seleção e melhoramento de plantas, visando à produção de óleo essencial com qualidade, quantidade e regularidade, o que permitirá sua inserção no mercado nacional e internacional.

Diante do exposto, objetivou-se realizar a caracterização morfológica e agronômica de quatro espécies de *Lippia*: *Lippia insignis* Moldenke, *L. bromleyana* Moldenke, *L. lasiocalycina* Cham. e *L. thymoides* Mart e Schauer, além de determinar a composição química e avaliar a atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais obtidos dessas espécies. No primeiro capítulo foi realizado um estudo comparativo de caracterização morfológica e agronômica das espécies de *Lippia*. No segundo, foram discutidas suas características anatômicas e de produção de óleo essencial. No terceiro capítulo foi abordado um estudo da composição química e potencial bioativo do óleo essencial.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Plantas Medicinais

O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos é tão antigo quanto a própria humanidade e tem sido ainda bastante significativo nos dias atuais. Uma planta medicinal pode ser definida como vegetal que possui atividade biológica com um ou mais princípios ativos úteis a saúde, sendo que esses princípios são provenientes do metabolismo secundário das plantas (AZEVEDO, 2014).

Dados da organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população mundial faz uso de algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa desagradável. Nos últimos anos houve um crescente aumento na utilização de remédios naturais ou fitoterápicos, aumentando a necessidade em buscar o conhecimento das propriedades curativas de diversas plantas medicinais (VASCONCELLOS et al., 2002). No Brasil estima-se que este mercado envolva valores entre 700 a 800 milhões de dólares, despertando assim o interesse de um número cada vez maior de produtores rurais para o cultivo de plantas medicinais e aromáticas (CORREA JUNIOR et al., 2006).

Um dos grandes entraves na utilização das plantas medicinais pelas indústrias farmacêuticas é o fato da maioria delas ser proveniente do extrativismo, podendo ocasionar dessa maneira a extinção da espécie (TELES, 2010). Essa forma de coleta pode ainda oferecer um produto que não tem regularidade, qualidade e quantidade que o mercado demanda, justificando a importância do cultivo dessas espécies.

Apesar de o Brasil possuir uma flora com grande diversidade de plantas medicinais e aromáticas e muitas já serem utilizadas pelas populações locais, apenas pequena parte dessa vegetação foi estudada e comprovada sua ação medicinal (CHAVES et al., 2009), a exemplo da região semiárida, que possui grande biodiversidade vegetal, incluindo plantas medicinais, sendo que muitas ainda não foram estudadas cientificamente. Segundo Giuliatti (2002), a região do semiárido é caracterizada por apresentar altas temperaturas e déficit hídrico e essas condições estressantes para as plantas medicinais estimulam a produção de compostos do metabolismo secundário, que permitem sua sobrevivência, levando essa região a apresentar grande riqueza de espécies com elevado potencial para a produção de metabólitos secundários.

### 2.2 O gênero *Lippia* (Verbenaceae)

A família Verbenaceae reúne 36 gêneros e 1000 espécies (SOUZA e LORENZI, 2005), ocorrendo em regiões tropicais, subtropicais e temperadas da América, África e Índia, sendo um dos

centros de mais alta diversidade as regiões subtropicais da América do Sul (SANDERS, 2001), cujos representantes são principalmente ervas perenes, arbustos e subarbustos. No Brasil, a família é representada principalmente pelos gêneros *Aloysia*, *Clerodendrum*, *Lantana*, *Lippia* e *Verbena*, e as regiões de maior ocorrência são os estados do Sudeste, Bahia, Mato Grosso do Sul, Paraná e Goiás (LORENZI, 1998). Está especialmente relacionada aos campos rupestres, mais famoso tipo de vegetação da Chapada Diamantina, que geralmente ocorre acima de 700 metros de altitude, em áreas rochosas expostas, com solos rasos e pouca capacidade de retenção de água (FUNCH et al., 2004).

O gênero *Lippia* foi descrito por Linnaeus em 1753 e foi assim denominado em homenagem ao explorador e naturalista italiano Augusto Lippi que foi morto numa expedição por nativos, aos 26 anos (SALIMENA-PIRES, 1991). Os principais centros de diversidade específica desse gênero estão localizados no Brasil e no México (SALIMENA-PIRES, 1998). As espécies desse gênero estão distribuídas nas regiões áridas do sudoeste dos Estados Unidos da América, nas florestas tropicais decíduas da América Central e nos campos rupestres e cerrados do Brasil, regiões de altos índices de endemismos, estendendo-se até o Uruguai e região central da Argentina. Na África sua ocorrência também coincide com centros de alto endemismo, na região leste, associada às montanhas mais altas e picos alpinos (SALIMENA, 2000).

Uma característica interessante desse gênero é que diversas espécies apresentam propriedades medicinais comprovadas, principalmente antimicrobianas, como a *Lippia origanoides* H.B.K.; *L. chevalieri* Moldenke e *L. multiflora* Moldenke; *L. gracilis* Schauer e *L. microphylla* Cham.; *L. siddoides* Cham. (SANTOS et al., 2004; BASSOLE et al., 2003; LEMOS, 1992; LEMOS, 1990). Um bom exemplo é a espécie *L. alba* (Mill) N. E. Brown, nativa do nordeste brasileiro e cultivada, cujas atividades farmacológicas - antiulcerogênica (PASCUAL et al., 2001), sedativa, ansiolítica e miorrelaxante (VALE et al., 1999) foram estudadas, apresentando grande potencial na produção de fitomedicamentos. Segundo levantamento realizado por Pascual et al. (2001), desse gênero tem sido isolados ou identificados constituintes químicos de diversas classes, entre elas estão os terpenos, ácidos fenólicos, flavononas, iridroides, cumarinas, alcaloides e saponinas.

De acordo com Salimena-Pires (1991) o gênero *Lippia* tem sido um dos mais estudados do ponto de vista químico, com vários trabalhos sobre espécies brasileiras, desde a década de 90. Trabalhos atuais também vêm sendo realizados com as espécies *L. alnifolia* Mart. e Schauer, *L. subracemosa* Mansf., *L. thymoides* Mart. e Schauer, *L. morri*, *L. insignis* Moldenke e *L. microphylla*, coletadas no semiárido baiano para avaliação da composição química e do potencial antimicrobiano de seus óleos essenciais (LUCCHESI et al., 2006). Os resultados têm demonstrado

grande variação na quantidade e qualidade dos metabólitos entre as espécies estudadas e até mesmo dentro da mesma espécie, em acessos provenientes de localidades diferentes. Estudos apontam que, de forma geral, todos os óleos testados apresentaram atividade contra a maioria dos microorganismos, sendo a espécie *L. subracemosa* a com maior potencial antimicrobiano (CASTRO, 2005). A atividade antimicrobiana e o perfil fitoquímico de espécies do gênero *Lippia* coletadas no semiárido baiano foram estudados por Pinto (2008). Extratos metanólicos de *Lippia alnifolia*, *L. hermanioides* Cham., *L. microphylla*, *L. morri*, *L. subracemosa* e *L. thymoides* foram testados, concluindo-se que todas as espécies estudadas apresentaram atividade antimicrobiana, inibindo no mínimo dois dos microrganismos testados.

O gênero *Lippia* é caracterizado por apresentar plantas arbustivas ou subarbustivas; inflorescências racemosas em corimbos, racemos, espigas, capítulos ou tirso; brácteas coloridas ou não, plicadas, côncavas ou planas; cálice membranáceo, 2-labiado, 2-4-dentado; corola hipocraterimorfa ou infundibuliforme, zigomorfa, limbo 2-labiado, lábio anterior 3-lobado; estames 4, didínamos, inclusos. Ovário 2-locular, lóculos 1-seminado; fruto esquizocarpo (SALIMENA e SILVA, 2009).

Embora o Brasil possua grande número de espécies nativas de *Lippia*, algumas delas estão ameaçadas de extinção, como exemplos, *Lippia bromleyana* Moldenke (Brasil, 2008) e a *Lippia rhodocnemis* Mart. e Schauer (FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS, 2005), em virtude da forma extrativista de exploração, justificando ações e estudos de conservação dessas espécies.

O número de instituições que têm atividades vinculadas à conservação de germoplasma de plantas medicinais é inversamente proporcional à riqueza da biodiversidade do País. Em 1992 foram relacionadas somente seis instituições, sendo apenas duas na região Nordeste, com coleções de germoplasma de plantas medicinais, onde eram mantidos 855 acessos (SCHEFFER et al., 1992). Um levantamento realizado por Ramos et al. (2008) identificou a existência de 115 coleções de germoplasma no Nordeste do país, com 233 espécies vegetais conservadas, desse total, as ornamentais tropicais e medicinais/aromáticas/condimentares corresponderam, conjuntamente a 57%. Estes grupos, de acordo com Ramos et al. (2008), constituem alternativas promissoras para a pesquisa, inovação e fortalecimento do agronegócio da região Nordeste, desde que sejam desenvolvidas atividades de manejo dos acessos, considerando os vários biomas existentes na região. Esse quadro indica a necessidade de implantação de Bancos Ativos de Germoplasma e/ou Coleções de Plantas Medicinais no Brasil, sobretudo em Estados que apresentam grande biodiversidade aliada a um elevado grau de endemismo e forte ação antrópica, como ocorre com as espécies do gênero *Lippia* no Estado da Bahia.



Na Região da Chapada Diamantina, no semiárido baiano, são encontradas diversas espécies do gênero *Lippia*, entre elas a *Lippia thymoides*, *Lippia lasiocalycina*, *Lippia bromleyana* e *Lippia insignis*, alvo de estudo nesse trabalho. *Lippia thymoides* e *Lippia lasiocalycina* possuem distribuição mais ampla no país (Bahia e Minas Gerais para *L. thymoides* e Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso, São Paulo e Paraná para *L. lasiocalycina*), enquanto que as demais são endêmicas do semiárido baiano (Chapada Diamantina). Apesar de possuírem grande potencial sócio-econômico, em virtude da produção de metabólitos secundários, como os óleos essenciais, e pela utilização na medicina popular por meio do conhecimento tradicional, são raros os estudos fitoquímicos, farmacológicos e agrônômicos, sendo que, até o momento, nenhuma ação de domesticação foi desenvolvida com essas espécies.

*Lippia bromleyana* Moldenke (Figura 1) é nativa e endêmica do Brasil, ocorrendo nos domínios fitogeográficos da caatinga e do cerrado do Estado da Bahia (SALIMENA et al., 2010). Atualmente encontra-se na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (BRASIL, 2008).



**Figura 1.** Detalhe da inflorescência (A), folha (B) e ramo de *Lippia bromleyana* Moldenke (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia.

*L. lasiocalycina* Cham. (Figura 2) é uma espécie nativa, porém não endêmica do Brasil. Seus domínios fitogeográficos são a Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. No Brasil ocorre nas regiões Nordeste, no Estado da Bahia; Centro-Oeste, no Estado do Mato Grosso; Sudeste, em Minas Gerais e São Paulo e Sul, no Estado do Paraná (SALIMENA et al., 2010). O extrato etanólico de folhas e caule de *L. lasiocalycina* apresentou fenilpropanoides e verbacosídeos, sendo ausentes flavonoides na amostra analisada (FUNARI et al., 2012).

*L. insignis* Moldenke (Figura 3) é uma espécie nativa e endêmica do Brasil, com distribuição geográfica na região Nordeste, no Estado da Bahia, ocorrendo nos domínios fitogeográficos caatinga e cerrado (Salimena et al., 2010), com distribuição apenas na Bahia, na cidade de Morro do Chapéu (11°35'S, 41°12'W) (SALIMENA et al., 2009). É descrita botanicamente como arbusto com até 2 metros de altura, pouco ramificado, aromático; folhas ovado-deltóides, coriáceas, escabras, verde-escuras adaxialmente; inflorescências paucifloras; flores magenta, encontrada com flores em junho (MOLDENKE, 1965).



**Figura 2.** Detalhe da inflorescência (A), folha (B) e ramo de *Lippia lasiocalycina* Cham. (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia.

*L. insignis* encontra-se inserida na Lista de Espécies da Flora Brasileira com Deficiência de Dados (BRASIL, 2008). Análise fitoquímica revelou teor de óleo essencial em suas folhas de 2,85%, tendo o constituinte majoritário o limoneno e seu óleo essencial apresentou potencial antimicrobiano (CASTRO, 2005).

*L. thymoides* Mart. e Schauer (Figura 4) é uma espécie nativa e endêmica do Brasil, ocorrendo nas regiões Nordeste, no Estado da Bahia, e na região Sudeste, no Estado de Minas Gerais, possuindo como domínios fitogeográficos o cerrado e a caatinga (SALIMENA et al., 2010). É conhecida popularmente como alecrim-do-mato e utilizada na medicina popular no combate a dor de cabeça, segundo levantamento etnobotânico realizado em Amélia Rodrigues – Bahia (SANTANA et al., 2008), e no tratamento de feridas, bronquite, reumatismo e febre (SILVA, 2012).

É descrita como um arbusto de até 2 metros de altura, muito fino, ereto, ramificado com folhas muito pequenas; as flores são brancas ou lilases, com a parte central amarela, reunidas em grupos pequenos e compactos na base das folhas, que ocorrem no ápice dos ramos; é frequentemente encontrado nas áreas mais secas do cerrado, especialmente nas áreas de transição para a caatinga (FUNCH et al., 2004). Apresenta folhas opostas nos ramos normais, fasciculadas nos braquiblastos, discolores, coriáceas, 0,5-1 cm de comprimento, 2-3 mm de largura, oblongo-cuneadas, ápice obtuso, mucronado, margem inteira, revoluta, face adaxial escabra, uninérvea, face abaxial glandular-pulverulenta; inflorescências axilares, solitárias, subglobosas, compactas com aproximadamente 1 cm de comprimento; brácteas imbricadas, oval-lanceoladas, ápice agudo, 3-nérvea, glandulosa, ciliada; cálice com aproximadamente 2 mm de comprimento, bilobado; corola rósea, fauce alva, infundibuliforme, 7 mm comprimento (SALIMENA e SILVA, 2009).



**Figura 3.** Detalhe da inflorescência (A), folha (B) e ramo de *Lippia insignis* Moldenke (C) cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia.

Coletada no município de Feira de Santana – BA, *L. thymoides* apresentou teor de óleo essencial de 1,98%, sendo identificado como composto majoritário o limoneno ou 1,8 cineol, apresentando potencial antimicrobiano (CASTRO, 2005). Contudo, Funch et al. (2004) indicaram como constituinte majoritário do seu óleo essencial o timol, assim como Harley e Giulietti (2004), quando citam que *L. thymoides* encontrada na estrada de Rio Real – BA é fortemente aromática por conter no óleo essencial o timol, um poderoso anti-séptico. Contudo, em trabalho realizado por Silva (2012) foi identificado como composto majoritário de óleo essencial o  $\beta$ -cariofileno, apresentando efeito antinociceptivo, espasmolítica e antimicrobiano.



**Figura 4.** Detalhe da inflorescência e folha (A), ramo (B) e planta inteira de *Lippia thymoides* Mart e Schauer cultivada na Unidade Experimental Horto Florestal, UEFS, Feira de Santana, Bahia.

Além de óleos essenciais, Pinto (2008) identificou diversas substâncias de diferentes classes em extratos foliares e/ou caulinares (hexânico, diclorometano, acetato de etila e água) para espécimes de *Lippia* coletadas em Rio de Contas – BA. Essas substâncias foram identificadas como sendo terpenos, triterpenos e esteroides em todas as frações de extratos foliares e caulinares analisados; antraquinona e cumarinas exceto nas frações de hexano (caule) e acetato de etila (folhas); flavonoides, exceto na fração de hexano (caule) e saponinas apenas nos extratos aquoso e de acetato de etila de folhas e caules de *L. thymoides*. De acordo com a autora as frações em diclorometano e água de extratos de folha e em diclorometano de extratos de caule são as mais promissoras na busca de novos antibióticos, pela ação antimicrobiana observada e pela presença de metabólitos potencialmente ativos.

## 2.3 Caracterização e avaliação de germoplasma de plantas medicinais

A caracterização de germoplasma se constitui numa das fases mais importantes de programas de melhoramento genético visto que, a seleção de genótipos com características desejadas e o conhecimento do germoplasma disponível são essenciais na conservação e melhoramento das espécies (OLIVEIRA, 2008).

O *Bioversity International* determina uma diferença prática para os processos de caracterização e avaliação de germoplasma, estabelecendo que as características consideradas ambientalmente estáveis, altamente herdáveis, qualitativas, mono ou oligogênicas e facilmente manipuláveis no melhoramento genético definem o foco do processo de caracterização, que pode ser morfológica, fenológica, reprodutiva, bioquímica, citogenética e molecular. A avaliação utiliza características quantitativas com forte influência ambiental, governada por poucos ou muitos genes, não facilmente manipuláveis e úteis no processo de melhoramento dos cultivos (RAMOS et al., 2007).

Apesar de existir essa diferenciação prática entre os processos de caracterização e avaliação, determinada pelo *Bioversity International*, é comum nos trabalhos analisados o uso do termo caracterização para definir os dois processos. De acordo com RAMOS et al. (2007) alguns autores, como HAWKES (1982) e CHAPMAN (1989), não estabelecem uma distinção clara entre caracterização e avaliação, sendo esta a linha adotada nesse trabalho.

### 2.3.1 Caracterização morfológica e agronômica

O processo de conservação genética bem como o de domesticação de plantas requer, preliminarmente, o conhecimento mínimo de algumas características relacionadas com a espécie envolvida. O conhecimento das características morfológicas das espécies é importante, notadamente porque oferece condições ao entendimento de adaptações ocorridas pela pressão ambiental, de transformações que se verificaram em termos de estruturas secretoras que produzem os princípios ativos e de diferentes características das diversas partes das plantas que irão subsidiar posteriormente algumas estratégias de cultivo (SCHEFFER et al., 1992).

De acordo com Oliveira (2008) a caracterização morfo-agronômica busca descrever os diversos acessos de uma coleção de germoplasma utilizando como descritores características de interesse, tais como: cor do caule, das folhas, das nervuras foliares, das sépalas e pétalas das flores, início de floração, altura de planta, largura e formato da copa, comprimento e largura das lâminas foliares, relação comprimento/largura, produção de frutos/planta, produção de plantas/ha, produção de óleo/ha, entre outros.

Apesar de existirem atualmente 111 listas de descritores para diversas espécies vegetais publicadas pelo *Bioversity International* (RAMOS et al., 2007), existem poucos descritores oficiais para plantas medicinais e aromáticas, inclusive no gênero *Lippia* (OLIVEIRA, 2008). Alguns trabalhos encontrados na literatura citam descritores morfológicos para *Lippia alba*, *Lippia gracilis* e *Lippia sidoides* como: altura da planta, largura e diâmetro da copa, hábito de crescimento, comprimento da folha, comprimento da haste, área foliar, largura da folha, relação comprimento/largura da folha, cor da sépala, cor da pétala, número de inflorescência por planta, cor do caule e das folhas e margem foliar, bem como descritores agronômicos, como: massa seca e fresca foliar, da haste e das inflorescências; rendimento e teor de óleo essencial (BLANK et al., 2006; YAMAMOTO, 2006; JANNUZZI, 2006; OLIVEIRA, 2008 e CAMÊLO et al., 2011).

Alguns trabalhos foram realizados com intuito de realizar a caracterização morfo-agronômica de espécies medicinais nativas e cultivadas, visando à seleção de genótipos promissores aos programas de melhoramento genético. Blank et al. (2004) realizaram estudo de caracterização morfológica e agronômica de acessos de 55 genótipos de manjeriço alfavaca (*Ocimum* sp.) (Lamiaceae) do Banco de Germoplasma de *Ocimum* da Universidade Federal de Sergipe, visando a seleção de genótipos com alto rendimento de óleo essencial e rico em linalol. Foi observada diversidade entre os genótipos em todas as variáveis avaliadas, principalmente o teor e o rendimento de óleo essencial, as quais variaram de 0,202 a 2,536 mL 100g<sup>-1</sup> e 1,103 a 21,817 l/ha, respectivamente. Diante do observado para essas duas variáveis foram selecionados os genótipos NSL6421, PI197442, PI358464, PI414194, PI531396 e “Fino Verde” ao programa de melhoramento genético da espécie.

Para a espécie medicinal sambacaitá (*Hyptis pectinata* L.) (Lamiaceae) foram observadas diferenças significativas entre os seis acessos estudados, para as características altura da planta, diâmetro da copa, comprimento de folha e massa seca de folhas e galhos, onde o acesso SAM006, originado de Propriá – Sergipe, mostrou-se mais promissor (ARRIGONI-BLANK et al., 2005). Um estudo das características morfológicas e agronômicas em sete acessos de alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis* Schauer) (Verbenaceae) do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal de Sergipe, realizado por Blank et al. (2006) constatou diferença significativa apenas na variável formato da copa. Ao realizar estudo de caracterização morfológica e agronômica em acessos de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) (Verbenaceae) Santos et al. (2006) verificaram diferenças entre os acessos nas características avaliadas. Na mesma espécie foram observadas diferenças morfológicas e agronômicas entre os dez acessos avaliados, nas variáveis: cor de caule, formato de copa, altura de planta, comprimento e largura de folha, relação comprimento/largura de folha, massa seca e fresca de folha e rendimento de óleo essencial (OLIVEIRA, 2008). O acesso LSID-

105, proveniente do estado do Ceará, mostrou-se mais promissor em relação ao teor (3,05 mL 100g<sup>-1</sup> de folha fresca) e ao rendimento de óleo essencial (10,29 mL planta<sup>-1</sup>).

A espécie medicinal erva-cidreira-brasileira (*Lippia alba*) Jannuzzi (2006) observou entre 16 acessos estudados diversidade de hábitos de crescimento, produção de biomassa e de quimiotipos nas condições em que foram cultivados. Verificou ainda que genótipos com maior área foliar e comprimento de hastes tenderam a apresentar maiores teores de óleo e concentração de linalol e menor teor de geranial e neral. Yamamoto (2006), trabalhando com a mesma espécie, estudou a interação genótipo x ambiente na produção de óleo essencial, definindo que os melhores genótipos em relação às características fenotípicas avaliadas foram o IAC-8 (linalol), IAC-13 (limoneno/carvona) e IAC-17 (citral), concluindo ainda que tanto a análise fenotípica quanto os marcadores de DNA do tipo RAPD foram ferramentas eficientes para a formação de agrupamentos robustos e quantificação de divergência genética. Para a autora a avaliação das características fenotípicas foi suficiente para avaliar e caracterizar os genótipos estudados. Camêlo (2010) realizou também um estudo de caracterização morfológica e agronômica de acessos de *Lippia alba* cultivados em campo e observou diferenças morfológicas nas variáveis comprimento de ramo, diâmetro de copa, cor de caule, folhas, pétalas, hábito de crescimento, comprimento e largura de folha e relação comprimento/largura de folha. O acesso LA-60, proveniente de Rio Real, Bahia, foi o mais promissor em relação à variável agronômica rendimento de óleo essencial.

### 2.3.2 Caracterização anatômica

Importantes informações sobre as espécies de *Lippia* também podem ser encontradas em nível anatômico e micromorfológico. Nas espécies aromáticas, a caracterização das estruturas secretoras de óleo essencial representa importante ferramenta de estudo.

Os óleos essenciais são uma mistura de mono e sesquiterpenos, apresentam reconhecidas propriedades como repelentes de insetos, sendo frequentemente encontrados nos tricomas glandulares que agem como advertência sobre a toxicidade do vegetal. O tricoma é uma célula ou conjunto de células da epiderme que se projetam na forma de pelos (GONÇALVES e LORENZI, 2011), sendo classificados em glandulares e não glandulares; os glandulares, por sua vez, podem ser peltados, que armazenam óleos essenciais e capitados, que acumulam carboidratos de cadeia linear e alcoóis (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

De acordo com Santos et al. (2009) as folhas de espécies da família Verbenaceae possuem tricomas uni ou pluricelulares, simples, malpighiáceos ou glandulares. A frequência dessas estruturas da epiderme pode ser um indicativo da capacidade de produção de óleos essenciais em determinada espécie aromática (DESCHAMPS et al., 2006). Conhecer a estrutura dos tricomas e



estabelecer uma relação com a produção de princípios ativos, nesse caso o óleo essencial, pode contribuir significativamente no auxílio e na manutenção de caracteres de interesse comercial, através de programas de melhoramento genético (IAREMA, 2004).

Em *Lippia sidoides* foram encontrados tricomas tectores simples, cônicos, formados por 1-3 células e tricomas glandulares sésseis ou de pedículos, formados por 1-3 células com capitel simples ou raramente septado (NUNES et al., 2000). Santos et al. (2004) observaram em *Lippia alba* tricomas tectores simples, com ápice agudo e base elevada por células epidérmicas. De acordo com esses autores, nas folhas dessa espécie existem três tipos de tricomas glandulares: o primeiro apresenta uma célula basal, um pedículo alongado bicelular e uma porção capitada bicelular; o segundo é formado por uma célula basal, uma célula intermediária e uma porção capitada bicelular (estes dois tipos de tricomas encontram-se distribuídos nas faces abaxiais e adaxiais); e o terceiro, presente apenas na face abaxial, é formado por uma célula basal estreita e uma porção capitada globosa. Em *Lippia filifolia* Mart e Schauer cultivada *in vitro*, Iarema (2004) observou em ambas as superfícies epidérmicas um grande número de tricomas secretores e tectores, sendo observados três tipos de tricomas: o primeiro caracterizado por 1-2 células basais, pedículo de 2-3 células e uma cabeça secretora elíptica; o segundo caracterizado por possuir base pedículo unicelular e cabeça bicelular globular e o terceiro por possuir base, pedículo e cabeça esférica. Para *Lippia minima* foram detectadas na face adaxial das folhas tricomas glandulares capitados pedicelados e na face abaxial denso glandular, tricomas glandulares capitados sésseis e dourados (SALIMENA, 2010).

O estudo da anatomia dessas estruturas secretoras de óleo essencial pode ser uma ferramenta valiosa na caracterização de germoplasma de plantas aromáticas, tanto em nível interespecífico quanto intraespecífico.

### **2.3.3 Caracterização química**

Os estudos fitoquímicos têm por objetivo extrair, identificar e isolar os constituintes do metabolismo secundário dos vegetais. Uma das principais aplicações destes estudos é a criação e produção de novos medicamentos de origem vegetal (MATOS, 2009).

Para Scheffer et al. (1992) as plantas medicinais devem ser estudadas quanto às suas características morfológicas e ambientais, associadas aos seus constituintes químicos. A importância da caracterização química nos recursos genéticos de plantas medicinais pode ser notada quando se considera que o objetivo central do melhoramento de plantas medicinais é a produtividade expressa pelos caracteres quantitativos, envolvendo principalmente o teor de princípios ativos (parâmetros agrônômicos) e pelos caracteres qualitativos (caracterização química)

envolvendo o tipo de princípios ativos e seus constituintes químicos, tais como os óleos essenciais (OLIVEIRA et al., 1992).

De acordo com Gomes et al. (2011) a composição química do óleo essencial de muitas espécies de *Lippia* tem sido investigada, demonstrando que os compostos limoneno,  $\beta$ -cariofileno, *p*-cimeno, cânfora, linalol,  $\alpha$ -pineno e timol são mais frequentemente encontrados. *Lippia alba* é, sem dúvida, a espécie mais estudada do gênero, inclusive na área fitoquímica. Devido à grande variabilidade química dessa espécie muitos autores passaram a diferenciá-la em vários quimiotipos, levando em consideração a predominância de alguns constituintes presentes no óleo essencial. Alea et al. (1996) encontrou 43 componentes, tendo a carvona como composto majoritário; Jannuzzi (2006) identificou cinco quimiotipos: limoneno-citral, mirceno-citral, mirceno-neral, citral e linalol, enquanto que Julião et al. (2003) classificaram a espécie em três quimiotipos, correspondente ao componente majoritário do óleo essencial: citral, carvona e linalol. Considerando as similaridades dos constituintes químicos do óleo essencial dos acessos de *L. alba* estudados por Camelo (2010), foi possível diferenciá-los em seis grupos, sendo que os compostos que apresentaram maior quantidade foram 1,8-cineol, linalol, mirceno, limoneno, carvona, geranial e neral.

Em *L. sidoides* a caracterização química do óleo essencial mostrou que o timol é o constituinte majoritário dos acessos estudados, com apenas um acesso apresentando como constituinte principal o carvacrol (OLIVEIRA, 2008). Em folhas de *L. gracilis* foram identificados 15 compostos, o majoritário foi o carvacrol, representando 50% do total (NETO et al., 2010).

## 2.4 Metabolismo secundário e óleos essenciais

Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos que aparentemente não possuem função direta no seu crescimento e desenvolvimento, sendo conhecidas como metabólitos secundários (TAIZ e ZEIGER, 2006), que por muitos anos foram descritos como material de refugio. Atualmente, suas funções foram elucidadas e estão relacionadas com a defesa vegetal, protegendo as plantas da herbivoria, contra infecção por microorganismos patogênicos, além de agirem como atrativos para os animais polinizadores, dispersores de sementes e como agentes na competição planta-planta (TAIZ e ZEIGER, 2006). Para o homem essas substâncias são usadas para fins terapêuticos.

A produção de metabólitos secundários não é uniformemente distribuída na planta, ocorrendo em órgãos ou tecidos específicos, em determinado estágio de desenvolvimento e geralmente apresentam composição química complexa; os três grupos quimicamente distintos mais conhecidos são: alcalóides, compostos fenólicos e terpenoides (RAVEN et al., 2007)

Os terpenos são compostos por unidades isoprênicas, sendo classificados em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos e politerpenos, de acordo com o número de unidades de isopreno que possui; duas, três, quatro, cinco, seis e oito ou mais, respectivamente. Os monoterpenos e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais das plantas (CASTRO et al., 2004).

Os óleos essenciais são constituídos de substâncias voláteis produzidas a partir do metabolismo secundário, extraídos de plantas aromáticas. São constituídos por duas classes de compostos: os terpenóides e os fenilpropanóides, sendo que os primeiros incluem a maioria dos constituintes. A origem desses compostos se dá por vias metabólicas distintas: os terpenóides são sintetizados no citoplasma pela rota do ácido mevalônico ou pela via plastídica do metileritritol fosfato (MEP); já a síntese dos fenilpropanóides ocorre pela via do chiquimato (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Os óleos essenciais possuem características físico-químicas peculiares: aparência oleosa a temperatura ambiente; volatilidade; aroma agradável; solubilidade em solventes orgânicos apolares; geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; não são estáveis em presença de luz, ar, calor, umidade e metais; sendo que algumas destas propriedades são usadas na identificação e controle da qualidade dos óleos essenciais (SIMÕES e SPITZER, 2000). Sua produção nos vegetais é determinada geneticamente, embora outros fatores possam acarretar alterações na produção dos metabólitos secundários, sobretudo quantitativamente, os quais representam uma interface química entre as plantas e o ambiente. Estímulos decorrentes do ambiente no qual a planta se encontra podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos (MORAIS, 2009).

A demanda por óleos essenciais está em franca ascensão na indústria farmacêutica, visando produzir medicamentos; na indústria alimentícia, para conferir sabor e aroma aos alimentos; na indústria química, como aromatizante e na indústria cosmética, como fixadores para a composição de perfumes; como também pelo setor agrícola no controle alternativo de pragas e doenças (COSTA, 2008; MONTEIRO, 2009).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleos essenciais, principalmente devido aos óleos cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. No passado, o país teve destaque como exportador de óleo essencial de pau-rosa, sassafrás e menta, contudo, nos últimos anos, passou à condição de importador. Atualmente, vive um quadro estacionário devido aos problemas crônicos, como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor (BIZZO et al., 2009). Por outro lado, a biodiversidade brasileira, embora ainda pouco explorada em relação à composição química da sua flora, coloca o

Brasil numa situação promissora para aumentar a sua participação futura no mercado mundial (BIASI e DESCHAMPS, 2009), demonstrando que a produção de óleos essenciais no Brasil não é somente viável, mas rentável (BIZZO et al., 2009).

Na região semiárida do nordeste brasileiro existe diversidade de espécies vegetais, incluindo espécies medicinais e aromáticas, principalmente das famílias Lamiaceae e Verbenaceae, com elevado potencial para produção de óleos essenciais (GIULIETTI et al., 2002). Contudo, estudos devem ser realizados no âmbito da agronomia, fitoquímica, farmacologia e diversas outras áreas do conhecimento, para que se possa produzir e utilizar de forma sustentável esses recursos e, futuramente, levar a região semiárida nordestina a obter uma participação promissora na produção de óleos essenciais no Brasil e no Mundo.

#### **2.4.1 Atividade antioxidante dos óleos essenciais**

Os radicais livres são definidos como os intermediários químicos reativos oriundos do metabolismo do oxigênio, entre eles: o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou também podem ser definidos como qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nas suas camadas de valência (MAIA e BICUDO, 2009; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999). Esses radicais livres são resultantes de oxidações biológicas ocorrentes no organismo, como no metabolismo de oxigênio em que a mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora, ou ainda podem ser geradas por fatores exógenos (BARREIROS et al., 2006). Podem ter origem endógena, sendo provenientes de processos aeróbicos e do próprio metabolismo celular ou exógena, sendo produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (MIRANDA, 2010).

A produção de radicais livres e/ou espécies reativas de oxigênio é um processo contínuo e fisiológico, em que os mesmos desempenham importante função em muitos processos biológicos; no entanto, em condições em que esses radicais são produzidos excessivamente e os sistemas defensivos estão em exaustão, é criado um estado de estresse oxidativo que decorre do desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante (BARBOSA et al., 2010).

Antioxidantes naturais são substâncias benéficas à saúde humana que aumentam a resistência frente a oxidações prejudiciais no organismo (DIMITRIOS, 2006). Nessa perspectiva, estudos atuais vêm sendo realizados no intuito de encontrar substâncias antioxidantes de origem vegetal, em função dos possíveis efeitos tóxicos apresentados pelos antioxidantes sintéticos. As plantas produzem grande variedade de substâncias antioxidantes e os compostos fenólicos compreendem o principal grupo. Os compostos fenólicos possuem um ou mais grupos hidroxilas

(OH) ligados a um anel aromático, podendo ter vários grupos substituintes (ESTEVAM, 2006; CASTRO et al, 2004).

Dessa forma, os óleos essenciais conseguem inativar radicais livres, devido, principalmente, à presença de compostos fenólicos em sua composição química, como comprovam trabalhos científicos realizados. Moraes et al. (2006) mostraram o potencial antioxidante dos óleos essenciais de espécies de *Croton*, sendo que os óleos essenciais de *C. zenhntneri* Pax et Hoffm e *C. argyrophyloides* mostraram maior ação antioxidante que o *C. nepetaefolius*. Pereira e Maia (2007) avaliando o efeito antioxidante do extrato bruto e do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L., constataram que podem ser usados como fonte acessível e alternativa de antioxidante natural. Estudos com *Caryophyllus aromaticus* L., *Cymbopogon winterianus* Jowitt e *Cymbopogon martinii* (Roxb) também demonstraram potencial antioxidante (SCHERER et. al., 2009). Teles et al. (2014) avaliaram o efeito da adubação mineral e orgânica e de épocas de colheita sobre a atividade antioxidante do óleo essencial de *Lippia origanoides* em diferentes concentrações (0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2,5 25 mg mL<sup>-1</sup>) observando que o óleo essencial da espécie *Lippia origanoides* possui compostos com capacidade redutora, no qual pode-se indicar seu potencial antioxidante.

#### 2.4.2 Atividade antifúngica dos óleos essenciais

Tendo em vista a importância dos óleos essenciais também no controle de pragas e doenças, como destaca Biasi e Deschamps (2009), muitos trabalhos vêm sendo realizados com o intuito de testar o efeito dos óleos essenciais de diversas espécies aromáticas, inclusive do gênero *Lippia*, sobre insetos e fungos causadores de doenças em plantas. Esses trabalhos buscam substâncias que possam ser utilizadas no controle de pragas e doenças com eficácia e que diminuam os danos ao meio ambiente e à saúde dos agricultores e consumidores.

Testando o efeito de extratos, decoctos e óleos essenciais de espécies aromáticas na inibição dos fungos *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de tomate, Rozwalka et al. (2008) verificaram 100% de inibição para os dois fungos testados com o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L. M. Perry e apenas do último com *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* L., *Lippia citriodora* Kunth, *Cymbopogon citratus* e *Psidium guayava* Griseb var. *pomifera* foram testados sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose no maracujazeiro amarelo. As espécies *L. sidoides*, *O. gratissimum*, *L. citriodora*, *C. citratus*, apresentaram ótimos resultados, inibindo em 100% o crescimento micelial do fungo (SOUZA-JÚNIOR et al., 2009).

O óleo essencial de *Mentha arvensis* demonstrou viabilidade no controle de *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia* sp., *Fusarium verticillioides* cepa UEM e *Corynespora cassiicola*,

inibindo o crescimento dos fungos estudados na concentração de  $100\mu\text{L L}^{-1}$ , concluindo-se que uso deste óleo essencial pode ser uma alternativa eficaz no combate a organismos patogênicos causadores de doenças em diferentes espécies vegetais (SILVA et al., 2012). Trabalhando com o óleo essencial de dez espécies de Piper, Silva e Bastos (2007) encontraram bons resultados para três dessas espécies (*P. callosum*, *P. marginatum* var. *anisatum* e *P. enckea*), obtendo ação fungitóxica significativa contra *Crinipellis pernicioso* (= *Moniliophytora pernicioso*), *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. Para o fungo causador da vassoura-de-bruxa no cacaueteiro (*Moniliophytora pernicioso*), Chaussê et al. (2011) testaram o óleo essencial de *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis* e *Syzygium aromaticum*, demonstrando que os óleos essenciais dessas espécies são promissores no controle do fungo, o que poderá contribuir para redução do uso de fungicidas e, conseqüentemente, um menor impacto ao ambiente.

## 2.5 REFERÊNCIAS

- ALEA, J. A. P. et al. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill). N.E.Br. **Revista Cubana de Farmácia**, v.30, n.1, p.1-6, 1996.
- ARRIGONI-BLANK, M. F. et al. Morphological, agronomical and pharmacological characterization of *Hyptis pectinata* (L. Poit) germplasm. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 298-303, 2005.
- AZEVEDO, Bianca Oliveira de. 2013. **Crescimento, produção e composição química do óleo essencial de *Martianthus leucocephalus* (Mart. ex Benth.) J. F. B. Pastore em condições de Feira de Santana, Bahia, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais). Universidade Estadual de Feira de Santana.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas-SP, v. 23, p. 629-643, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, p. 113-123, 2006.
- BASSOLE, I. H. N. et al. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oil of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. **Phytochemistry**, n. 62, p. 209-212, 2003.
- BIASI, Luiz Antônio; DESCHAMPS, Cícero. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleos essenciais**. 1ª. edição. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, Curitiba, 2009. 160 p.
- BIZZO, H.; 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. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p. 113-116, 2004.

BLANK, A.F. et al. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de *Lippia gracilis*. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 46., Goiânia, 2006. **Anais...** Brasília: Horticultura Brasileira, 2006. p.2842-6.

BRASIL, Ministério do meio ambiente. **Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção**. Brasil, 2008.

CAMELO, L. C. A. et al. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de erva-cidreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 7, p. 1-8, 2011.

CAMELO, Lúcia Cristina Alves. **Caracterização de germoplasma e sazonalidade em erva-cidreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]**. 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Sergipe, Aracajú.

CASTRO, Henrique Guilhon; FERREIRA, Francisco Afonso; SILVA, Derly José Henrique; MOSQUIM, Paulo Roberto. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabólitos secundários**. 2ª. Edição. Editora Visconde do Rio Branco, Viçosa, 2004. 113 p.

CASTRO, Priscila Ribeiro de. **Óleos essenciais de espécies de *Lippia* (Verbenaceae) do semi-árido baiano: potencial antimicrobiano e composição química**. 2005. 1 v. 24f Monografia (Graduação em Farmácia) Departamento de Saúde, UEFS, Feira de Santana, Bahia.

CHAPMAN, C. **Principes of germoplasm evaluation**. In: STALKER, H.T.; CHAPMAN, C. Scientific management of germoplasma: characterization, evaluation and enhancement. Rome: IBPGR training courses: Lecture series 2, p. 55-63, 1989.

CHAUSSE, T. C. C. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre a vassoura de bruxa do cacauero. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 492-496, 2011.

CHAVES, F. C. M. et al. Teor de óleo essencial e seus constituintes em alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) de três regiões geográficas distintas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, p.S1462-S1465, 2008.

CORREA Jr, C. SCHEFFER, M. C. MING, L. C. **Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Ministerio de Desenvolvimento Agrario, Brasilia, 2006, 76 p.

COSTA, Larissa Corrêa do Bonfim. **Condições culturais, anatomia foliar, processamento e armazenamento de *Ocimum selloi* em relação ao óleo essencial**. 2008. 1 v. 161f. Tese (Doutorado em Agronomia), UFLA, Lavras, Minas Gerais.

DESCHAMPS, C et al. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquática* L. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 28, n.1, p.23-34, 2006.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science e Technology**, v.17, n.9, p.505-512, 2006.

ESTEVAM, Charles dos Santos. **Estudo fitoquímico biomonitorado da entrecasca de *Maytenus rígida* Mart. (Celastraceae)**. 2006. 189 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2006.

FUNARI, C. S. et al. Chemical and antifungal investigations of six *Lippia* species (Verbenaceae) from Brazil. **Food Chemistry**, v.135, p. 2086–2094, 2012.

FUNCH, Ligia Silveira; HARLEY, Raymond M; FUNCH, Roy. **Plantas úteis: Chapada Diamantina**. São Carlos: Rima, 2004. 206 p.

FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS, 2005. **Lista da Flora Brasileira de Espécies Ameaçadas de Extinção**. ([http://www.biodiversitas.org.br/cepf/edital/flora\\_brasil.pdf](http://www.biodiversitas.org.br/cepf/edital/flora_brasil.pdf)). Acesso em 20 de jan. 2012.

GIULIETTI, A. M. et al. **Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga**. Disponível em: <[HTTP://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18267/1/BioDiversidade\\_Caatinga\\_parte2.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18267/1/BioDiversidade_Caatinga_parte2.pdf)> 2002.

GIULIETTI, A. M. et al. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v.1, p.52-62, 2005.

GIULIETTI, A. M. et al. Espécies endêmicas da caatinga. In: SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L. **Vegetação e Flora da Caatinga**. Associação plantas do nordeste – APNE. Centro Nordestino de Informações sobre plantas – CNIP. Recife, p.103-118. 2002.

GOMES, S. V. F; NOGUEIRA, P. C. L; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, n. 36, 2011.

GONÇALVES, Eduardo Gomes; LORENZI, Harri. **Morfologia Vegetal. Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. 2ª ed.. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2011. 512 p.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 3.ed. New York: Oxford University Press, 1999. 936p.

HARLEY, Raymond. M; GIULIETTI, Ana Maria. **Wild flowers of the Chapada Diamantina. Illustrated botanical walks in the mountains of NE Brazil**. Editora Rima, 2004. 319 p.

HAWKES, J. G. **Germplasm collection, preservation, and use**. In: FREY, K. J. Plant Breeding II. Ludhiana: Kalyani Publishers: New Delhi. 1982. p. 57-83.

IAREMA, Lourdes. ***Lippia filifolia* MART. (VERBENACEAE) cultivada *in vitro*: anatomia foliar, efeito de irradiância e de fitorreguladores**. 2004. 1 v. 98f. Dissertação (Mestrado em Botânica). UFV, Viçosa – MG.

JANNUZZI, Hermes. **Caracterização de dezesseis acessos de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Brown, no Distrito Federal**. 2006. 1 v. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). UNB, Brasília, Distrito Federal.

JULIÃO, L. S. et al. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl. p. 36-38, 2003.



LEMOS, T. L. G et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. **Fitoterapia**, v. 63, n.3, p.266-268, 1992.

LEMOS, T. L.G. et al. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytotherapy Research**, n. 4, p. 82-82, 1990.

LORENZI. Harri. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**, 2a ed., Ed. Plantarum, 1998. 142 p.

LUCCHESI, A. M. et al. Comparação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de espécies do semi-árido baiano. In: 29a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia (**Anais**) 2006. p. PN285.

MAIA, M.S; BICUDO, S.D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.33, n.4, p.183-193, Oct./Dez. 2009.

MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3 edição, editora ufc, fortaleza, 2009. 148 p.

MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. Fortaleza: IU/UFC, 2000. 346 p.

MIRANDA, Cíntia Alvarenga Santos Fraga de. 2009. **Atividade antioxidante de óleos essenciais de folhas de diversas plantas**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Lavras.

MOLDENKE, H.N. Materials towards a monograph of the genus *Lippia* 5. **Phytologia**, v. 12, p. 252-312, 1965.

MONTEIRO, Rodrigo. **Desenvolvimento de menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 2009. 1 v. 81f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 4050 - 4063, 2009.

MORAIS, S. M. et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.

NETO, R. M. et al. O óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae em ratos diabéticos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, 2010.

NUNES, R. S et al. Padronização Botânica de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 19, n.2, p. 115-8, 2000.

OLIVEIRA, J. E. Z.; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. **Recursos genéticos e perspectivas do melhoramento de plantas medicinais**. 1992. Disponível em: <http://www.cpsa.br/catalogo/livrorg/medicinaisalmelhoramento.pdf>. Acesso em: 11 Janeiro 2012.

OLIVEIRA, Tereza Cristina de. **Caracterização e comportamento de acessos de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) mantidos em Banco Ativo de Germoplasma em São Cristóvão – Se.** 2008. 1 v. 86f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) UFS, São Cristóvão, Sergipe.

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

PEREIRA, C.A.M.; MAIA, J.F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(3): 624-632, jul.-set. 2007.

PINTO, Cristiana da Purificação. **Atividade antimicrobiana e perfil químico de espécies do gênero *Lippia* do semiárido da Bahia.** Dissertação de Mestrado (Biotecnologia). 2008. 116 f, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.

RAMOS, S. R. R. R. et al. Germoplasma vegetal conservado no nordeste brasileiro: situação atual, prioridades e perspectivas. **Revista Magistra**, Cruz das Almas, v. 20, n. 3, p. 205-217, 2008.

RAMOS, S. R. R. R. et al. Recursos genéticos vegetais: manejo e uso. **Revista Magistra**, Cruz das Almas v. 19, n. 4, p. 265-273, 2007.

RAVEN, P. H; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 7 ed, 2007, 830p.

ROZWALKA, L. C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

SALIMENA, F. R. G. Uma nova espécie de *Lippia* L. (Verbenaceae) do cerrado brasileiro. **Acta Botânica Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 232-234, 2010.

SALIMENA, F. R. G.; SILVA, T. R. S. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Verbenaceae. **Boletim de Botânica Universidade São Paulo**, v. 27, n.1, p. 119-120, 2009.

SALIMENA, F., FANÇA, F., SILVA, T. R. S. Verbeaceae. In: Giulietti, A.M.; Rapini, A.; Andrade, M.J.G.; Queiroz, L.P.; Silva, J.M.C.. (Org.). **Plantas Raras do Brasil**. Belo Horizonte: Conservação Internacional - Brasil e Universidade Estadual de Feira de Santana, 2009, p. 23-35.

SALIMENA, F.R.G. Novos sinônimos e tipificação em *Lippia* sect. *Rhodolippia* (Verbenaceae). **Hickenia**, v. 3, p.145-149, 2002.

SALIMENA, F.R.G. et al. **Verbenaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB021433>). Acesso em: 20 fevereiro 2012.

SALIMENA, Fátima Regina Gonçalves. **Revisão taxonômica de *Lippia* L. sect. *Rhodolippia* Schauer (Verbenaceae).** 2000. 1 v. Tese. (Doutorado em Botânica) USP, São Paulo, São Paulo.

SALIMENA-PIRES, F. R. **Verbenaceae na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil.** 1991. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de São Paulo, São Paulo.

- SALIMENA-PIRES, F.R; GIULIETTI, A.M. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Verbenaceae. **Boletim Botânico da Universidade de São Paulo**, v.17, p. 155-18, 1998.
- SANDERS, R. W. The genera of Verbenaceae in the Southeastern United State. **Harvard Papers in Botany**, v. 5, n. 2, p. 303-358, 2001.
- SANTANA, D. L. et al. Plantas com propriedades terapêuticas utilizadas na comunidade de Campos, Amélia Rodrigues, Bahia, Brasil. **Magistra**, v. 20, n. 3, p. 218-230, 2008.
- SANTOS, F. B. et al. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia origanoides* H. B. K. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, p. 504-506, 2004.
- SANTOS, J. S. dos. et al. Verbenaceae sensu stricto na região de Xingó: Alagoas e Sergipe, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 985-998, 2009.
- SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R.; SOARES, A. A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. Em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 35, n. 2, p. 377– 83, 2004.
- SANTOS, R. B. et al. **Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de alecrim-pimenta na época chuvosa**. 2006. Disponível em: [http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/46\\_0699.pdf](http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/46_0699.pdf). Acesso em: 14 maio 2012.
- SCHEFFER, M. et al. **Conservação de recursos genéticos de plantas medicinais**. Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro, 25p. 1992.
- SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-daíndia, citronela e palma-rosa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.11, n.4, p.442-449, 2009.
- SILVA, D.M.H. e BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 143-145, 2007.
- SILVA, Fabrício. 2012. **Estudo fitoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (Verbenaceae)**. Tese de Doutorado (Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana Bahia. 143 fl.
- SILVA, J. S.; OLIVEIRA, R.C.; DINIZ, S. P. S. S. Óleo essencial de *Mentha arvensis* L. como agente no controle de fungos fitopatógenos. **Pesquisa agropecuária pernambucana**, Nota Científica, v. 17, n. único, p. 99-100, 2012.
- SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Cap.18. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000.
- SKORUPA, Ladislau Araújo; VIEIRA, Roberto Fontes. **Coleta de germoplasma de Plantas Medicinai**s. IN: WALTER, B. M. T. e CAVALCANTI, T. B. Fundamentos para coleta de germoplasma vegetal. Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. Cap. 14, p. 436-468, 2005.

SOUZA, Vinícius Castro; LORENZI, Harri. Botânica sistemática – guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira baseado em AP G II. São Paulo, **Instituto Plantarum**, 2005.

SOUZA-JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia Vegetal**. Artimed, 3 ed., 722p, 2006.

TELES, Simone. 2010. **Avaliação do teor e da composição química das folhas de lippia Alba (Mill) n.e.br. e mentha piperita l. cultivadas em Cruz das Almas, Santo Antonio e Amargosa, submetidas às diferentes épocas de colheita e processos de secagem**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Univesidade Federal do Recôncavo da Bahia. 99fls.

TELES, S. et al. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia origanoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p.169–176, 2014.

VALE, T.G. et al. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal Ethnopharmacology**, v.167, p. 127-33, 1999.

VASCONCELLOS, A. G. et al. Fitofármaco, fitoterápico, plantas medicinais: o reducionismo e a complexidade na produção do conhecimento científico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 103-105, 2002.

YAMAMOTO, Paula Iuri. **Interação genótipo x ambiente na produção e composição de óleos essenciais de Lippia alba (mill.) N. e. Br.** 2006. 1 v. 78f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Sub-tropical). IAC, Campinas, São Paulo.

**CAPÍTULO I****CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA DE ESPÉCIES  
NATIVAS DE *LIPPIA*\***

\* “Agronomic and morphological characterization of *Lippia* native species”. Artigo submetido ao periódico *Journal of medicinal plants research*.

## CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E AGRONÔMICA DE ESPÉCIES NATIVAS DE *LIPPIA*

OLIVEIRA, A. R. M. F. de<sup>1</sup>, OLIVEIRA, L. M<sup>2</sup>, PASTORE, J. F. B<sup>3</sup>, SILVA, T. R. S<sup>4</sup>, COSTA, L. C. B<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Agropecuária, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano (IFBAIANO)

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, (UFSC)

<sup>4</sup>Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC)

**RESUMO:** O gênero *Lippia* L. é representado por diversas espécies aromáticas, produtoras de óleos essenciais com atividade biológica, principalmente antimicrobiana. O semiárido apresenta grande riqueza de espécies de *Lippia*, que potencialmente podem vir a ser exploradas economicamente. Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização morfológica e agronômica de quatro espécies desse gênero, nativas do semiárido baiano. As espécies foram coletadas em municípios baianos localizados na região semiárida e o experimento foi realizado em Feira de Santana, Bahia. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições e quatro plantas por repetição para cada espécie. Foram realizadas caracterizações morfológicas quantitativas e qualitativas, nas quais foram avaliados os caracteres de caule, folha e inflorescência; além da caracterização agronômica, onde se avaliou a massa fresca e seca das inflorescências, folhas e caule, teor e rendimento de óleo essencial. Os resultados demonstraram diferenças morfológicas entre as espécies em todas as características avaliadas, com exceção apenas ao número de flores por inflorescência. Na caracterização agronômica foram encontradas diferenças em todos os caracteres avaliados, sendo que a espécie *Lippia lasiocalycina* se destacou em relação à variável rendimento de óleo essencial.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Lippia insignis*, *L. lasiocalycina*, *L. bromleyana*, *L. thymoides*, óleo essencial, germoplasma.

**ABSTRACT:** The genus *Lippia* L. is represented by various aromatic species, essential oils production with biological activity, especially antimicrobial. The semiarid has a great wealth of species of *Lippia*, which can potentially turn out to be economically exploited. This work was aimed at making the morphological and agronomic characterization of four species of this genus, native of Bahia semiarid. The species were collected in Bahia municipalities located in the semiarid region and the experiment was conducted in Feira de Santana, Bahia. The experimental design was a randomized block with four replications and four plants per replicate for each species. Quantitative and qualitative morphological characterizations were performed, in which we evaluated the stem characters, leaf and inflorescence; beyond the agronomic characterization, which evaluated the fresh and dry weight of the flowers, leaves and stem, essential oil content and yield. The results showed morphological differences between species in all traits, except only the number of flowers per inflorescence. In characterizing agronomic differences were found in all traits, and the *Lippia lasiocalycina* species stood out in relation to the variable oil yield.

**KEYWORDS:** *Lippia insignis*, *L. lasiocalycina*, *L. bromleyana*, *L. thymoides*, Essential Oil, Germplasm.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A família Verbenaceae compreende espécies ornamentais, madeireiras e medicinais tornando-as de importância sob o ponto de vista econômico (MELO et al., 2010). *Lippia* L. é um dos maiores gêneros de Verbenaceae, com cerca de 100 espécies (O'LEARY et al., 2012). Esse gênero inclui diversas plantas aromáticas e medicinais com potencial econômico para indústrias farmacêuticas e de cosméticos, devido, principalmente à produção de óleos essenciais nas suas folhas e inflorescências. Segundo levantamento realizado por Pascual et al. (2001), desse gênero tem sido isolados ou identificados constituintes químicos de diversas classes, entre elas estão os terpenos, ácidos fenólicos, flavononas, iridóides, cumarinas, alcaloides e saponinas.

Muitas espécies desse gênero são nativas do Brasil, como a *Lippia lasiocalycina* Cham. e do semiárido baiano, como *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia thymoides* Mart. e Schauer e *Lippia bromleyana* Moldenke. A espécie *Lippia lasiocalycina* é nativa, porém não endêmica do Brasil; com domínios fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (SALIMENA et al., 2010). *Lippia insignis* é nativa e endêmica do Brasil, com distribuição geográfica restrita na região Nordeste, no estado da Bahia, ocorrendo nos domínios fitogeográficos caatinga e cerrado (SALIMENA et al., 2010) e encontra-se inserida na Lista de espécies da flora brasileira com deficiência de dados, publicada em 2008 pelo Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2008). *Lippia thymoides* é nativa e endêmica do Brasil, ocorrendo no estado da Bahia e Minas Gerais, ocorrendo nos domínios fitogeográficos do cerrado e da caatinga (SALIMENA et al., 2010). Conhecida popularmente como alecrim-do-mato, produz aproximadamente 2% de óleo essencial e como composto majoritário foi identificado o timol (FUNCH et al., 2004) e  $\beta$ -cariofileno (SILVA, 2012); a infusão em água das suas folhas tem sido usada como banho para combater infecções de pele (FUNCH et al., 2004). E a espécie *Lippia bromleyana* é nativa e endêmica do Brasil e ocorre nos domínios fitogeográficos da caatinga e do cerrado, com distribuição geográfica restrita à região Nordeste, estado da Bahia (SALIMENA et al., 2010).

Para as espécies *Lippia insignis*, *Lippia lasiocalycina* e *Lippia bromleyana* não foram encontrados na literatura científica consultada, até o momento, dados em relação à produção e composição química do óleo essencial ou atividade biológica. De acordo com Ramos et al. (2008), muitas espécies medicinais nativas, exploradas de forma extrativista, estão submetidas a riscos de extinção, situação esta que se agrava ao longo dos anos e tem sido motivada por diversas causas, a exemplo da intensa utilização popular, para comercialização em feiras livres, além do desmatamento e incêndios.

Considerando que esses recursos genéticos vegetais apresentam potencial medicinal e econômico, justifica-se maiores estudos, sobretudo em relação à caracterização das espécies, com



identificação de descritores morfológicos e agronômicos, dada à dificuldade de identificação até mesmo em nível de espécie. A caracterização morfológica e agronômica dessas espécies permitirá a seleção dos genótipos mais promissores para o cultivo, selecionando aqueles que apresentam características superiores, principalmente relacionadas à produtividade de óleo essencial e de seus compostos majoritários, além de contribuir para a conservação desses importantes recursos genéticos vegetais.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar a caracterização morfológica e agronômica de quatro espécies de *Lippia* coletadas no semiárido baiano.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

#### Coleta e cultivo

O experimento foi realizado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, utilizando quatro espécies do gênero *Lippia*: *L. insignis*, *L. bromleyana* e *L. thymoides* coletadas no município de Morro do Chapéu - Bahia e *L. lasiocalycina* coletada em Santa Terezinha - Bahia. Exsiccatas das espécies coletadas foram enviadas ao Herbário da UEFS (HUEFS) onde foram devidamente identificadas pela especialista Dra. Tânia Regina dos Santos Silva e encontram-se cadastradas com vouchers números 193480 (*L. insignis*), 193481 (*L. lasiocalycina*) 77554 (*L. thymoides*) e 212549 (*L. bromleyana*). Tabela com as coordenadas geográficas, altitudes e locais das espécies coletadas encontra-se em anexo (Anexo A).

As mudas foram produzidas a partir de estacas herbáceas com aproximadamente 15 cm de comprimento, utilizando-se substrato comercial biomix®. As mudas foram acondicionadas em bandejas de poliestireno com 128 células (Figura 5A), e mantidas durante 45 dias em mini-estufa plástica com nebulização intermitente, a cada 1 hora e 30 minutos, com duração de 2 minutos cada, totalizando oito nebulizações por dia. Após 45 dias do plantio as mudas foram transplantadas para sacos de polietileno preto com 10 x 25 cm, preenchidos com uma mistura de composto orgânico (obtido a partir da compostagem de folhas secas e esterco bovino) e terra vegetal (1:1), mais fertilizante superfosfato simples (18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) na proporção de 1kg por m<sup>3</sup> da mistura, sendo mantidas em casa de vegetação (Figura 5B) com irrigações diárias durante 30 dias. Após esse período de aclimação as mudas foram transplantadas para área de cultivo, onde o solo foi previamente capinado e revolvido com enxadão, plantando-se as mudas em covas com 20 x 20 x 20 cm de dimensão (Figura 5C), com espaçamento entre plantas de 50 x 100 cm. Plantas da espécie *Lippia insignis* foram plantadas em toda circunferência do experimento para reduzir o efeito de

bordadura (Figura 5D). Médias de temperatura, umidade do ar e pluviosidade na região durante o período de realização do experimento foram coletadas e encontram-se em anexo (Anexo B).



**Figura 5.** Mudanças de espécies de *Lippia* acondicionadas em bandejas de poliestireno (A), mudas em aclimatação em casa de vegetação com 45 dias (B), aberturas das covas para o plantio (C), experimento já implantado na Unidade Experimental Horto Florestal (D). Feira de Santana, Bahia.

Antes da implantação do experimento foi realizada a análise química do solo, cujos resultados encontram-se em anexo (Anexo C). Com base nos resultados da análise do solo foi realizada adubação orgânica, 15 dias antes do plantio, utilizando-se esterco bovino curtido (0,5 litro por cova) e adubação fosfatada (15 gramas de superfosfato simples cova). Durante todo o experimento foram realizadas capinas manuais, a cada quinze dias, com auxílio de enxada e irrigações em dias alternados utilizando-se microaspersores.

### **Caracterização morfológica e agrônômica**

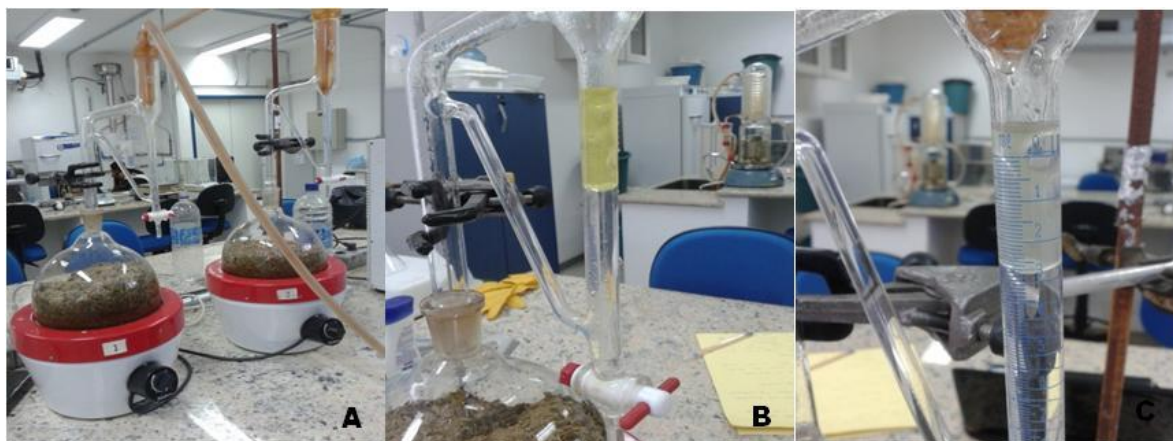
A caracterização morfológica qualitativa seguiu a metodologia proposta por Gonçalves e Lorenzi (2010), sendo realizada aos 120 dias após o transplante das mudas para o local definitivo. As folhas e inflorescências foram analisadas com auxílio da Lupa binocular (Diagtech), determinando-se o hábito de crescimento, tipo de ramificação, características do limbo (formato,

ápice, base, margem venação, consistência e pilosidade), cor e formato das brácteas, tipo e posição das inflorescências, tipo de perianto e cor das pétalas. A caracterização morfológica quantitativa foi realizada cinco dias após a caracterização morfológica qualitativa, avaliando-se a altura da planta (m), diâmetro do caule (mm), diâmetro da copa (m), comprimento da folha (cm), largura da folha (cm), relação comprimento/largura da folha, peso fresco da folha (g), tamanho do pecíolo (cm), tamanho de pedicelo (cm), tamanho da bráctea (cm), número de flores por inflorescência e número de inflorescência por planta. Foram utilizados nestas avaliações fita métrica, régua e paquímetro digital.

Para quantificação da biomassa e dos óleos essenciais as plantas foram colhidas à aproximadamente 15 cm do solo aos 170 dias após o transplante e foram avaliados os seguintes caracteres: massa fresca (g) e seca (g) das inflorescências, folhas e caule, teor (%) e rendimento de óleo essencial, expresso em Kg de óleo por hectare. O material vegetal foi seco em estufa com ventilação forçada de ar à 60°C para o caule e 40°C para inflorescências e folhas, até peso constante. Após secagem o material foi moído em moinho Tipo Willey e pesado, utilizando balança analítica.

### **Extração de óleo essencial**

O óleo essencial da parte aérea (folhas e inflorescências) foi extraído pelo método da hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger, utilizando-se 50 gramas de matéria seca em 1000 mL de água durante 180 minutos, seguindo metodologia proposta por Teles et al. (2012), contados após o início da condensação do vapor no Clevenger (Figura 6). Após a extração, o óleo essencial foi adicionado de sulfato de sódio anidro para retirada da água residual, evitando-se perdas por hidrólise durante o armazenamento. Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi recolhido e acondicionado em recipientes de vidro escuro e pesados em balança de precisão, para o cálculo do teor, expresso em  $\text{g g}^{-1}$  de matéria seca.



**Figura 6.** Hidrodestilação em aparato de Clevenger (A), óleo essencial extraído folhas e inflorescências das espécies *Lippia insignis* (B) e *Lippia thymoides* (C) após 3 horas de extração. Feira de Santana, Bahia.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições, sendo cada repetição constituída de quatro plantas, para as quatro espécies de *Lippia* (*L. insignis*, *L. thymoides*, *L. bromleyana* e *L. lasiocalycina*). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, por meio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

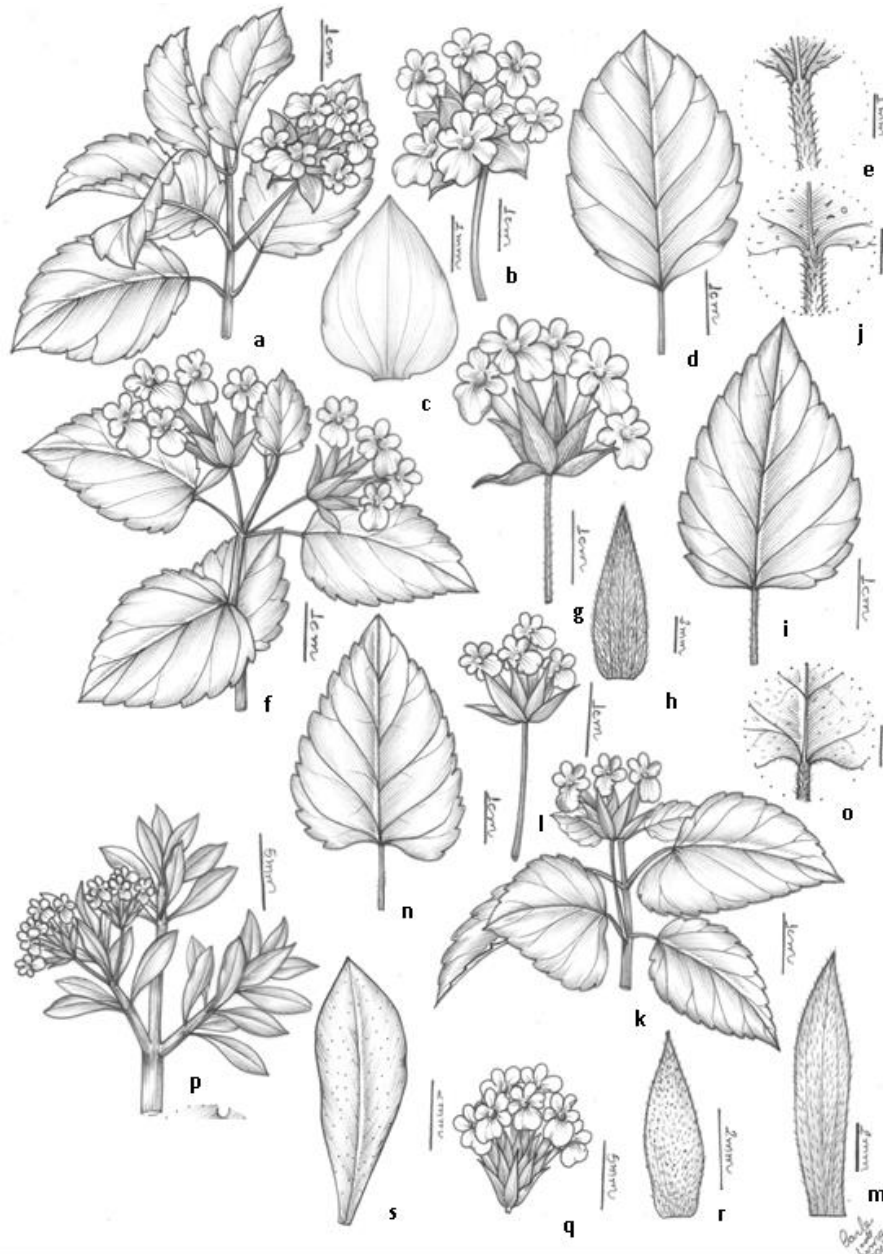
## **3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos demonstraram diferenças morfológicas nas características de filotaxia, venação das espécies e margem das folhas. Folhas lanceoladas, verticiladas e hifódromas foram verificadas em *L. thymoides* (Figura 7s e Anexo D) e folhas ovadas, opostas e craspedródomas em *L. insignis* (Figura 7i e Anexo E), *L. lasiocalycina* (Figura 7n e Anexo F) e *L. bromleyana* (Figura 7n e Anexo G). As brácteas também apresentaram diferenças visíveis no formato, tamanho e pilosidade (Figura 7c, h, m, r). *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. bromleyana* apresentaram pilosidade nos pecíolos enquanto que *L. thymoides* ocorreu ausência deste (Figura 7e, j, o). Além dessas características, verificou-se que as inflorescências apresentaram pedicelo de tamanhos diferentes, sendo que a espécie *L. thymoides* apresentou-se como sésil (Figura 7b, g, l, q). Essas características são importantes na diferenciação das espécies e acessos e representam ferramentas importantes aos trabalhos futuros de melhoramento genético.

Em relação à avaliação morfológica qualitativa verificou-se que todas as espécies estudadas apresentaram hábito de crescimento arbustivo, ramos eretos e folhas discolores com ausência de estípulas. Com exceção da *L. thymoides* Mart. e Schauer que possui folhas lanceoladas, verticiladas,

hifódromas e sésseis, todas as outras espécies estudadas apresentaram folhas ovadas, opostas, craspedrôdomas e pecioladas (Tabela 1). A cor do limbo apresentou tons diferentes de lilás; lilás escuro para *L. insignis* e *L. lasiocalycina* Cham e lilás claro para *L. bromleyana* e *L. thymoides*; a cor das brácteas também diferiu de tonalidades: verde para a *Lippia insignis* e verde-claro para as demais espécies.

Os resultados obtidos para a espécie *L. thymoides* são semelhantes aos encontrados por Melo et al. (2010), que descreveu uma espécime coletada na Estação Ecológica Raso da Catarina, Bahia, com exceção apenas para características do pecíolo. Os resultados obtidos demonstram que *L. thymoides* é a espécie mais facilmente distinguível morfológicamente, em relação às demais congêneres estudadas. As características morfológicas externas observadas para as espécies concordam com as informações referentes ao gênero descrito por Salimena e Silva (2009). Algumas características são comuns a todas as espécies estudadas, como o hábito de crescimento, tipo de ramificação, tipo e posição da inflorescência e tipo de perianto (Tabela 1).



**Figura 7.** *Lippia insignis*: a= ramo, b= inflorescência, c= bráctea, d= folha, e= pecíolo. *Lippia lasiocalyca*: f= ramos, g= inflorescência, h= bráctea, i= folha, j= pecíolo. *Lippia bromleyana*: k= ramo, l= inflorescência, m= bráctea, n= folha, o= pecíolo. *Lippia thymoides*: p= ramo, q= inflorescência, r= bráctea, s= folha. Prancha: Carla Teixeira. Feira de Santana, Bahia.

**Tabela 1.** Hábito de crescimento (HB), tipo de ramificação (TR), formato do limbo (FL), formato da base do limbo (FBL), formato do ápice do limbo (FAL), margem do limbo (ML), venação (VN), filotaxia (FT), consistência (CS), pilosidade do pecíolo (PP), cor das brácteas (CB), formato das brácteas (FB), tipo de inflorescência (TI), posição das inflorescências (PI), cor das pétalas (CP), tipo de perianto (TP), tricomas na face abaxial (TFAB), tricomas face adaxial (TFAD) em quatro espécies de *Lippia* nativas no semiárido baiano. Feira de Santana, Bahia.

	<i>L. insignis</i>	<i>L. thymoides</i>	<i>L. bromleyana</i>	<i>L. lasiocalycina</i>
HB	arbusto	arbusto	arbusto	arbusto
TR	ramos eretos	ramos eretos	ramos eretos	ramos eretos
FL	ovado	lanceolado	ovado	ovado
FBL	truncada	decorrente	decorrente	truncada
FAL	arredondado	arredondado	atenuado	atenuado
ML	crenada	inteira	crenada	crenada
VN	craspedródoma	hifódroma	craspedródoma	craspedródoma
CS	coriácea	membranácea	cartácea	membranaceae
FT	oposta	verticilada	oposta	oposta
PP	piloso	-	glabra	piloso
CB	verde	verde claro	verde claro	verde claro
FB	vada	lanceolada	lanceolada	lanceolada
TI	racemosa	racemosa	racemosa	racemosa
PI	axilar	axilar	axilar	axilar
CP	lilás	lilás-claro	lilás-claro	lilás
TP	labiada	labiada	labiada	labiada
TFAB	incano	glabra	incano	pubescente
TFAD	pilosa	incano	glabra	pilosa

(-) = ausente.

Foram verificadas diferenças significativas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro para todos os caracteres morfológicos quantitativos avaliados nas quatro espécies estudadas (Tabela 2), com exceção ao número de flores por inflorescência. *L. insignis* e *L. lasiocalycina* que apresentaram o maior tamanho em altura, alcançando média de 1,192m e 1,162m, respectivamente, sendo estatisticamente diferente dos valores obtidos nas demais espécies. *L. insignis* e *L. lasiocalycina* apresentaram maiores semelhanças, contudo, os caracteres morfológicos analisados foram satisfatórios na identificação dessas duas espécies. *L. lasiocalycina* apresentou os maiores valores nas demais características estudadas, com exceção no número de inflorescência por

planta, onde *L. insignis* produziu três vezes mais inflorescências e no tamanho do pedicelo que foi estatisticamente menor (2,27 cm) em relação ao obtido com *L. insignis* (2,90 cm).

Para *L. thymoides* os caracteres morfológicos avaliados apresentaram valores, em média, inferiores às demais espécies. Esses resultados são semelhantes à descrição feita por Salimena e Silva (2009). Apesar de *L. thymoides* apresentar maior quantidade de inflorescência por planta (27), em relação à *L. bromleyana* (5) (Tabela 2), as duas apresentaram valores semelhantes de peso fresco e seco das inflorescências, pois as inflorescências da *L. thymoides* são menores. *L. bromleyana* apresentou características com valores intermediários em relação às demais espécies.

**Tabela 2.** Altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), diâmetro da copa (DCO), comprimento (CF), largura (LF) e relação comprimento/largura da folha (C/L), peso da folha (PF), tamanho do pecíolo (TPC), tamanho do pedicelo (TPD), tamanho da bráctea (TBR), número de flores por inflorescência (F/I) e número de inflorescência por planta (I/P), em quatro espécies de *Lippia* nativas do semiárido. Feira de Santana, Bahia.

	<i>L. insignis</i>	<i>L. lasiocalycina</i>	<i>L. thymoides</i>	<i>L. bromleyana</i>	*CV
AP (m)	1,19a	1,16a	0,51b	0,56b	14,01
DC (mm)	6,37b	7,49a	2,24c	5,91b	9,29
DCO (m)	0,69b	0,93a	0,66b	0,25c	4,39
CF (cm)	3,47b	4,92a	1,05c	3,77b	9,21
LF (cm)	3,10a	3,45a	0,34c	2,61b	13,49
CL (cm)	1,16b	1,39b	1,45a	3,13b	11,95
PF (g)	0,26b	0,35a	0,01c	0,26b	17,89
TPC (cm)	1,45a	1,55a	0,00c	0,92b	14,64
TPD (cm)	2,90a	2,27c	0,00d	2,60b	5,70
TBR (cm)	0,6a	0,5a	0,2b	0,5a	16,28
FI	12a	12a	12a	12a	7,22
IP	65a	20b	27b	5c	15,06

\*CV=Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.



Os caracteres morfológicos de folhas e flores tem sido utilizados com eficiência para distinguir espécies de plantas, a exemplo dos resultados obtidos por Costa et al. (2011) com espécies de *Jacaranda*. Características morfológicas e anatômicas das folhas contribuíram para diferenciar duas espécies de *Bauhinia* (*B. forficata* e *B. variegata*), em trabalho realizado por Lusa e Bona (2009). Jezler et al. (2013) observaram diferenças significativas para os caracteres morfológicos área foliar e tamanho da planta em dois morfotipos de *Lippia alba*.

Os valores do coeficiente de variação (CV) ocuparam intervalo de 4,39 a 16,28%, dependendo da variável analisada. Esses valores são aceitáveis para experimentos de campo (PIMENTEL GOMES, 2000). Outros trabalhos nessa mesma linha têm demonstrado coeficientes de variação semelhante para outras espécies (JANNUZZI et al., 2010; CAMELO et al, 2010).

Em relação às características agrônômicas verificou-se diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, para todos os caracteres avaliados (Tabela 3). A espécie *L. insignis* se destacou na produção de inflorescências, estatisticamente superior às demais. Na produção de biomassa foliar e caule, *L. lasiocalycina* apresentou valores superiores em relação às demais espécies estudadas.

O teor e o rendimento de óleo essencial variaram significativamente entre as espécies estudadas (Tabela 3). *L. thymoides*, *L. insignis* e *L. bromleyana* produziram os maiores teores de óleo essencial. *L. lasiocalycina* produziu o menor teor de óleo essencial, com uma redução de 24%, 41% e 43% em relação às espécies *L. bromleyana*, *L. insignis* e *L. thymoides*, respectivamente.

Diferenças na produção de biomassa foliar e no rendimento de óleo essencial tem sido verificada até mesmo entre acessos de uma mesma espécie, a exemplo do observado em *L. alba*, a qual se detectou diferença significativa para massa seca foliar, teor e rendimento de óleos essenciais (CAMÊLO et al., 2011; JANNUZZI et al., 2011). O teor de óleo essencial é uma característica determinada pela genética da planta, entretanto, fatores ambientais podem modificar a quantidade e a qualidade de óleo essencial produzida por uma espécie aromática. Os dados de literatura demonstram que existe variação na quantidade de óleo essencial em espécies de *Lippia*, sendo encontrados teores calculados com base na massa seca que variam de 0,09% a 2,80% para *L. alba* (CAMÊLO et al., 2011, JANNUZZI et al., 2010 e JANNUZZI et al., 2011), 0,60% a 1,44% em *L. citriodora* (SOUZA et al., 2010) e 3,47% a 4,33% em *L. sidoides* (CHAVES et al., 2008). Essas diferenças ocorrem não somente entre espécies diferentes, mas para mesma espécie cultivadas em ambientes diferentes.

**Tabela 3.** Peso fresco da biomassa foliar (PFBF), peso fresco do caule (PFC), peso fresco das inflorescências (PFI), peso seco da biomassa foliar (PSBF), peso seco do caule (PSC), peso seco das inflorescências (PSI), teor de óleo essencial (TO) e rendimento de óleo essencial (RO) em quatro espécies de *Lippia* nativas do semiárido baiano. Feira de Santana, Bahia.

	<i>L. insignis</i>	<i>L. lasiocalycina</i>	<i>L. thymoides</i>	<i>L. bromleyana</i>	*CV
PFBF (g)	105,4b	263,5a	74,5b	107,3b	16,9
PFC (g)	129,8b	212,6a	46,6c	41,9c	23,9
PFI (g)	67,9a	34,1b	12,9c	13,0c	15,9
PSBF (g)	31,1b	83,9a	22,5b	28,4b	18,5
PSC (g)	50,7b	103,4a	17,3c	14,9c	20,4
PSI (g)	14,4a	7,5b	4,7b	4,0b	24,0
TO (%)	0,99ab	0,58c	1,01a	0,82b	9,3
RO (Kg.ha <sup>-1</sup> )	18,0a	21,5a	10,8b	10,6b	22,2

\*CV = Coeficiente de variação. Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Apesar de *L. lasiocalycina* ter demonstrado o menor teor de óleo essencial, apresentou juntamente à *L. insignis*, os maiores rendimentos de óleo essencial, significativamente superior à *L. thymoides* e *L. bromleyana*, em virtude desse parâmetro está diretamente relacionado com a quantidade de biomassa produzida. *L. lasiocalycina* produziu maior quantidade de massa seca foliar enquanto que *L. insignis* produziu maior quantidade de massa seca de inflorescências, que foram as partes utilizadas na extração do óleo. Contudo, apesar do teor e rendimento de óleo serem parâmetros agrônômicos importantes, a composição química do mesmo deve ser considerada, tendo em vista que o valor comercial dos óleos essenciais decorrem do tipo e percentual do componentes majoritários.

### 3.4 CONCLUSÕES

Foram encontradas variações morfológicas e agrônômicas entre as espécies de *Lippia* estudadas, o que permite a distinção das mesmas; *L. lasiocalycina* e *L. insignis* se destacaram, entre as espécies estudadas, tanto na produção de biomassa quanto no rendimento de óleo essencial.

### 3.5 REFERÊNCIAS

- BONOW, S. et al. Caracterização morfológica de cultivares de arroz visando a certificação da pureza varietal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p.619-627, 2007.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Instrução normativa no 06, de 23 de setembro de 2008. Brasília, DF, 2008. Disponível em: <[http://servicos.ibama.gov.br/phocadownload/legislacao/in\\_06\\_lista\\_flora\\_ameacada\\_extincao.pdf](http://servicos.ibama.gov.br/phocadownload/legislacao/in_06_lista_flora_ameacada_extincao.pdf).> Acesso em: 02 dez. 2012.
- CAMELO, L. C. A. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de erva-cidreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 7, p. 1-8, 2011.
- CHAVES, F. C. M. et al. Teor de óleo essencial e seus constituintes em alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) de três regiões geográficas distintas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, p. S1462-S1465, 2008.
- COSTA, R. S. et al. Caracterização morfológica de folhas e flores de espécies de *Jacaranda* (Bignoniaceae), cultivadas em Jaboticabal – SP. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 11, p. 169-181, 2011.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FUNCH, Ligia Silveira; HARLEY, Raymond M; FUNCH, Roy. **Plantas úteis: Chapada Diamantina**. São Carlos: Rima, 2004. 206 p.
- GONÇALVES, Eduardo Gomes; LORENZI, Harri. **Morfologia Vegetal. Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. 2<sup>a</sup> ed.. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2010.
- JANNUZZI, H. et al. Avaliação agrônômica e química de dezessete acessos de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N.E.Brown] - quimiotipo citral, cultivados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, p. 258-264, 2011.
- JANNUZZI, H. et al. Avaliação agrônômica e identificação de quimiotipos de erva cidreira no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 412-417, 2010.
- JEZLER, C.N et al. *Lippia albamorphotypes* cidreira and melissa exhibit significant differences in leaf characteristics and essential oil profile. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, p. 217-223, 2013.
- KAMADA, T. Variação de caracteres morfológicos e fisiológicos de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e correlação com a produção de  $\beta$ -ecdisona. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, p. 247-256, 2009.
- LUSA, M. G; BONA, C. Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Acta Botânica Brasílica**, v. 23, p. 196-211, 2009.

MARTINS, C. P.S. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de jambu (*Spilanthes oleracea* L.) nas condições do Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, p. 410-413, 2012.

MELO, J. I. M. M. et al. Verbenaceae *sensu lato* em um trecho da ESEC Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, p. 41-47, 2012.

O'LEARY, N. et al. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 170, p.197–219, 2012.

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

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14 ed. Piracicaba, Degaspari, 2000, 477p.

RAMOS, S.S.S. et al. Germoplasma vegetal conservado no nordeste brasileiro: situação atual, prioridades e perspectivas. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 20, p. 205-217, 2008.

SALIMENA, F.R.G. et al. **Verbenaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB021433>> Acesso em: 11 nov. 2012, 2010.

SALIMENA, F. R. G; SILVA, T.R.S. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Verbenaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 27, p. 119-120, 2009.

SILVA, F. S. 2012. **Estudo fitoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (Verbenaceae)**. Tese de Doutorado (Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana Bahia. 143 fl.

SOUZA, M.F. et al. Calagem e adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em *Lippia citriodora* Kunth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, p. 401-405, 2010.

TELES S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil. **Industrial Crops and Products**,v. 37, p. 247-252, 2012.

## CAPÍTULO II

### **ANATOMIA FOLIAR, FREQUÊNCIA DE TRICOMAS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM ESPÉCIES NATIVAS DE *LIPPIA*\*\***

\*\* “*Leaf anatomy, trichome frequency and essential oil production in native species of Lippia*”. Artigo submetido ao periódico *Journal of medicinal plants research*.

## ANATOMIA FOLIAR, FREQUÊNCIA DE TRICOMAS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM ESPÉCIES NATIVAS DE *LIPPIA*

OLIVEIRA, A. R. M. F. de<sup>1</sup>, OLIVEIRA, L. M<sup>2</sup>, CARNEIRO, J. S<sup>2</sup>, COSTA, L. C. B. C<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Agropecuária, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano (IFBAIANO)

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC)

**RESUMO:** Diversas espécies do gênero *Lippia* apresentam propriedades medicinais comprovadas, sobretudo antimicrobianas, que se devem principalmente à presença dos óleos essenciais. Os óleos essenciais são produzidos em estruturas secretoras e a sua frequência pode influenciar na produção deste metabólito. O objetivo desse trabalho foi realizar estudo comparativo sobre a anatomia foliar, frequência de tricomas e produção de óleo essencial em quatro espécies do gênero *Lippia* de ocorrência nativa do semiárido baiano. Foram estudadas as espécies: *Lippia bromleyana*, *Lippia insignis*, *Lippia lasiocalycina* e *Lippia thymoides*. No estudo micromorfológico as amostras foliares foram observadas em microscópio eletrônico de varredura para descrição e quantificação da frequência de tricomas. Cortes transversais da lâmina foliar foram feitas à mão livre e visualizados em microscópios de luz binocular na descrição anatômica das espécies. Foram identificados seis tipos de tricomas glandulares uni, bi e tetracelular e três tipos de tricomas tectores. A espécie *L. bromleyana* apresenta como diferencial anatômico a ausência de tricomas tectores na face abaxial. *L. thymoides* possui tricomas glandulares com contornos irregulares em ambas as faces, maior frequência de tricomas tectores na face adaxial e de tricomas glandulares peltados na face abaxial, distinguindo-a das demais. A frequência de tricomas tectores na face abaxial é superior nas espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina*, as quais são mais semelhantes anatomicamente. As espécies *L. thymoides* e *L. insignis* se destacaram na produção de óleo essencial.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Lippia insignis*, *L. lasiocalycina*, *L. bromleyana*, *L. thymoides*, *Verbenaceae*.

**ABSTRACT:** Several species of the genus *Lippia* have proven medicinal properties, especially antimicrobial, which are mainly due to the presence of essential oils. Essential oils are produced in secretory structures and their frequency can influence the production of this metabolite. The aim of this study was to perform a comparative study of the anatomy of trichomes frequency and essential oil production in four species of native occurrence of the genus *Lippia* Bahia semiarid. Species were studied: *Lippia bromleyana*, *Lippia insignis*, *Lippia lasiocalycina* and *Lippia thymoides*. In the study micromorphological the leaf samples were observed in a scanning electron microscope to describe and quantify the trichomes frequency. Cross section of the leaf blade were made freehand and viewed in microscope binocular light on anatomical description of the species. Six types of glandular trichomes one, two and tetracelular and three types of trichomes were identified. The species *L. bromleyana* anatomical features as differential the absence of trichomes on the abaxial surface. *L. thymoides* has glandular trichomes with irregular contours on both sides, increased frequency of trichomes on the adaxial surface and peltate glandular trichomes on the abaxial surface, distinguishing it from the others. The frequency of trichomes on the abaxial surface is higher in species *L. insignis* and *L. lasiocalycina*, which are more anatomically similar. The species *L. thymoides* and *L. insignis* stood out in the essential oil production.

**KEYWORDS:** *Lippia insignis*, *L. lasiocalycina*, *L. bromleyana*, *L. thymoides*, *Verbenaceae*.

## 4.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia* é rico em espécies aromáticas, caracterizadas pela produção de óleos essenciais que, Segundo Castro et al. (2005), possuem função na planta tanto para atrair polinizadores quanto para repelir inimigos naturais. Os óleos essenciais são constituídos de compostos voláteis, principalmente mono e sesquiterpenos, com atividade biológica, especialmente, antimicrobiana. Muitas dessas espécies são endêmicas do semiárido nordestino, entretanto, apesar da importância na medicina popular e do potencial econômico desse gênero como fonte de fitomedicamentos, os estudos são restritos a poucas espécies. Entre as espécies abundantes no semiárido destacam-se *L. insignis* Moldenke, *L. thymoides* Mart. e Schauer, *L. bromleyana* Moldenke *L. lasiocalycina* Cham, endêmicas do semiárido baiano e ricas em óleo essencial, sendo que para a maioria delas não há relatos na literatura sobre aspectos anatômicos, fitoquímicos ou de atividade biológica.

Os tricomas são conjuntos de células da epiderme que se projetam na forma de pêlos, escamas ou papilas (GONÇALVES e LORENZI, 2011). São classificados em glandulares e não glandulares (tectores), sendo que os glandulares podem ser peltados e capitados (BIASI e DESCHAMPS, 2009). Segundo Valkama et al. (2003), os tricomas tectores funcionam como barreira mecânica contra vários fatores externos e os tricomas glandulares estão envolvidos com a proteção química, através de liberação de substâncias lipofílicas, como os óleos essenciais. A frequência de tricomas na epiderme pode ser indicativo da capacidade de produção de óleos essenciais em determinada espécie aromática (DESCHAMPS et al., 2006), podendo ser utilizado como parâmetro na seleção de plantas mais produtivas.

Bonzani et al. (2003) observaram tricomas capitados com cabeça uni, tetra e multicelular em três espécies de *Lippia*. Em *Lippia scaberrima* foram encontrados tricomas capitados e peltados na face adaxial e abaxial das folhas (COMBRINCK et al., 2007). Tricomas glandulares capitados foram observados na superfície abaxial, enquanto os tectores puderam ser facilmente encontrados em ambas as superfícies foliares de *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) (MILLANI et al., 2008). Martins et al. (2009) descreveram a presença de tricomas tectores pluricelulares e tricomas glandulares captados e peltados na face adaxial e abaxial das folhas de *Ocimum gratissimum*. Em *Mentha piperita* L. var. *piperita*, tricomas glandulares peltados e capitados foram encontrados em ambas as faces das folhas, mas não foram observados tricomas não glandulares (PEGORADO et al., 2010).

Considerando a importância das estruturas secretoras, como os tricomas glandulares, em espécies aromáticas para a produção de óleos essenciais, esse trabalho objetivou realizar um estudo



comparativo sobre a anatomia foliar, frequência de tricomas e produção de óleo essencial em *L. bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta e cultivo

O experimento foi realizado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, utilizando quatro espécies do gênero *Lippia*: *L. insignis*, *L. bromleyana* e *L. thymoides* coletadas no município de Morro do Chapéu - Bahia e *L. lasiocalycina* coletada em Santa Terezinha - Bahia. Exsiccatas das espécies coletadas foram enviadas ao Herbário da UEFS (HUEFS) onde foram devidamente identificadas pela especialista Dra. Tânia Regina dos Santos Silva e encontram-se cadastradas com vouchers números 193480 (*L. insignis*), 193481 (*L. lasiocalycina*) 77554 (*L. thymoides*) e 212549 (*L. bromleyana*).

As mudas foram produzidas a partir de estacas herbáceas com aproximadamente 15 cm de comprimento, utilizando-se substrato comercial biomix®. As mudas foram acondicionadas em bandejas de poliestireno com 128 células e mantidas durante 45 dias em mini-estufa plástica com nebulização intermitente, a cada 1 hora e 30 minutos, com duração de 2 minutos cada, totalizando oito nebulizações por dia. Após 45 dias do plantio as mudas foram transplantadas para sacos de polietileno preto com 10 x 25 cm, preenchidos com uma mistura de composto orgânico e terra vegetal (1:1), mais fertilizante superfosfato simples (18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) na proporção de 1kg por m<sup>3</sup> da mistura, sendo mantidas em casa de vegetação com irrigações diárias durante 30 dias. Após esse período de aclimação as mudas foram transplantadas para área de cultivo, onde o solo foi previamente capinado e revolvido com enxada, plantando-se as mudas em covas com 20 x 20 x 20 cm de dimensão, com espaçamento entre plantas de 50 x 100 cm. Plantas da espécie *Lippia insignis* foram plantadas em toda circunferência do experimento para reduzir o efeito de bordadura.

Com base na análise química do solo foi realizada adubação orgânica, 15 dias antes do plantio, utilizando-se esterco bovino curtido (0,5 litro por cova) e adubação fosfatada (15 gramas se superfosfato simples cova). Durante todo o experimento foram realizadas capinas manuais, a cada quinze dias, com auxílio de enxada e irrigações em dias alternados, utilizando-se microaspersores.

### Micromorfologia foliar

Aos 170 dias após o transplante das mudas para o local definitivo foram coletadas folhas completamente expandidas do terceiro nó, do ápice para a base, do eixo principal das plantas. Foram utilizadas cinco folhas de cada repetição, com quatro repetições por espécie, perfazendo o

total de 20 amostras por espécie. No Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), porções da região mediana foliar foram fixadas em glutaraldeído 2,5 % em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 6,9 por 24 h, lavados em tampão cacodilato de sódio, desidratado em série cetônica crescente e secos até o ponto crítico em aparelho modelo CPD030, marca BALTEC, e cobertos com uma camada de ouro de 30 nm de espessura, utilizando o aparelho Sputter Coater, modelo SCD 050, marca BALTEC. As amostras foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 6390LV no Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz da Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ). Para avaliação da frequência de tricomas foram visualizados 40 campos em cada uma das 20 amostras, nas faces abaxial e adaxial das folhas, utilizando o programa ANATI QUANTI.

### Anatomia foliar

Foram coletadas folhas completamente expandidas do terceiro nó, do ápice para a base, do eixo principal da planta. Foram utilizadas três folhas de cada repetição, com quatro repetições por espécie, perfazendo um total de 12 amostras por espécie. As amostras de folhas foram fixadas em álcool a 70% para posterior análise (Figura 8).



**Figura 8.** A: Amostras de folhas de *Lippia bromleyana* Moldenke, *L. insignis* Moldenke, *L. lasiocalycina* Cham. e *L. thymoides* Mart e Schauer fixadas em álcool 70% para posterior análise. B: Lâminas com seções apicais, medianas, basais e do pecíolo das folhas para a análise da anatomia. C: Microscópio de luz binocular. Feira de Santana, Bahia.

No Laboratório de Micromorfologia Vegetal da UEFS foram retiradas seções apicais, medianas, basais e do pecíolo das folhas para a análise da anatomia, utilizando-se o método de Jeffrey (MACÊDO, 1997). No estudo da epiderme foram efetuados cortes paradérmicas, à mão livre, nas duas superfícies da lâmina foliar. As amostras obtidas foram coradas com safranina a 1%. Os cortes transversais da lâmina foliar foram feitas à mão livre e coradas com azul de astra e safranina (KRAUS e ARDUIM, 1997). Após esse processamento, as preparações foram analisadas

em microscópio de luz binocular e as fotomicrografias foram obtidas em microscópio Olympus BX51 com sistema de captura digital.

### **Extração de óleo essencial**

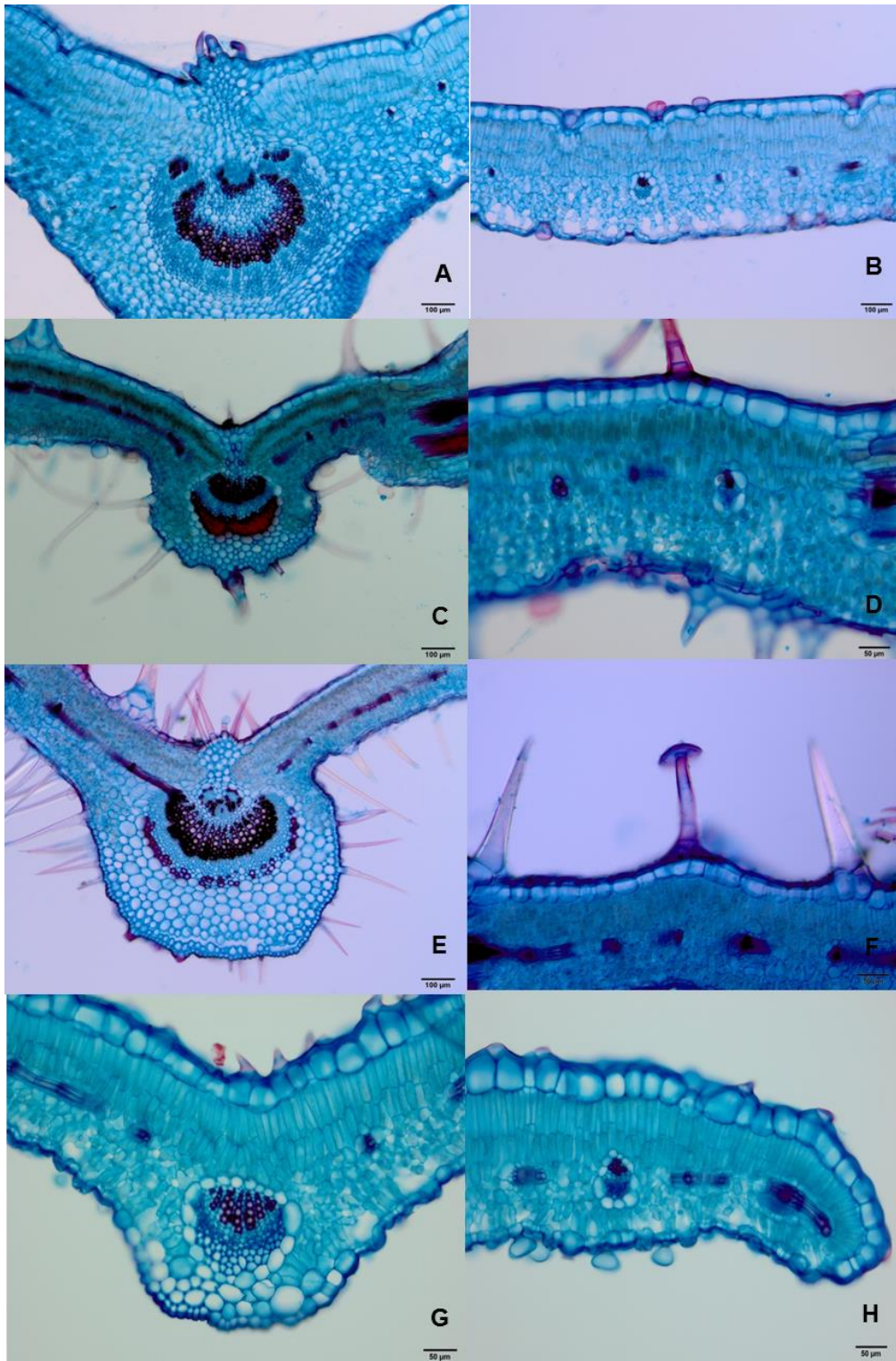
O óleo essencial da parte aérea (folhas e inflorescências) foi extraído pelo método da hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger, utilizando-se 50 gramas de matéria seca em 1000 ml de água durante 180 minutos, seguindo metodologia proposta por Teles et al. (2012), contados após o início da condensação do vapor no Clevenger (Figura 6). Após a extração, o óleo essencial foi adicionado de sulfato de sódio anidro para retidada da água residual, evitando-se perdas por hidrólise durante o armazenamento. Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi recolhido e acondicionado em recipientes de vidro escuro e pesados em balança de precisão, para o cálculo do teor, expresso em  $g\ g^{-1}$  de matéria seca.

### **Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições e quatro plantas por repetição. Para a frequência de tricomas e o teor de óleo essencial os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro, por meio do Programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

## **4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As folhas de *Lippia bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* apresentaram algumas características anatômicas similares, como: epiderme unisseriada; células epidérmicas com paredes delgadas anticliniais retas; presença de tricomas tectores e glandulares na superfície da epiderme, variando apenas no tipo presente em cada espécie; folhas hipoestomáticas; parênquima biestratificado, mesofilo dorsiventral e estômatos do tipo anomocítico (Figuras 9A à 9H). Os estômatos de *Lippia bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* encontram-se no mesmo plano ou acima das células epidérmicas; as paredes das células estomáticas apresentam espessamento típico que se projetam formando pequenas cristas estomáticas.



**Figura 9.** Fotomicrografia da seção transversal da nervura e do mesofilo de *Lippia bromleyana* Moldenke (A e B), *Lippia insignis* Moldenke (C e D), *Lippia lasiocalycina* Cham. (E e F) e *Lippia thymoides* Mart e Schauer cultivadas em Feira de Santana, Bahia. Feira de Santana, Bahia.

Em *L. alba* (Mill.) N.E. Br. verificou-se que as folhas caracterizaram-se também pela presença de uma epiderme simples, estômatos situados em ambas as faces; mesofilo formado por parênquima paliçádico uni ou biestratificado, tricomas tectores simples e três tipos de tricomas

glandulares (Santos et al., 2004), no entanto, as folhas de dois morfotipos de *L. alba* (cidreira e melissa) foram caracterizadas como anfiestomáticas; parênquima paliçádico biestratificado para cidreira e uniestratificado para melissa (JEZLER et al., 2013), diferindo das espécies estudadas nesse trabalho que possuem folhas hipoestomáticas. Na espécie *L. sidoides*, Nunes et al. (2000) observaram a presença de epiderme uniestratificada com paredes retas a sinuosas, estômatos diacíticos e anomocíticos em ambas as faces foliares e tricomas tectores e glandulares distribuídos por toda a epiderme. Apenas estômatos anomocíticos foram identificados nas espécies estudadas. Cantino (1990) afirma que os estômatos do tipo anomocítico e diacíticos são os mais frequentemente encontrados em Labiatae e Verbenaceae.

Os tricomas glandulares e tectores estão presentes em ambas as superfícies foliares das espécies estudadas, concordando com os resultados obtidos com *L. alba* (JEZLER et al. 2013), *L. sidoides* (Nunes et al., 2000), *L. turbinata*, *L. fissicalx*, *L. grisebaciana* e *L. intregrifolia* (BASSOLS e GURNI, 2000), diferindo apenas na morfologia e tamanho.

Foram identificados seis tipos de tricomas glandulares uni, bi e tetracelular (Tabela 4). O tipo I possui cabeça secretora tetracelular, cabeça do colar e pedicelo curto (Figura 10A). No tipo II a cabeça secretora é unicelular, possui célula do colar e célula da base (Figura 10A e 11A). O tipo III também apresenta cabeça secretora unicelular, porém a célula do colar é mais larga (Figura 10G) que a do tipo II, e célula da base. O tipo IV possui cabeça secretora tetracelular, célula do colar, pedicelo longo bicelular e célula da base (Figura 11B). No tricoma do tipo V a cabeça secretora é unicelular, possui célula do colar, pedicelo longo e célula da base (Figura 10F e 11C). O tricoma do tipo VI apresenta cabeça secretora bicelular, célula do colar e célula da base (Figura 11D). Foram observados três tipos de tricomas tectores nas espécies analisadas: tricomas tectores lisos (Tipo I), lisos com 7 a 8 células basais (Tipo II) e tricomas tectores verrucosos (Tipo III).

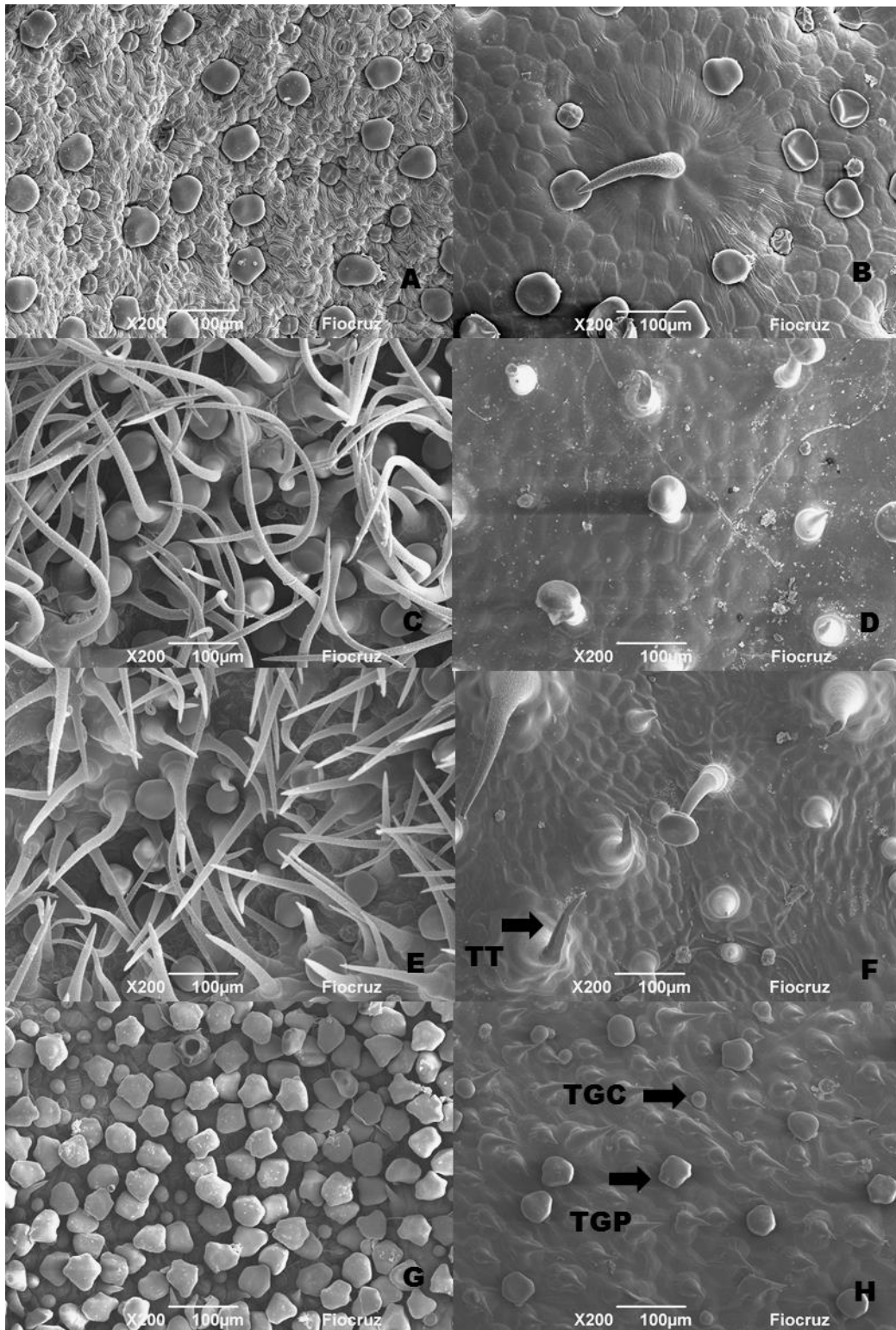
**Tabela 4.** Descrição e ocorrência de tricomas tectores e glandulares em espécies de *Lippia* nativas do semiárido baiano e cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana – Bahia. Feira de Santana, Bahia.

<b>Tipo</b>	<b>Descrição</b>	<b>Espécie</b>
<b>Tricomas tectores</b>		
I	Lisos	<i>L. insignis, L. thymoides</i>
II	Lisos com 7/8 células basais	<i>L. bromleyana, L. lasiocalycina</i>
III	Verrucosos	<i>L. insignis, L. lasiocalycina</i>
<b>Tricomas glandulares</b>		
I	Cabeça secretora tetracelular, célula do colar, pedicelo curto.	<i>L. bromleyana, L. lasiocalycina</i>
II	Cabeça secretora unicelular, célula do colar, célula da base.	<i>L. bromleyana, L. insignis, L. lasiocalycina e L. thymoides</i>
III	Cabeça secretora unicelular, célula do colar mais larga, célula da base.	<i>L. thymoides</i>
IV	Cabeça secretora tetracelular, célula do colar, pedicelo longo bicelular, célula da base.	<i>L. lasiocalycina</i>
V	Cabeça secretora unicelular, célula do colar, pedicelo longo unicelular, célula da base.	<i>L. insignis e L. lasiocalycina</i>
VI	Cabeça secretora bicelular, célula do colar, célula da base.	<i>L. lasiocalycina</i>

A espécie *Lippia bromleyana* apresentou epiderme ornamentada, com ausência de tricomas tectores na face abaxial, contudo, se verificou a ocorrência de tricomas glandulares tipo I e II (Figura 10A). Na face adaxial há presença de tricomas tectores com sete a oito células basais, os quais se encontram próximo a base foliar, na região do feixe vascular, além dos tricomas glandulares dos tipos I e II (Figura 10B) que apresentam as suas células da base subsessil em depressão, adentrando a epiderme. Em *L. insignis* foram encontrados tricomas tectores verrucosos, além de tricomas glandulares dos tipos II e VI na face abaxial (Figuras 10C), enquanto que na face adaxial verificou-se a ocorrência de epiderme lisa, com tricomas glandulares do tipo V, tricomas tectores lisos e de tamanho menor quando comparados aos encontrados na face abaxial da mesma espécie (Figura 10D). Já em *L. lasiocalycina* verificou-se a ocorrência de tricomas tectores verrucosos mais delgados e em grande quantidade, semelhantes aos encontrados na espécie *L. insignis*, e tricomas glandulares dos tipos I, II, IV e VI (Figura 10E). Na face adaxial verificou-se a presença de tricomas tectores lisos, com sete a oitos células na base e tricomas glandulares do tipo V (Figura 10F). *L. thymoides* verificou-se a ocorrência, na face abaxial, de tricomas tectores liso,

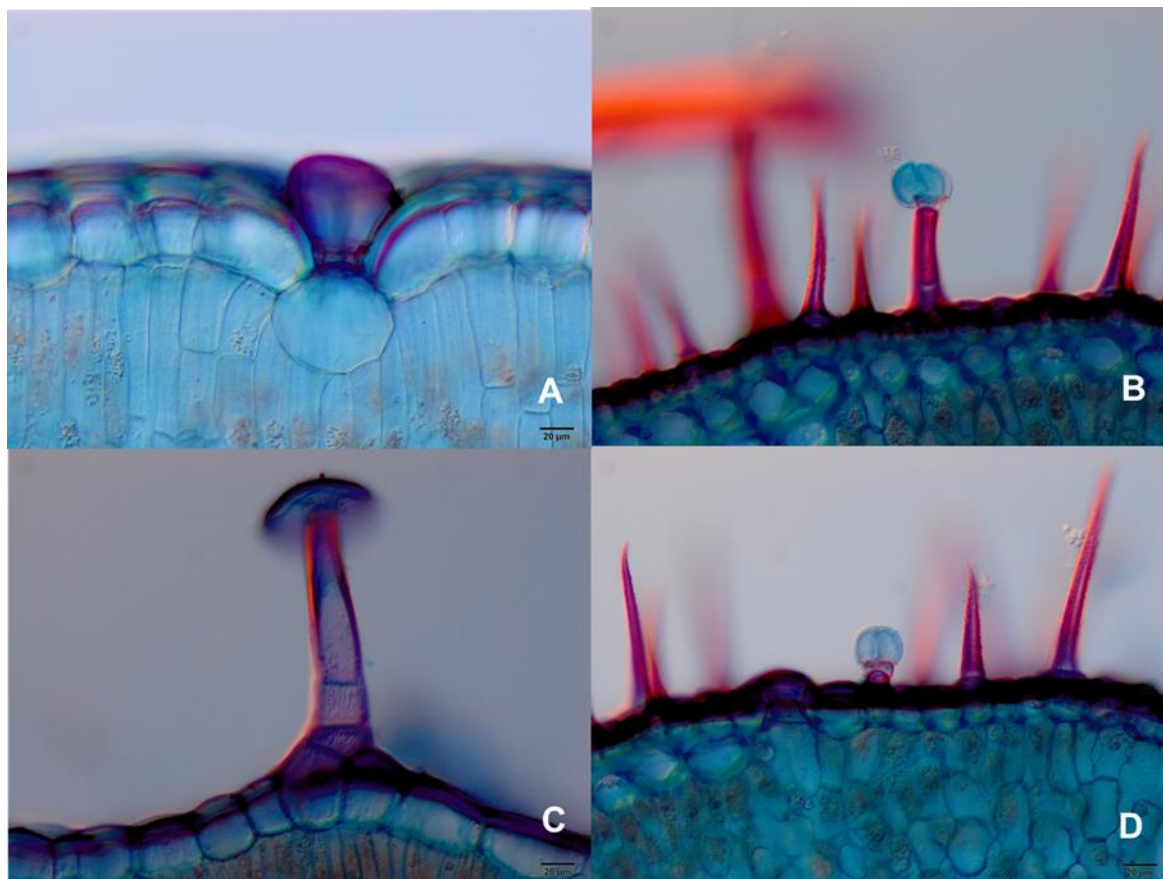
tricomas glandulares do tipo II apresentando contornos irregulares (Figura 10G). Na face adaxial foram encontrados, também, os tricomas tectores lisos curtos (assemelhando a espículas) (Figura 9D), tricomas glandulares do tipo II e III e epiderme lisa (Figura 10H). *L. insignis* e *L. lasiocalycina* apresentam na face abaxial abundância de tricomas tectores e de tricomas glandulares, sendo esse um aspecto diferencial em relação às demais espécies estudadas.

De forma geral, verificou-se abundância de tricomas, sejam eles glandulares ou tectores, na face abaxial das folhas das espécies *Lippia bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* (Figura 10). Guimarães et al. (2014) observaram tricomas glandulares e não glandulares em folhas de *L. sidoides*, sendo que o óleo essencial encontravam-se armazenados nos tricomas glandulares.



**Figura 10.** Eletromicrografia de varredura da face abaxial (A, C, E, e G) e adaxial (B, D, F e H) da folha de *Lippia bromleyana* Moldenke (A, B), *Lippia insignis* Moldenke (C, D), *Lippia lasiocalycina* Cham. (E, F) e *Lippia thymoides* Mart e Schauer (G, H) cultivadas em Feira de Santana, Bahia. TT = tricoma tector, TGC = tricoma glandular capitado, TGP = tricoma glandular peltado. Salvador, Bahia.





**Figura 11.** Fotomicrografia dos tricomas glandulares tipo II em *Lippia bromleyana* Moldenke (A), tipo IV (B), tipo V (C) e tipo VI (D) em *Lippia lasiocalycina* Cham. cultivadas em Feira de Santana, Bahia. Barra de 20µm. Feira de Santana, Bahia.

Foram verificadas diferenças na frequência de tricomas entre as espécies estudadas (Tabela 5). Na face abaxial a espécie *L. bromleyana* não apresenta tricomas tectores; a frequência de tricomas tectores foi maior nas espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina* em relação à *L. thymoides*. Na face adaxial verificou-se maior frequência de tricomas tectores na espécie *L. thymoides*. Tricomas tectores densamente distribuídos nas folhas podem, segundo Werker (2000), funcionar como barreira mecânica contra alta intensidade luminosa, perda excessiva de água, entre outros fatores, característico de espécies do semiárido.

Os tricomas glandulares capitados estão presentes na face abaxial das quatro espécies estudadas, porém em maior frequência nas espécies *L. thymoides* e *L. bromleyana*, respectivamente. Na face adaxial são ausentes na espécie *L. thymoides*. Tricomas glandulares peltados estão presentes, na face abaxial, de todas as espécies estudadas, no entanto, na espécie *L. thymoides* essa frequência é superior às demais (Tabela 5). Na face adaxial estão presentes nas espécies *L. bromleyana* e *L. thymoides* em igual frequência e ausentes nas espécies *L. lasiocalycina* e *L. insignis*.

**Tabela 5.** Frequência de tricomas (tricomas por mm<sup>2</sup>) na face abaxial e adaxial da folha de *Lippia bromleyana*, *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* cultivadas em Feira de Santana, Bahia. Feira de Santana, Bahia.

	<i>L. bromleyana</i>	<i>L. insignis</i>	<i>L. lasiocalycina</i>	<i>L. thymoides</i>	*CV
ABAXIAL					
TT	-	250a	226a	20b	16,47
TGC	48ab	16b	16b	59a	56,07
TGP	79b	71b	83b	476a	20,18
ADAXIAL					
TT	4c	20bc	36b	198a	23,13
TGC	16a	12a	12a	-	36,98
TGP	52a	-	-	52a	31,87

TT = tricoma tector, TGC = tricoma glandular capitado e TGP = tricoma glandular peltado. Médias seguidas de letras distintas na linha diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro. \* CV= Coeficiente de variação.

Em relação ao teor de óleos essenciais verificou-se diferenças estatísticas entre as espécies estudadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As espécies *L. thymoides* (1,01%) e *L. insignis* (0,99%) apresentaram maior teor de óleo essencial, comparadas à *L. lasiocalycina* (0,82%) e *L. bromleyana* (0,58%), a qual obteve menor teor. O maior teor de óleo na espécie *L. thymoides* pode estar relacionado à maior frequência total de tricomas glandulares peltados nas faces abaxiais e adaxiais, pois, segundo Biase e Deschamps (2009), os tricomas glandulares peltados são caracterizados pela capacidade de armazenamento de óleos essenciais, contudo, essa mesma relação não foi verificada na espécie *L. insignis*. Em estudo semelhante, Biase e Deschamps (2009) observaram que embora a espécie *Mentha arvensis* (Lamiaceae) tenha apresentado maior frequência de tricomas glandulares peltados, apresentou menor teor de óleo essencial, levantando a hipótese de que outras características fisiológicas destas espécies podem ser mais determinantes no rendimento de óleo essencial do que a frequência de tricomas glandulares peltados.

#### 4.4 CONCLUSÕES

A frequência e tipos de tricomas são características que distinguem as espécies de *Lippia* estudadas; *L. bromleyana* se distingue anatomicamente pela ausência de tricomas tectores na face abaxial; *L. thymoides* possui tricomas glandulares com contornos irregulares em ambas as faces

foliares e maior frequência de tricomas glandulares peltados na face abaxial das folhas, distinguindo-a das demais espécies estudadas; As espécies *L. thymoides* e *L. insignis* se destacaram na produção de óleo essencial, nas condições em que foram cultivadas.

#### 4.5 REFERÊNCIAS

- BASSOLS, G.B e GURNI, A.A. Comparative anatomical study on Argentine species of *Lillia* Known as “Poleo”. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, n.2, p. 120-128, 2000.
- BIASI, Luiz Antônio. DESCHAMPS, Cícero. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. 1ª. edição, Curitiba, Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009, 160p.
- CANTINO, P.D .The phylogenetic significance of stomata and trichomes in Labiate and Verbenaceae. **Journal of the Arnold Arboretum**, v. 71, p. 323-370, 1990.
- CASTRO, Paulo. R. C. KLUGUE, Ricardo. A. PERES, Lázaro. E. P. **Manual de Fisiologia Vegetal (Teoria e Prática)**. Editora Agronômica Ceres, Piracicaba, 2005, 650p.
- COMBRINCK, S. et al. Morphology and histochemistry of the glandular trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). **Annals of Botany**, v.99, p. 1111-1119, 2007.
- DESCHAMPS, C. et al. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleos essenciais em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência Natura**, v. 28, p. 23-34, 2006.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistic analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**., Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- GONÇALVES, Eduardo Gomes; LORENZI, Harri. **Morfologia Vegetal. Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. 2ª ed.. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2010.
- GUIMARÃES, L. G. de L. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, V. 45, N. 2, P. 267-275, 2014.
- JEZLER, C.N. et al. *Lippia alba* morphotypes cidreira and melissa exhibit significant differences in leaf characteristics and essential oil profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, p. 217-223. 2013.
- KRAUS, J.E; ARDUIN. M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. EDUR, Rio de Janeiro, 1997.
- MACÊDO, N.A. **Manual de técnicas em histologia vegetal**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 1997.
- MARTINS, J. R. et al. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 82-87, 2009.

MILLANI, A. A. et al. Análise de crescimento e anatomia foliar da planta medicinal *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) cultivada em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.2, p.127-134, 2010.

NUNES, R. S. et al. Padronização Botânica de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). **Acta Farmaceutica Boanaerense**, v. 19, n. 2, p. 115-118, 2000.

PEGORADO, R. L. et al. Produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição do substrato. **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, n.4, p.631-637, 2010.

SANDERS, R.W. The genera of Verbenaceae in the Southeastern United State. **Harvard Papers in Botany**, v. 5, n.2, p. 303-358, 2001.

SANTOS, M. R. A; INNECCO, R; SOARES. A. A. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. Em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, n. 2, p: 377– 83, 2004.

SOUZA, Vinícius C; LORENZI, Harri. 2005. **Botânica sistemática – guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira baseado em APG II**. São Paulo, Instituto Plantarum, 2005.

TELES S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 247-252, 2012.

VALKAMA E. et al. Comparative analysis of leaves trichome structure and composition of epicuticular flavonoids in Finnish Birch species. **Annals of Botany**, London, v. 91, n.6, p: 643-655, 2003.

WERKER, E. Trichome diversity and development. In: HALLAHAN, D.L.; GRAY, J.C. **Plant Trichomes**. London: Academic, p.1-30, 2000.

**CAPÍTULO III****COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E  
ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES NATIVAS DE  
*LIPPIA*\*\*\***

\*\*\*Artigo será ajustado e submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia.

## COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES NATIVAS DE *LIPPIA*

OLIVEIRA, A. R. M. de<sup>1</sup>, OLIVEIRA, L. M.<sup>2</sup>, LUCCHESI, A. M.<sup>3</sup>, COSTA, J. C. B.<sup>4</sup>, COSTA, L. C. B.<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Agropecuária, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano (IFBAIANO)

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

<sup>4</sup>Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC)

<sup>5</sup>Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC)

**RESUMO:** Espécies do gênero *Lippia* são ricas em óleos essenciais, os quais são importantes fontes de compostos que atuam como antioxidantes e antifúngicos naturais. O objetivo desse trabalho foi determinar a composição química e avaliar o potencial antioxidante e antifúngico dos óleos essenciais de *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides*, nativas do semiárido nordestino e cultivadas nas condições de Feira de Santana, Bahia. Foram realizadas duas colheitas, sendo a primeira 170 dias após o transplante das mudas e a segunda 210 dias após a primeira colheita. As extrações dos óleos essenciais foram realizadas pelo método da hidrodestilação em aparelho de Clevenger e a composição química por CG/DIC e CG/EM. A atividade antioxidante foi avaliada pela capacidade das substâncias presentes nas amostras captarem o radical livre DPPH e a avaliação da atividade antifúngica através do crescimento miceliano do fungo *Moniliophthora perniciosa*, cultivado em meio de cultura B.D.A suplementado com diferentes concentrações dos óleos essenciais. Os óleos essenciais de *L. bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* colhidas nas duas épocas diferiram em seus componentes majoritários, qualitativamente e quantitativamente. *L. insignis* se destacou das demais espécies, apresentando atividade antioxidante significativamente superior em todas as concentrações testadas. O óleo essencial de *L. bromleyana* inibiu 100% o crescimento miceliano de *M. perniciosa* em todas as concentrações testadas, enquanto que o de *L. insignis* inibiu 100% o crescimento miceliano a partir da concentração de 0,50  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Os óleos essenciais de *L. bromleyana* e *L. insignis* se destacaram na atividade antifúngica contra *M. perniciosa*, sendo promissores para o controle do fungo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Verbenaceae, Atividade biológica, *Moniliophthora perniciosa*.

**ABSTRACT:** *Lippia* species have rich in essential oils, which are important sources of compounds that act as antioxidants and natural antifungal. The aim of this study was to determine the chemical composition and evaluate the antioxidant and antifungal potential of the essential oils of *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* and *L. thymoides*, native to northeastern and grown in semi-arid conditions of fair Santana, Bahia. Two samples were taken, the first 170 days after transplanting the seedlings and the second 210 days after the first harvest. The extraction of essential oils were performed by the method of hydrodistillation in Clevenger apparatus, and chemical composition by CG/DIC and GC/MS. The antioxidant activity was evaluated by the ability of substances in samples capture the free radical DPPH and evaluation of antifungal activity through the mycelium growth of harmful fungus *Moniliophthora perniciosa* in PDA culture medium supplemented with different concentrations of the essential oil. The essential oils of *L. bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* and *L. thymoides* harvested in two seasons differed in their major components, qualitatively and quantitatively. *L. insignis* stood out from the others showing significantly higher antioxidant activity in all tested concentrations. The essential oil of *L. bromleyana* inhibited 100% the mycelial growth of *M. perniciosa* in all concentrations tested, whereas *L. insignis* inhibited 100% mycelial growth at concentrations of 0.50  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . The essential oils of *L. bromleyana* and *L. insignis* stood out in antifungal activity against *M. perniciosa*, and promising to control the fungus.

**KEYWORDS:** Verbenaceae, Biological Activity, *Moniliophthora perniciosa*.

## 5.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia* inclui aproximadamente 200 espécies, sendo caracterizado pela presença de óleos essenciais com atividade antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2008). Os óleos essenciais são constituídos por compostos voláteis, principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas.

As plantas produzem grande variedade de substâncias antioxidantes e os compostos fenólicos compreendem o principal grupo (ESTEVAM, 2006). Muitos estudos vêm sendo realizados no intuito de encontrar substâncias naturais com potencial antioxidante e os óleos essenciais, são importantes nessa busca, pois conseguem neutralizar radicais livres, devido à presença de compostos fenólicos em sua composição química (MORAIS et al., 2006; PEREIRA e MAIA., 2007; SCHERER et al., 2009, TELES et al., 2014).

Os óleos essenciais também representam importantes fontes de novos defensivos agrícolas, usados no controle de agentes fitopatogênicos, funcionando como uma opção ao uso de agrotóxicos na agricultura, que utilizados de forma indiscriminada têm afetado negativamente ao ambiente e a saúde humana. Por conta disso, ultimamente tem se intensificado à procura de plantas com novas moléculas com atividade biofungicida, que possam substituir os produtos químicos e que possuam baixo ou nulo poder residual, diminuindo o impacto ao ambiente (SILVA e BASTOS, 2007; OOTANI et al., 2013).

A vassoura-de-bruxa é uma doença do cacauzeiro causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*; sua primeira manifestação identificada na região Sul da Bahia ocorreu em 1989 (PEREIRA e VALLE, 2012), sendo rapidamente disseminado e acarretando uma redução drástica na produção de cacau, da ordem de 75%, levando o país da condição de exportador a importador (LUZ et al., 2006). Atualmente pesquisas vêm sendo realizadas no intuito de encontrar métodos de controle do fungo, que sejam economicamente viáveis e causem menos impactos ao meio ambiente (BASTOS, 1997; SILVA e BASTOS, 2007; CHAUSSÊ et al., 2011).

Mesmo os óleos essenciais representando fontes naturais para o desenvolvimento de novos produtos, capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos e com potencial antioxidante, muitas espécies vegetais produtoras desses metabólitos ainda não foram estudadas com esse fim. Os óleos essenciais de *Lippia* podem ser uma importante ferramenta no controle do fungo *Moniliophthora perniciosa*, pois possuem atividade antimicrobiana.

A composição química do óleo essencial de muitas espécies de *Lippia* tem sido investigada, desde a década de 90, incluindo espécies brasileiras (SALIMENA-PIRES, 1991). Como resultado foi possível verificar que os compostos limoneno,  $\beta$ -cariofileno, *p*-cimeno, cânfora, linalool,  $\alpha$ -



pineno e timol são os mais frequentemente encontrados (GOMES et al., 2011), variando entre diferentes espécies e até mesmo na mesma espécie. A importância da caracterização química dos metabólitos secundários no estudo dos recursos genéticos de plantas medicinais pode ser notada quando se considera que o objetivo central do melhoramento desse tipo de planta é a produtividade expressa pelo teor de princípios ativos e pela composição química dos mesmos (OLIVEIRA et al., 1992), que no caso de plantas aromáticas é principalmente o óleo essencial.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar a caracterização química e avaliar o potencial antioxidante e antifúngico de diferentes concentrações dos óleos essenciais de *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides*.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta e cultivo

O experimento foi realizado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana, utilizando quatro espécies do gênero *Lippia*: *L. insignis*, *L. bromleyana* e *L. thymoides* coletadas no município de Morro do Chapéu - Bahia e *L. lasiocalycina* coletada em Santa Terezinha - Bahia. Exsiccatas das espécies coletadas foram enviadas ao Herbário da UEFS (HUEFS) onde foram devidamente identificadas pela especialista Dra. Tânia Regina dos Santos Silva e encontram-se cadastradas com vouchers números 193480 (*L. insignis*), 193481 (*L. lasiocalycina*) 77554 (*L. thymoides*) e 212549 (*L. bromleyana*).

As mudas foram produzidas a partir de estacas herbáceas com aproximadamente 15 cm de comprimento, utilizando-se substrato comercial biomix®. As mudas foram acondicionadas em bandejas de isopor com 128 células e mantidas durante 45 dias em mini-estufa plástica com nebulização intermitente, a cada 1 hora e 30 minutos, com duração de 2 minutos cada, totalizando oito nebulizações por dia. Após 45 dias do plantio as mudas foram transplantadas para sacos de polietileno preto com 10 x 25 cm, preenchidos com uma mistura de composto orgânico e terra vegetal (1:1), mais fertilizante superfosfato simples (18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) na proporção de 1kg por m<sup>3</sup> da mistura, sendo mantidas em casa de vegetação com irrigações diárias durante 30 dias. Após esse período de aclimação as mudas foram transplantadas para área de cultivo, onde o solo foi previamente capinado e revolvido com enxadão, plantando-se as mudas em covas com 20 x 20 x 20 cm de dimensão, com espaçamento entre plantas de 50 x 100 cm. Plantas da espécie *Lippia insignis*, foram plantadas em toda circunferência do experimento para reduzir o efeito de bordadura.

Com base na análise química do solo foi realizada adubação orgânica, 15 dias antes do plantio, utilizando-se esterco bovino curtido (0,5 litro por cova) e adubação fosfatada (15 gramas se

superfosfato simples cova). Durante todo o experimento foram realizadas capinas manuais, a cada quinze dias, com auxílio de enxada e irrigações em dias alternados, utilizando-se microaspersores.

A primeira colheita foi realizada no mês de novembro de 2011, aos 170 dias após o transplante das mudas para o campo e, a segunda colheita (rebrotas), no mês de junho de 2012, 210 dias após primeira colheita.

### **Extração do óleo essencial**

O óleo essencial da parte aérea (folhas e inflorescências) foi extraído pelo método da hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger, utilizando-se 50 gramas de matéria seca em 1000 ml de água durante 180 minutos, seguindo metodologia proposta por Teles et al. (2012), contados após o início da condensação do vapor no Clevenger (Figura 6). Após a extração, o óleo essencial foi adicionado de sulfato de sódio anidro para retirada da água residual, evitando-se perdas por hidrólise durante o armazenamento. Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi recolhido e acondicionado em recipientes de vidro escuro e pesados em balança de precisão, para o cálculo do teor, expresso em  $\text{g g}^{-1}$  de matéria seca e para serem, posteriormente, analisados quanto à composição química e utilizados nos testes de atividade antioxidante (amostras de óleo essencial da primeira colheita) e antifúngica (amostras de óleo essencial de segunda colheita).

### **Análise química do óleo essencial**

Na análise da composição química dos compostos voláteis utilizou-se as técnicas de cromatografia gasosa acoplada ao detector por ionização em chama (CG/DIC) na separação e quantificação dos componentes do óleo essencial e cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM), determinação do índice de Kovats<sup>1</sup> e comparação com a registros de bancos de dados e da literatura (ADAMS, 2007). A quantificação dos constituintes identificados foi obtida com base nas áreas dos picos cromatográficos correspondentes, utilizando-se o método da normalização. Foram utilizados 20 mg do óleo essencial previamente diluídos em 1 mL de acetato de etila. Nas análises por CG/DIC foi utilizado um Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar Rtx-5 (30 m x 0.25 mm), espessura do filme 0,25  $\mu\text{m}$ , temperatura do injetor 220 °C e do detector 240 °C, hélio como gás de arraste ( $1.2 \text{ mL min}^{-1}$ ), com programa de temperatura do forno de 60 a 240°C a  $3^\circ\text{C.min}^{-1}$ , mantendo a 240°C por 20 min, split de 1:20, volume de injeção de 1  $\mu\text{L}$ .

---

<sup>1</sup>. O índice de Kovats é um índice de retenção que descreve o comportamento de retenção do composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos de diferentes números de átomos de carbono. Este índice de retenção fornece informação sobre a seqüência de eluição do composto e varia em função da fase estacionária e da temperatura, sendo independente das condições experimentais. (JANZANTTI et al., 2003)

Nas análises por CG/EM foi utilizado Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, com injetor automático AOC-20i, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0,25 mm), espessura do filme 0,25 µm, temperatura do injetor 220C, gás de arraste hélio (1 mL min<sup>-1</sup>), temperatura da interface e da fonte de ionização 240°C, energia de ionização 70 eV, corrente de ionização 0.7 kV e programa de temperatura e split igual à descrita acima.

### **Avaliação da atividade antioxidante**

Na análise quantitativa, o teste do sequestro do radical livre DPPH foi realizado de acordo com a metodologia descrita por MALTERUD et al. (1993), em que se avaliou a capacidade das amostras testadas, preparadas a partir dos óleos essenciais de *L. bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, em capturar o radical livre estável DPPH. Nesse método foi utilizada uma solução de 45 µg mL<sup>-1</sup> de DPPH em MeOH. A partir dessa solução foi tomada uma alíquota de 10 mL em que foi diluída em 100 mL de MeOH, obtendo-se a concentração desejada de 45µg mL<sup>-1</sup>. O propilgalato foi utilizado como controle positivo, devido ao poder de sequestrar 100% dos radicais, sendo preparada uma solução metanólica de 5 mg mL<sup>-1</sup>.

Foram testadas cinco concentrações dos óleos essenciais, que variaram de 2 a 18 mg mL<sup>-1</sup>, em que se utilizou como solvente o MeOH. O monitoramento da reação foi realizado com o auxílio de um espectrofotômetro no visível com  $\lambda=517$  nm e as leituras foram feitas em triplicata. Em cada cubeta foi adicionado 3 ml da solução de DPPH 45 µg mL<sup>-1</sup> e 50 µl de cada uma das concentrações e 50 µl da solução de propilgalato (controle positivo). O branco foi feito com 3 mL de MeOH. A primeira leitura no espectrofotômetro UV/VIS em  $\lambda_{max}= 517$  nm foi feita com a cubeta contendo somente a solução do DPPH. O valor do EC<sub>50</sub>, ou seja, a concentração que atinja o sequestro de 50% do radical DPPH foi obtida a partir da derivada das equações lineares.

As atividades sequestrantes de DPPH das concentrações testadas foram expressas em porcentagem, a partir da seguinte fórmula: % sequestro = 100 (A<sub>0</sub> – A<sub>t</sub>) / (A<sub>0p</sub> – A<sub>p</sub>), em que A<sub>0</sub> = absorbância inicial da solução de DPPH; A<sub>t</sub> = absorbância final da amostra após reação com DPPH; A<sub>0p</sub> = absorbância inicial do padrão e A<sub>p</sub> = absorbância final do padrão.

### **Atividade antifúngica**

O fungo *Moniliophthora perniciosa* (isolado 1188 da micoteca do Laboratório de Fitopatologia Molecular do MAPA/CEPLAC/CEPEC/SEFIT) foi previamente cultivado em meio BDA (batata, dextrose, ágar) e mantido em incubadora tipo BOD (Biochemical oxygen demand) a 25 ± 1°C, por 20 dias, na Unidade de Biocontrole. Após este período, discos de micélio ativo com seis milímetros de diâmetro foram retirados das bordas das placas e colocados no centro de cada

placa de Petri de nove centímetros de diâmetro, contendo as diferentes concentrações dos óleos essenciais de *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis*, previamente solubilizados em Tween 20 a 1% e incorporados ao meio de cultura, de modo a se obter as concentrações finais de 0,25, 0,50, 0,75, 1,00 e 1,25  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (Figura 12 A, B e C). Como controles foram utilizados placas de Petri contendo apenas meio BDA (controle absoluto) e placas contendo meio BDA misturado ao surfactante Tween 20 a 1% (controle relativo). Os tratamentos foram acondicionados em incubadora tipo B.O.D (Figura 12 D) à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante o período de realização do experimento.



**Figura 12.** A: Identificação do material a ser utilizado no experimento. B: Erlenmeyer contendo as diferentes concentrações de óleo essencial de *L. bromleyana* Moldenke, *L. lasiocalycina* Cham. e *L. insignis* Moldenke. C: Meio de cultura BDA ainda fundente e placas de petri de 9mm de diâmetro. D: Incubadora B.O.D à  $25^\circ\text{C}$ , onde as placas com os tratamentos ficaram acondicionadas. Ilhéus, Bahia.

O crescimento miceliano foi avaliado por meio das medições do diâmetro das colônias, para obtenção do índice de crescimento miceliano (ICM) e porcentagem de inibição de crescimento miceliano. Para essa quantificação, considerou-se o diâmetro das colônias como a média de duas medidas diametralmente opostas realizadas diariamente, até as colônias fúngicas dos controles atingirem  $\frac{3}{4}$  do diâmetro da placa. O índice de crescimento miceliano (ICM) foi calculado pela fórmula modificada de Nakagava Maguire, adaptada por Oliveira (1992), onde:  $\text{ICM} = [(C1/N1)+(C2/N2)+\dots+(Cn/Nn)]$ , sendo C1, C2, Cn = crescimento miceliano do fungo na primeira, segunda e última avaliação e N1, N2, Nn = número de dias após a inoculação. A porcentagem de

inibição do crescimento miceliano foi calculada por meio da fórmula:  $\% = [(CT - Ct * 100) / CT]$ , onde: CT e Ct correspondem ao crescimento miceliano na testemunha e no tratamento (SILVA e BASTOS, 2007).

### **Análise estatística**

Na avaliação da atividade antioxidante o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos, constituídos das concentrações do óleo essencial de *L. bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* (2, 6, 10, 14 e 18 mg mL<sup>-1</sup>) com três repetições. Na avaliação da atividade antifúngica o delineamento experimental utilizado foi DIC com cinco concentrações de óleo essencial de *L. bromleyana*, *L. insignis* e *L. lasiocalycina* (0,25, 0,50, 0,75, 1,00 e 1,25 µL mL<sup>-1</sup>).

Os resultados foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro e a análise de regressão por meio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

## **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Caracterização química do óleo essencial**

A análise química do óleo essencial da espécie *Lippia bromleyana* na primeira colheita, resultou na identificação de 29 compostos, perfazendo 88,5% da composição do óleo, divididos em monoterpenos (69,7%), sesquiterpenos (17,0%) e fenilpropanoides (1,8%) (Tabela 6, Anexo H). Os compostos majoritários foram óxido de piperitona (37,4%) e limoneno (19,1%). Apenas traços dos compostos  $\alpha$ -pineno, sabineno e octen-3-ol +  $\beta$ -pineno foram detectados. Na segunda colheita foram identificados 32 compostos, completando 94,2% da composição do óleo; destes 79,3% são monoterpenos, 12,6% de sesquiterpenos e 1,33% de fenilpropanoides (Tabela 7, Anexo I). Os compostos majoritários foram óxido de piperitona (33,3%) e limoneno (27,7%), demonstrando um perfil químico semelhante ao da primeira colheita. Apenas traços de  $\alpha$ -pineno, sabineno,  $\beta$ -pineno, *Z*-ocimenona, metil timol éter, *E*-ocimenona e *E*- $\beta$ -farneseno foram detectados na amostra analisada.

Na primeira colheita, para *L. insignis* foram identificados 32 compostos, correspondendo a 98,5% de compostos identificados, constituído por monoterpenos (93,9%) e sesquiterpenos (4,6%). O composto majoritário foi o timol (63,3%). Foram detectados apenas traços dos compostos sabineno,  $\beta$ -pineno, terpinoleno, acetato de *trans*-carvila e óxido de piperitona (Tabela 6, Anexo H). Na segunda colheita 31 compostos foram identificados, destes 93,8% são monoterpenos e apenas 4,61% sesquiterpenos, perfazendo um total de 98,4% da composição do óleo. Apenas traços de  $\alpha$ -

tujeno,  $\alpha$ -pineno, sabineno,  $\beta$ -pineno, hidrato de *cis* sabineno, terpinoleno, acetato de *trans* carvila, óxido de piperitona, aromandendreno e óxido de cariofileno foram detectados na amostra analisada. Mircenona (31,4%), timol (18,2%) e *E*-ocimenona (12,0%) foram os compostos majoritários (Tabela 7, Anexo I). Portanto, houve diferenças na composição química do óleo essencial de *L. insignis* nas duas colheitas, onde o teor de timol reduziu e outros compostos foram detectados como majoritários.

A análise química do óleo essencial da espécie de *L. lasiocalycina* na primeira colheita permitiu a identificação de 29 compostos, formados pela mistura de compostos monoterpênicos (74,6%) e sesquiterpênicos (14,5%), correspondendo a 89,1% dos constituintes identificados (Tabela 6, Anexo H). Os componentes majoritários foram *E*-ocimenona (29,9%), mircenona (15,6%) e mirceno (12,8%), sendo detectados apenas traços dos compostos limoneno, 1,8-cineol, *Z*- $\beta$ -ocimoneno, crisantenona e  $\alpha$ -terpineol (Tabela 6). Na segunda colheita também foram identificados 29 compostos, com um perfil semelhante de monoterpenos (77,0%) e sesquiterpenos (17,4%), no entanto, os compostos majoritários (mircenona - 31,4%,  $\beta$ -mirceno - 17,6% e *p*-cimeno - 14,4%) apresentaram diferenças quantitativas e qualitativas em relação à primeira colheita. Na segunda colheita, o óleo essencial de *L. lasiocalycina* apresentou apenas traços dos compostos  $\alpha$ -pineno, 1,8 cineol, *Z*- $\beta$ -ocimeno, *E*- $\beta$ -ocimeno,  $\gamma$ -terpineno, crisantenona, ipsdienol, borneol e  $\alpha$ -terpineol (Tabela 7, Anexo I).

Em *L. thymoides* a análise do óleo essencial proveniente da primeira colheita permitiu a identificação de 46 compostos (81,1%), formado pela mistura principalmente de sesquiterpenos (70,1%) e monoterpenos (10,94%) (Tabela 6, Anexo H). Os compostos majoritários foram o  $\beta$ -cariofileno (28,5%) e o germacreno D (14,7%). Traços de  $\alpha$ -tujeno, canfeno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -terpineno, *E*- $\beta$ -ocimeno, hidrato de *cis*-sabineno, terpinoleno, hidrato de *trans*-sabineno,  $\gamma$ -elemeno,  $\alpha$ -gurjuneno,  $\beta$ -bourboneno,  $\delta$ -elemeno, carvacrol, mirtenol,  $\alpha$ -mirtenol, terpinen-4-ol, borneol, *trans*-verbenol e *trans*-pinocarveol foram detectados na composição do óleo essencial da espécie. Contudo, a análise cromatográfica do óleo essencial de *L. thymoides*, provenientes da segunda colheita, não permitiu uma resolução clara dos seus componentes, não sendo utilizado para a avaliação da atividade antifúngica.

Mudanças na composição química do óleo essencial de espécies aromáticas são comuns e, de acordo com Morais (2009), a idade e o estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar qualitativamente na produção de metabólitos secundários, e podem exercer influência conjunta com os fatores ambientais. Camêlo (2010) realizou cinco colheitas em diferentes genótipos de *Lippia alba* e observou diferenças na composição química do óleo essencial, atribuindo essas diferenças à época de corte. Para a mesma espécie Barros et al. (2009) relacionaram diferenças quantitativas e

qualitativas na composição química do óleo essencial à sazonalidade e às condições climáticas, que segundo os autores, podem beneficiar a biossíntese de um constituinte terpenoídico por uma espécie vegetal, através do favorecimento de sua atividade enzimática, nesse caso a terpeno-sintase, que é beneficiada em altas temperaturas; além disso, o autor discorre que as plantas, através de mecanismos de controle da rota biossintética, favorecem a produção de determinados constituintes, dependendo de suas necessidades. Na ocasião da primeira colheita a temperatura do ar, umidade relativa e pluviosidade foram 24,6°C, 75,9% e 90 mm, respectivamente; na segunda colheita houve uma diminuição da temperatura do ar (23,6°C) e aumento da umidade (77,55%) e diminuição da pluviosidade (69 mm) (Anexo B), o que pode explicar essas mudanças na composição química do óleo essencial das espécies.

**Tabela 6.** Número de compostos identificados (CI), compostos majoritários (CM), teor de monoterpenos (MT), sesquiterpenos (ST) e fenilpropanoides (FP) nos óleos essenciais de espécies de *Lippia bromleyana* Moldenke (LB), *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), *Lippia insignis* Moldenke (LI) e *Lippia thymoides* Mart e Schauer (LT), colhidas 170 após o transplante das mudas. Feira de Santana, Bahia.

	CI	CM	MT (%)	ST (%)	FP (%)
LB	29	Óxido de piperitona (37,37%) e Limoneno (19,12%)	69,71	17,02	1,76
LI	32	Timol (63,19%)	74,63	14,49	-
LL	29	<i>E</i> -ocimenona (29,90%), Mircenona (15,64%) e Mirceno (12,78%)	93,89	4,61	-
LT	46	$\beta$ -cariofileno (28,50%) e Germacreno D (14,75%)	10,94	70,15	-

- = ausência na amostra analisada.

**Tabela 7.** Número de compostos identificados (CI), compostos majoritários (CM), teor de monoterpenos (MT), sesquiterpenos (ST) e fenilpropanoides (FP) nos óleos essenciais de espécies de *Lippia bromleyana* Moldenke (LB), *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), *Lippia insignis* Moldenke (LI), colhidas aos 210 dias após a primeira colheita. Feira de Santana, Bahia.

	CI	CM	MT (%)	ST (%)	FP (%)
LB	32	Óxido de piperitona (33,27%) e limoneno (27,69%)	79,27	12,57	1,33
LI	31	Mircenona (25,00), <i>E</i> -ocimenona (12,02) e timol (18,16%)	93,82	4,61	-
LL	29	Mircenona (31,39%), $\beta$ -mirceno (12,78%) e $\rho$ -cimeno (17,58%).	77,00	17,36	-

O óxido de piperitona, composto majoritário da *L. bromleyana*, é comum em espécies de *Mentha* (Lamiaceae), como a *M. rotundifolia* L., *M. longifolia* L. (BATH et al., 2002) e *M. villosa* Huds. (INNECCO et al., 2003). O limoneno também detectado em grandes quantidades na espécie, é um monoterpene usado na agricultura como inseticida para repelir pragas de plantas e na atração inimigos naturais das pragas (IMBRAHIM et al., 2001), presente em diversas espécies do gênero *Lippia*, como a *L. citriodora* Kunth, *L. javanica* (Burm. f.), *L. junelliana*, *L. multiflora* Moldenke, *L. rotundifolia* Cham. e *L. scaberrima* Soud (SILVA, 2013). O timol, componente majoritário do óleo essencial da espécie *L. insinias* é comum em diversas espécies como *L. laxibracteata*, *L. chevalieri* Moldenke, *L. multiflora* Moldenke, *L. grandis* Schauer, *L. origanoides* H.B.K, *L. sidoides* Cham., *L. gracilis* Schauer (SILVA, 2013). Este composto é amplamente utilizado na indústria farmacêutica, com atividade antimicrobiana e antiinflamatória comprovada (NOSTRO et al., 2007; FACHINI-QUEIROZ et al., 2012).

O composto *E*-ocimenona, majoritário na espécie *L. lasiocalycina*, também foi encontrado em *L. junelliana* quimiotipo ocimenona, assim denominado por apresentar como majoritários os compostos *Z*-ocimenona e *E*-ocimenona (JULIANI et al., 2002). O composto mirceno, também encontrado em quantidade significativa em *L. lasiocalycina*, é um monoterpene acíclico com atividade biológica capaz de interferir na biotransformação de drogas, como ciclofosfamidas, barbituratos, bromobenzeno quando presentes no organismo de mamíferos (DE-OLIVEIRA et al., 1997). Esse mesmo composto também foi encontrado em outras espécies do gênero *Lippia*: *L. lacunosa* e *L. rotundifolia* (LEITÃO et al., 2008); *L. javanica* (VILJOEN et al., 2005).

$\beta$ -cariofileno e germacreno D, compostos majoritários do óleo essencial de *Lippia thymoides* são comuns em outras espécies congêneres: *L. chevalieri* Moldenke, *L. dulcis* Trev., *L. graveolens* Kunth, *L. lupulina*, *L. myriocephala* Schldl. e Cham, *L. multiflora* Moldenke, *L. substrigosa* Turcz., sendo também identificados para *L. thymoides* (SILVA, 2013). Funch et al. (2004) afirma que a espécie *L. thymoides* possui como composto majoritário o timol, entretanto, isso não foi verificado nesse trabalho, concordando com os resultados encontrados por Silva (2013). Contudo, variações na composição química do óleo essencial em espécies aromáticas são esperadas, pois a época de coleta, condições de clima, solo e outros fatores decorrentes do ambiente onde a planta se encontra podem redirecionar as rotas metabólicas e interferir na biossíntese de diferentes compostos (SIMÕES e SPTIZER, 2003; MORAIS, 2009).

Fazendo uma análise comparativa das espécies estudadas nesse trabalho, observa-se que a composição química do óleo essencial é bem distinta, tanto em relação à composição por mono e sesquiterpenos quanto na quantidade de compostos e aos componentes majoritários. Na espécie *L.*



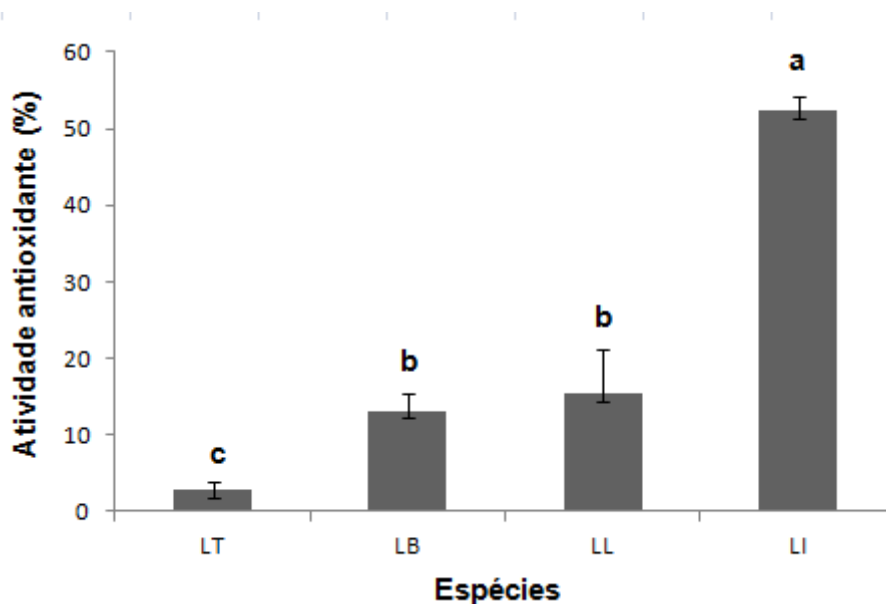
*thymoides* foram identificados 46 compostos, valor superior às demais espécies, que totalizaram em média 30 (*L. bromleyana*) 29 (*L. lasiocalycina*) e 32 (*L. insignis*). Essas três últimas espécies apresentaram padrão semelhante em relação à composição do óleo em mono e sesquiterpenos, sendo que os seus óleos essenciais são compostos principalmente por monoterpenos, enquanto que o óleo essencial de *L. thymoides* é composto em sua maior parte por sesquiterpenos. Essa peculiaridade na composição química do óleo essencial de *L. thymoides* também foi verificada por Silva (2013). Os sesquiterpenos são em geral, menos voláteis que os monoterpenos, com maior número de carbonos, no entanto, podem influenciar o odor dos óleos essenciais nas espécies em que ocorrem (CASTRO et al., 2004). Fenilpropanoides (acetato de *E*-cinamila e benzoato de benzila) foram identificados apenas no óleo essencial da espécie *L. bromleyana*.

As estruturas químicas dos compostos dos óleos essenciais identificados em *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina*, *L. insignis* e *L. thymoides* encontram-se em Anexo (Anexo I).

### **Atividade antioxidante**

A avaliação da atividade antioxidante revelou que nas espécies *L. thymoides*, *L. bromleyana* e *L. lasiocalycina* o valor de EC<sub>50</sub> encontrado foi superior a máxima concentração utilizada, ou seja, para que a atividade antioxidante dessas espécies alcance 50% as concentrações usadas de óleo essencial devem ser 262, 72 e 61 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Apenas em *L. insignis* o valor de EC<sub>50</sub> ficou dentro das concentrações testadas, que foi de 17 mg mL<sup>-1</sup>. Silva (2013) testou a atividade antioxidante do óleo essencial da espécie *L. thymoides* coletada em diferentes épocas do ano, sendo que as amostras colhidas no outono, inverno e primavera não chegaram a efetuar 50% de seqüestro de DPPH na concentração de 243 µg mL<sup>-1</sup>.

Houve diferença significativa na concentração de 18 mg mL<sup>-1</sup> para todas as espécies testadas. A espécie *L. insignis* se destacou em relação às demais espécies estudadas, apresentando atividade antioxidante significativamente superior em todas as concentrações testadas (Figura 13). A maior atividade antioxidante foi verificada na espécie *L. insignis* (52,3%), seguida de *L. lasiocalycina* com 15,1%, *L. bromleyana* (13,2%) e *L. thymoides* com apenas 4,3% (Figura 13).

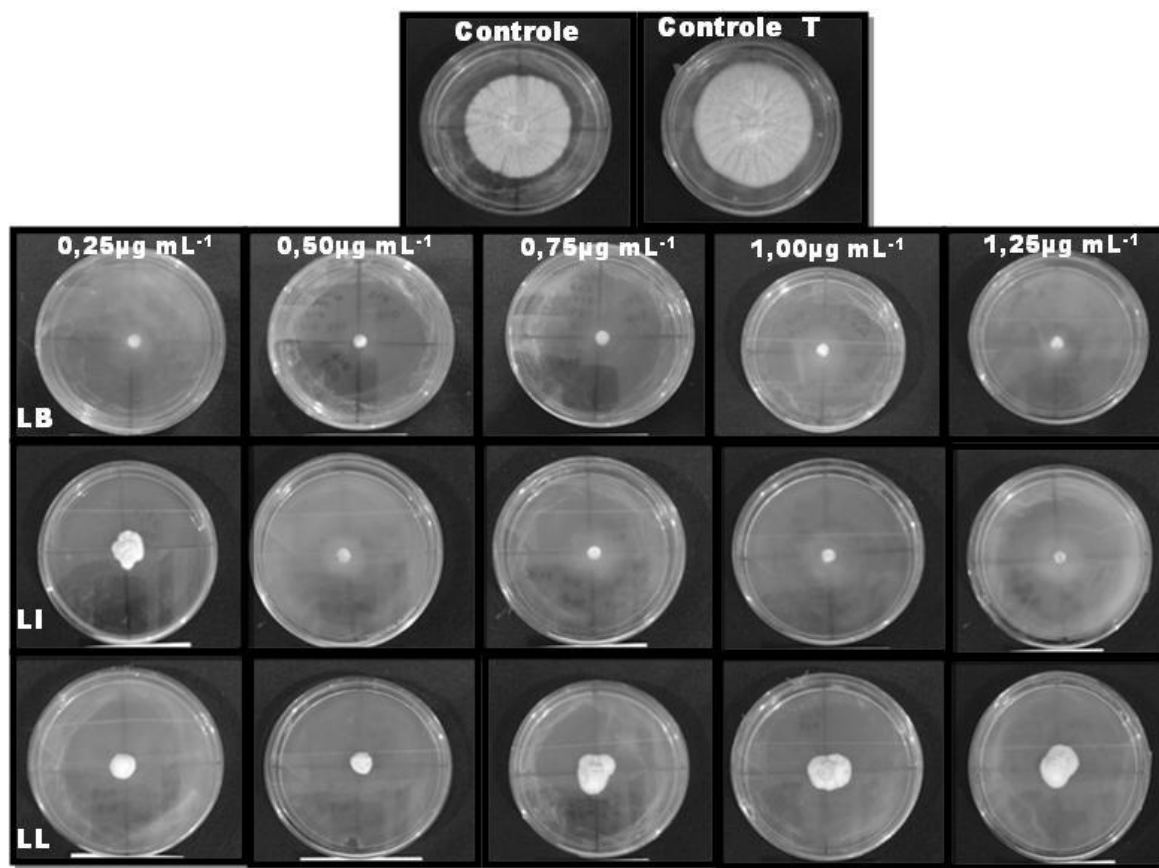


**Figura 13.** Atividade antioxidante dos óleos essenciais das espécies *Lippia thymoides* Mart e Schauer, *Lippia bromleyana* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia insignis* Moldenke, na concentração de  $18\text{mg mL}^{-1}$ . Letras diferentes nas barras diferem entre si, pelo Teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro. Feira de Santana, 2014.

Essa maior atividade pode ser explicada pelo fato de *L. insignis* apresentar como composto majoritário o timol (63,19%) (Tabela 6), que é um composto fenólico. Os compostos fenólicos têm apresentado ação antioxidante natural em estudos recentes, podendo agir como redutor de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica, ou mesmo na quelação de metais. Assim, óleos essenciais ricos em compostos fenólicos, como o timol, por exemplo, são, na maioria das vezes, mais ativos (TOMAINO et al., 2005; BOSCARDIN 2009). Bedoya et al. (2012), em estudo da atividade antioxidante do óleo essencial de *L. origanoides*, encontraram valores da capacidade antioxidante de  $5,58\text{ mg mL}^{-1}$  para DPPH, os quais atribuíram a inativação dos radicais, principalmente pela alta porcentagem de timol (73%).

### Atividade antifúngica

O óleo essencial de *L. bromleyana* inibiu em 100% o crescimento miceliano de *Moniliophthora perniciosa* em todas as concentrações testadas. Obteve-se 100% de inibição para o óleo essencial de *L. insignis*, a partir da concentração de  $0,50\ \mu\text{L mL}^{-1}$ . No óleo essencial de *L. lasiocalycina* houve um aumento gradativo da porcentagem de inibição do crescimento miceliano à medida que se aumentava a concentração do óleo essencial (Figura 14, Tabela 8).



**Figura 14.** Crescimento micelial de *Moniliophytora pernicioso* cultivado em meio BDA suplementado de diferentes concentrações de óleo essencial de *Lippia bromleyana* Moldenke (LB), *Lippia insignis* Moldenke (LI) e *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), comparados aos controles absoluto (Controle) e relativo (Controle T). Ilhéus, Bahia.

A ação fungicida de óleos essenciais contra *M. pernicioso* foi comprovada para as espécies *Piper callosum* Ruiz e Pav, *Piper marginatum* Jack var. *anisatum*, nas concentrações de 0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$  e 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectivamente (SILVA e BASTOS, 2007) e para *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis* e *Syzygium aromaticum*, a partir da concentração de 0,75  $\mu\text{L mL}^{-1}$  (CHAUSSÊ et al., 2011).

**Tabela 8.** Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *M. pernicioso* cultivado em meio de cultura BDA suplementado com diferentes concentrações de óleo essencial de *Lippia bromleyana* Moldenke, *L. insignis* Moldenke e *L. lasiocalycina* Cham. Ilhéus, Bahia.

Concentração ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	<i>L. bromleyana</i>	<i>L. insignis</i>	<i>L. lasiocalycina</i>
0,25	100,00a	68,72b	75,81b
0,50	100,00a	100,00a	63,18b
0,75	100,00a	100,00a	66,64b
1,00	100,00a	100,00a	75,05b
1,25	100,00a	100,00a	91,05a

Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si pelo Teste de Scott- Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Os resultados desse trabalho corroboram com estudos feitos com óleos essenciais de outras espécies de *Lippia*. Em trabalho realizado na Colômbia com óleos essenciais extraídos de *L. alba*, *L. citriodora* e *L. origanoides*, Lozada et al. (2012) observaram 100% de inibição do crescimento micelial de *Moniliophthora roreri*, fungo causador da monilíase no cacau, quando usados nas concentrações 800-1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Em *L. sidoides* Souza Júnior et al. (2009), observaram que 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$  inibiu totalmente o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose no maracujá. O óleo essencial de *L. origanoides*, coletada em diferentes épocas, teve efeito antifúngico sobre *Aspergillus niger*, mesmo na menor concentração avaliada (TELES et al., 2014).

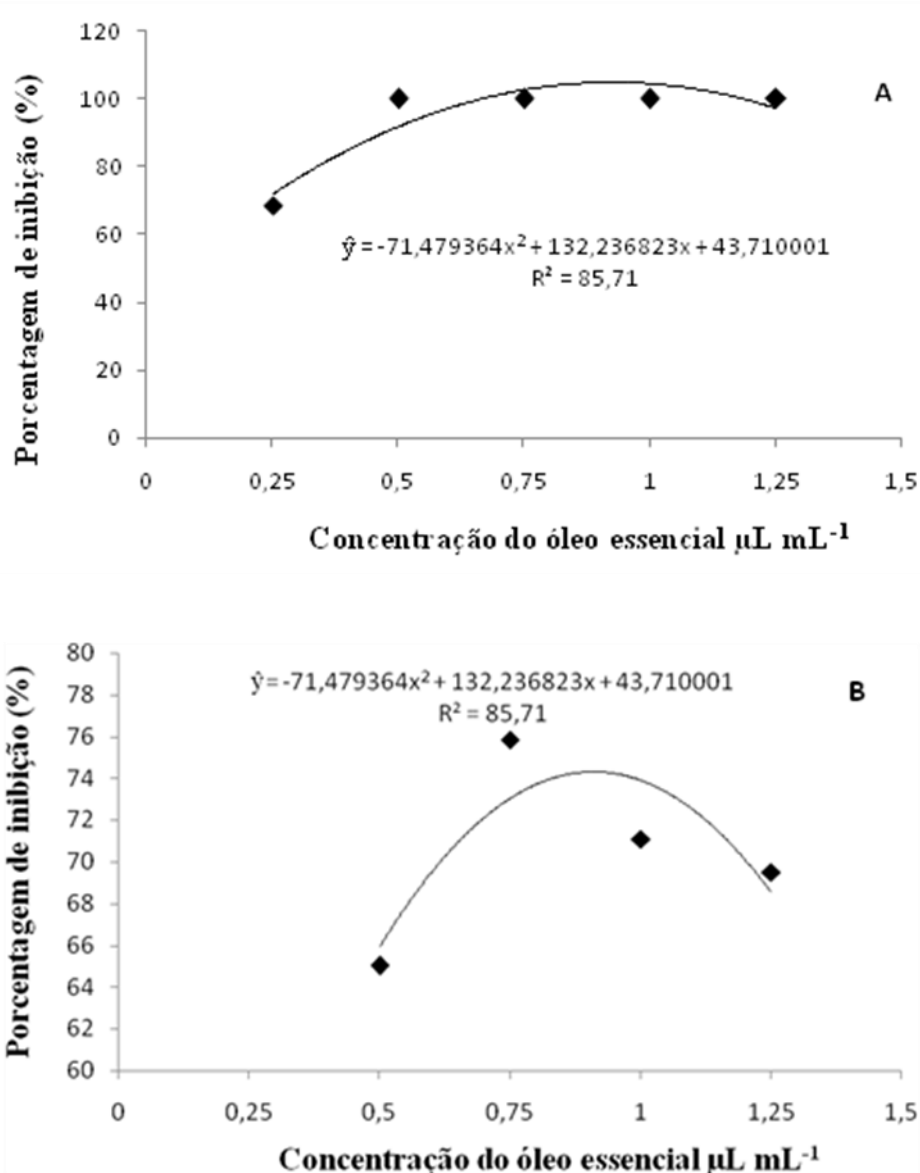
A média do crescimento micelial de *M. pernicioso* com a utilização dos óleos essenciais das espécies foi de 0 (não houve crescimento); 0,45 e 1,85 cm para *L. bromleyana*, *L. insignis* e *L. lasiocalycina*, respectivamente (Tabela 9). Em contraste, no controle absoluto o fungo cresceu em média 6,63 cm (Figura 14). Testando diferentes concentrações do óleo essencial de *L. origanoides* sobre o crescimento micelial de *Aspergillus niger*, Teles (2014) observou crescimento de 0,23 a 1,42 cm, sendo que no tratamento controle o fungo cresceu 8,0 cm.

**Tabela 9.** Índice de crescimento micelial (cm) de *M. pernicioso* cultivado em meio de cultura BDA suplementado com diferentes concentrações de óleo essencial de *Lippia bromleyana* Moldenke, *L. insignis* Moldenke e *L. lasiocalycina* Cham. Ilhéus, Bahia.

Concentração ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	<i>L. bromleyana</i>	<i>L. insignis</i>	<i>L. lasiocalycina</i>
0,25	0,00a	2,25b	2,65b
0,50	0,00a	0,00a	2,40b
0,75	0,00a	0,00a	1,80b
1,00	0,00a	0,00a	1,74b
1,25	0,00a	0,00a	0,64a

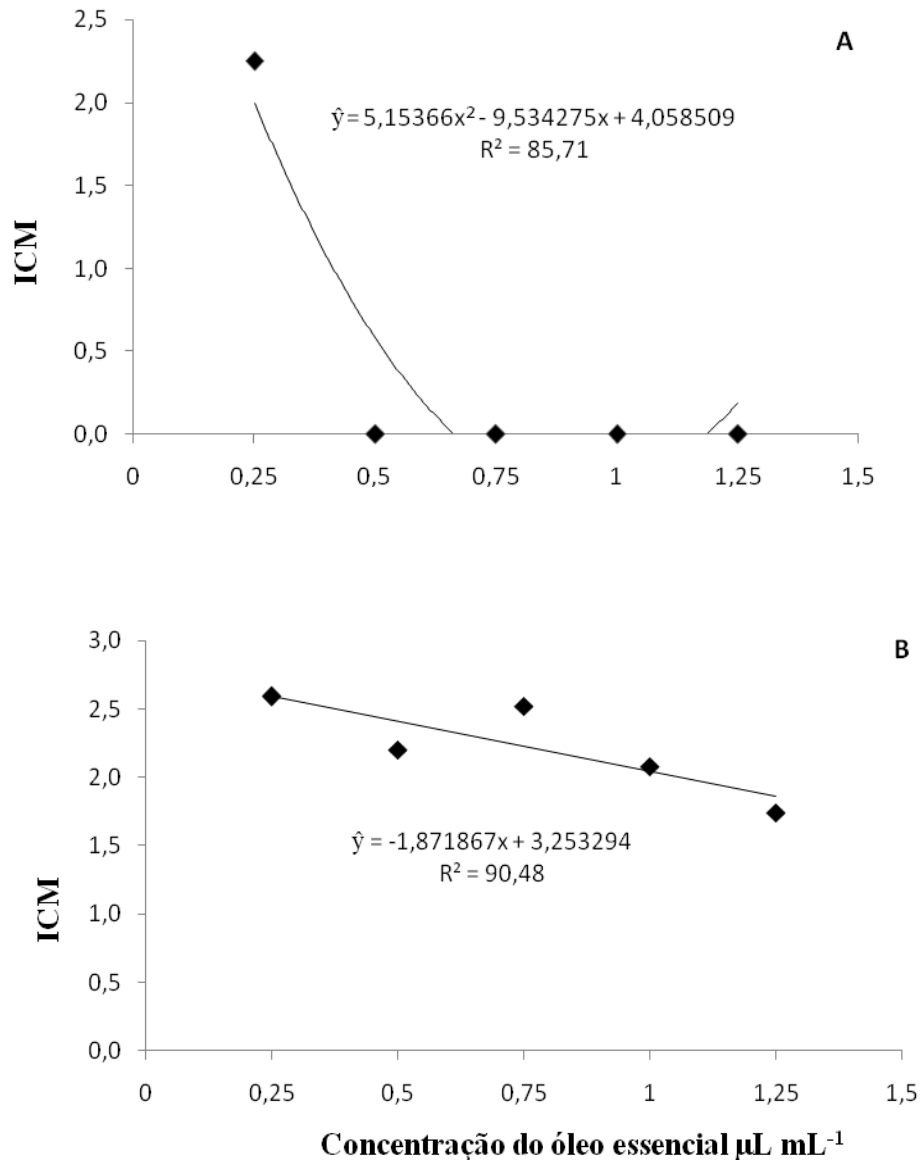
Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

O óleo essencial de *L. bromleyana* inibiu totalmente o crescimento micelial de *M. pernicioso* em todas as concentrações utilizadas, ou seja, na menor concentração ( $0,25\mu\text{L mL}^{-1}$ ) já houve inibição total do crescimento do fungo. Nas demais espécies a análise de regressão para a porcentagem de inibição demonstrou uma resposta quadrática em relação ao óleo essencial de *L. lasiocalycina*, indicando que aumento na concentração do óleo essencial representa aumento na porcentagem de inibição do fungo, sendo que a inibição mínima foi de 64,3% na dose  $0,63\mu\text{l mL}^{-1}$  (Figura 15B). *L. insignis* também apresentou uma resposta quadrática, indicando que o aumento na concentração do óleo essencial representa o aumento na porcentagem de inibição do fungo e alcança 100% de inibição na dose  $0,92\mu\text{l mL}^{-1}$  (Figura 15A).



**Figura 15.** Porcentagem de inibição de *M. perniciosus* em diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke (A) e *Lippia lasiocalycina* Cham. (B). Ilhéus, Bahia.

A atividade antifúngica do óleo essencial de *L. bromleyana* pode estar associada a um de seus compostos majoritários, o limoneno (Tabela 7). A ação fungicida do limoneno foi testada contra o fungo *Trichophyton robum*, comprovando sua ação fungicida (CHEI et al., 2009). Morei et al. (2012) testaram a atividade antifúngica de doze monoterpenos, entre eles o timol e o limoneno, contra fungos fitopatogênicos (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* e *Aspergillus niger*) e concluíram que o timol e o limoneno possuem atividade antifúngica, sendo o timol mais potente. Isso explica também o fato do óleo essencial de *L. insignis* apresentar atividade antifúngica, já que o timol é um dos compostos majoritários dessa espécie.



**Figura 16.** Índice de crescimento micelial de *M. pernicioso* em diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke (A) e *Lippia lasiocalycina* Cham. (B). Ilhéus, Bahia.

O óleo essencial de *L. lasiocalycina* apresentou uma resposta linear (Figura 16B) para a variável crescimento micelial do fungo, indicando que o aumento na concentração do óleo essencial dessa espécie corresponde a uma diminuição do crescimento micelial de *M. pernicioso*. O óleo essencial de *L. insignis* apresentou resposta quadrática para esse parâmetro, revelando que um

aumento na concentração de óleo essencial representa uma diminuição da velocidade de crescimento miceliano, alcançando seu crescimento mínimo de 4,06 cm na dose de 0,92  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

#### 5.4 CONCLUSÕES

A composição química dos óleos essenciais das espécies estudadas apresenta grande variação, com poucos compostos comuns às quatro espécies; há predominância de monoterpenos nos óleos essenciais das espécies *L. bromleyana*, *L. lasiocalycina* e *L. insignis* e de sesquiterpenos para *L. thymoides*. Fenilpropanoides estão presentes apenas em óleo essencial da espécie *L. bromleyana*; A época de colheita afeta a composição química dos óleos essenciais das espécies estudadas. Os testes *in vitro* indicaram que o óleo essencial de *L. insignis* apresenta potencial antioxidante. O óleo essencial de *L. bromleyana* apresenta maior potencial antifúngico contra *M. perniciosa*.

#### 5.5 REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. B. **Identification of essential oil components by gas chromatograph/mass spectrometry**. Carol Stream: Allured. p.804, 2007.
- BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciosa* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p. 441-443, 1997.
- BARROS, F. M. C.; ZAMBARDA, E.O.; HEINZMANN, B.M. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861-867, 2009.
- BEDOYA, O.A. et al. Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides* H.B.K) del Alto Patia. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, v.10, n.2, p. 79 – 86, 2012.
- BOSCARDIN, P. M. D. **Morfoanatomia, fitoquímica e atividades biológicas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage-Myrtaceae**. Curitiba, 2009. 139f. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- BHAT, S. et al. *Mentha* species: *In vitro* regeneration and genetic transformation. **Molecular Biology Today**, v. 3, n. 1, p. 11-23, 2002.
- BIASI, Luiz Antônio; DESCHAMPS, Cícero. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleos essenciais**. 1ª. edição. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, Curitiba, 2009. 160 p.
- CASTRO, Henrique Guilhon; FERREIRA, Francisco Afonso; SILVA, Derly José Henrique; MOSQUIM, Paulo Roberto. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabólitos secundários**. 2ª. Edição. Editora Visconde do Rio Branco, Viçosa, 2004. 113 p.



- CAMELO, Lúcia Cristina Alves. **Caracterização de germoplasma e sazonalidade em erva-cidreira-brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]**. 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Sergipe, Aracajú.
- CHAUSSÊ, T. C. C. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre a vassoura de bruxa do cacauero. **Revista brasileira de Biociências**, v. 9, n. 4, p. 492-496, 2011.
- CHEI, H. Y., KIM, H., LEE, M, H. In vitro antifungal activity of limonene against *Trichophyton rubrum*. **Mycobiology**, n. 37, v. 3, p. 243-246, 2009.
- DE-OLIVEIRA, A. C. A. X; RIBEIRO-PINTO, L. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; **Toxicology Letters**, v. 92, n. 39, 1997.
- ESTEVAM, Charles dos Santos. **Estudo fitoquímico biomonitorado da entrecasca de *Maytenus rígida* Mart. (Celastraceae)**. 2006. 189 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2006.
- FACHINI-QUEIROZ, F. C. et al. Effects of thymol and carvacrol, constituents of *Thymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory Response. **Hindawi Publishing Corporation**, 2012.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- FUNCH, Ligia Silveira; HARLEY, Raymond M; FUNCH, Roy. **Plantas úteis: Chapada Diamantina**. São Carlos: Rima, 2004. 206 p.
- GOMES, S. V. F; NOGUEIRA, P. C. L; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, n. 36, 2011.
- INNECO, R. et al. Espaçamento, época e número de colheitas em hortelã rasteira (*Mentha x villosa* Huds). **Revista Ciência Agronômica**, v.34, n.2, p. 247-51, 2003.
- IMBRAHIM, M. A. et al. Isecticidal, repelente, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and food science in Finland**, v. 10, p. 243-259, 2001.
- JULIANI JR., H. R. et al. Intraspecific variation in leaf oils of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, p. 163-170, 2002.
- LEITÃO, S. G. Analysis of the Chemical Composition of the Essential Oils Extracted from *Lippia lacunose* Mart. e Schauer and *Lippia rotundifolia* Cham. (Verbenaceae) by Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1388-1393, 2008.
- LUZ, E.D.M.N. et al. Vassoura de bruxa do cacauero: novos enfoques sobre uma velha doença. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 14, p.59-111, 2006.
- MALTERUD, K. E. Antioxidant and radical scavenging effects of anthraquinones and anthrones. **Pharmacology**, v. 47, p. 77-85. 1993.

MAREI, G. I. Kh. et al. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. **Pesticida Biochemistry and Physiology**, n. 103, p. 56-61, 2012.

MORAIS L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasileira, v. 27, p. 4050-4063, 2009.

MORAIS, S. M. et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.

NOSTRO, A. et al. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, p. 519-523, 2007.

OLIVEIRA, J.A. 1992. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). **Ciência e Prática**, v. 16, n.1, p. 42-47.

OLIVEIRA, J. E. Z.; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. **Recursos genéticos e perspectivas do melhoramento de plantas medicinais**. 1992. Disponível em: <http://www.cpsa.br/catalogo/livroorg/medicinaismelhoramento.pdf>. Acesso em: 11 Janeiro 2012.mat

OLIVEIRA, Tereza Cristina de. **Caracterização e comportamento de acessos de alecrimpimenta (*Lippia sidoides* Cham.) mantidos em Banco Ativo de Germoplasma em São Cristóvão – Se. 2008**. 1 v. 86f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) UFS, São Cristóvão, Sergipe.

OOTANI, M.A. et al. Use of essential oils in agriculture. **Journal of biotechnology**, v. 4, n.2, p. 162-174, 2013.

PEREIRA. C. A. M., MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(3): 624-632, jul.-set. 2007

PEREIRA, João Luis; VALLE, Raul René. **Manejo integrado da vassoura-de-bruxa do cacaueteiro**. In: Ciência, Tecnologia e Manejo do cacaueteiro. Editor: Raúl René Valle, 2ª. Edição, Brasília, 2012. 673p.

SALIMENA-PIRES, F. R. **Verbenaceae na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil**. 1991. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de São Paulo, São Paulo.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-daíndia, citronela e palma-rosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.442-449, 2009.

SILVA, F. S. 2012. **Estudo fitoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (Verbenaceae)**. Tese de Doutorado (Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana Bahia. 143 fl.

SILVA, D.M.H. e BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 143-145, 2007.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Cap.18. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000.

TELES S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 247-252, 2012.

TELES, S. et al. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia organoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p.169–176, 2014.

TOMAINO, A et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, v. 89, p. 549-554, 2005.

VILJOEN, A. M. The composition, geographical variation and antimicrobial activity of *Lippia javanica* (Verbenaceae) leaf essential oils. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p. 271-277, 2005.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

*Lippia bromleyana* apesar de produzir menor teor de óleo essencial possui potencial antifúngico contra *M. perniciosa*. *L. insignis* produz maior teor e rendimento de óleo essencial, tem potencial ornamental com boa produção de inflorescências, potencial antifúngico e antioxidante. *L. lasiocalycina* tem maior rendimento de biomassa foliar e óleo essencial e *L. thymoides* produz alto teor de óleo essencial.

As espécies *L. bromleyana*, *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* representam recursos genéticos de grande valor, pois além de serem nativas e/ou endêmica da região do semiárido baiano, possuem potencial de cultivo e produção de óleo essencial. Características morfológicas e anatômicas contribuem para a distinção das espécies estudadas. Os óleos essenciais dessas espécies apresentam grande potencial de uso por parte da indústria, como fonte de compostos antioxidantes e antifúngicos. São necessários futuros trabalhos para determinar concentrações mais eficazes no estudo de antioxidantes naturais e estudos *in vivo* para determinar a eficácia dos óleos essenciais e seus principais compostos sobre o crescimento de *M. perniciosa*. Considera-se ainda a necessidade de estudos para a caracterização molecular dessas espécies, obtendo-se estimativas de distâncias genéticas entre os genótipos e, assim, acesso à variabilidade existente, o que poderá direcionar novos esforços de coletas do germoplasma existente.

## **ANEXOS**

## ANEXO A

Coordenadas geográficas, altitude e locais de coleta das espécies estudadas. Feira de Santana, Bahia.

<b>Espécie</b>	<b>Latitude (S)</b>	<b>Longitude (W)</b>	<b>Altitude (m)</b>	<b>Cidade</b>
<i>L. bromleyana</i>	11 <sup>0</sup> 37' 45.0''	41 <sup>0</sup> 00' 13.7''	905	Morro do Chapéu
<i>L. insignis</i>	11 <sup>0</sup> 34' 7.6''	41 <sup>0</sup> 10' 14.7''	1071	Morro do Chapéu
<i>L. thymoides</i>	11 <sup>0</sup> 35' 6.7''	41 <sup>0</sup> 12' 22.2''	1075	Morro do Chapéu
<i>L. lasiocalycina</i>	-	-	-	Santa Terezinha

**ANEXO B**

Médias da temperatura (°C), umidade (%) e pluviosidade (mm) na região de Feira de Santana – BA, no período de realização do experimento (Janeiro a Novembro de 2012). Feira de Santana, Bahia.

<b>2011</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Precipitação (mm)</b>
<b>JAN</b>	28,2	79,7	10,5
<b>FEV</b>	28,3	81,6	29,4
<b>MAR</b>	28,5	81,1	3,3
<b>ABR</b>	27,7	79,7	11,1
<b>MAI</b>	24,0	79,0	64,0
<b>JUN</b>	24,6	82,6	61,5
<b>JUL</b>	22,4	75,8	28,0
<b>AGO</b>	22,2	76,1	33,0
<b>SET</b>	23,0	70,9	21,0
<b>OUT</b>	25,1	72,1	143,0
<b>NOV</b>	24,6	75,9	90,0
<b>DEZ</b>	25,3	76,3	53,0
<b>2012</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Precipitação (mm)</b>
<b>JAN</b>	26,31	67,38	22,0
<b>FEV</b>	25,72	70,98	15,0
<b>MAR</b>	26,12	67,91	5,0
<b>ABR</b>	26,09	68,48	21,0
<b>MAI</b>	24,85	78,87	61,0
<b>JUN</b>	23,61	77,55	69,0
<b>JUL</b>	22,65	78,52	19,0
<b>AGO</b>	23,23	71,76	5,0
<b>SET</b>	25,32	63,34	24,0
<b>OUT</b>	24,10	71,86	31,0
<b>NOV</b>	25,98	70,3	62,0

Fonte: INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. <http://www.inmet.gov.br/>

## ANEXO C

Análise química do solo no local onde foi realizado o experimento, na Unidade Experimental Horto Florestal. Feira de Santana, Bahia.

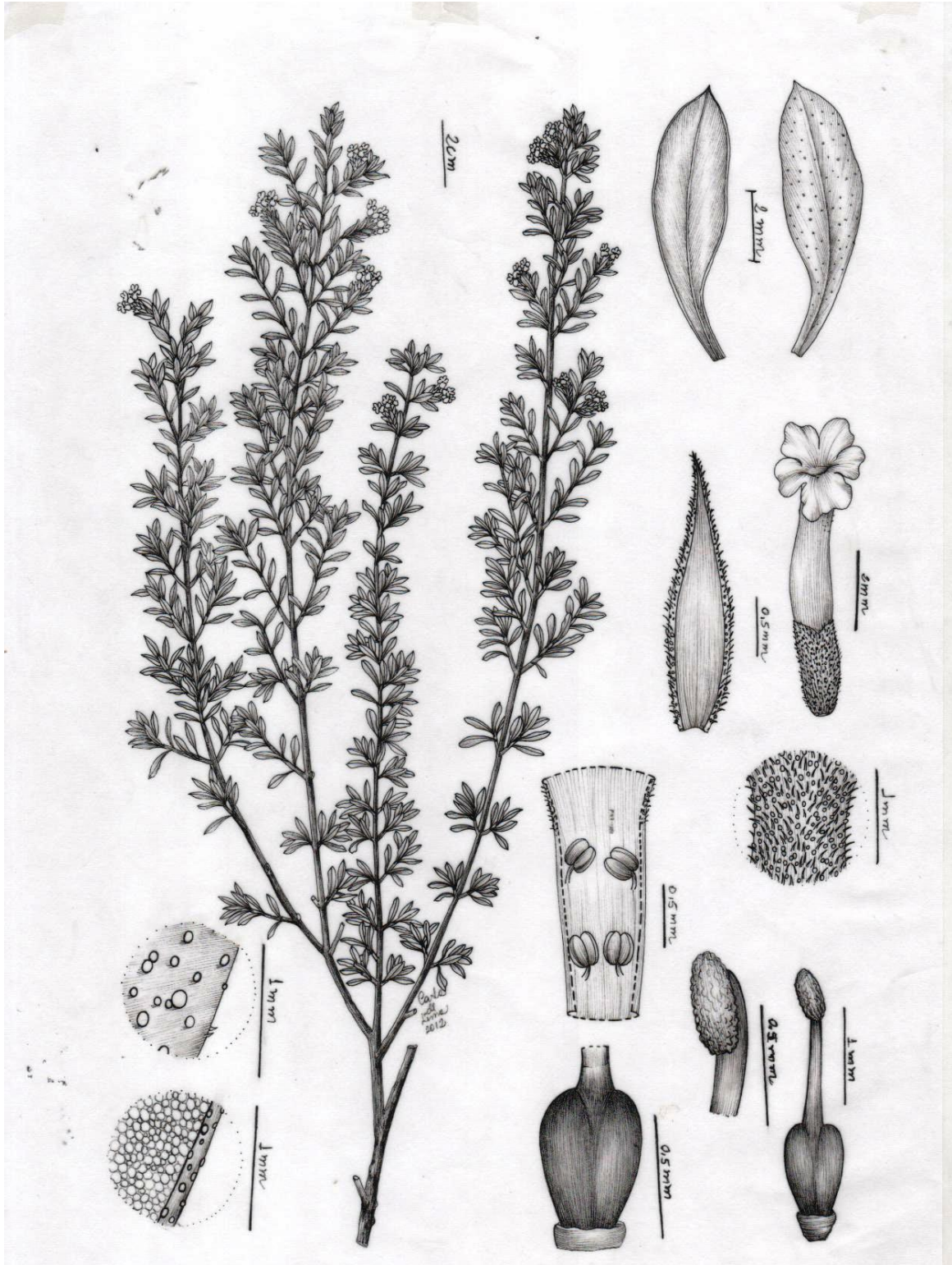
<b>Ph</b>	<b>Al</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Ca+Mg</b>	<b>K</b>	<b>Na</b>	<b>H+Al</b>	<b>P</b>
H <sub>2</sub> O				cmol <sub>c</sub> dm <sup>-1</sup>		mg dm <sup>-3</sup>		
4,9	0,1	1,7	0,7	2,4	0,27	0,24	2,64	6

Fonte: Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas- Bahia.



ANEXO D

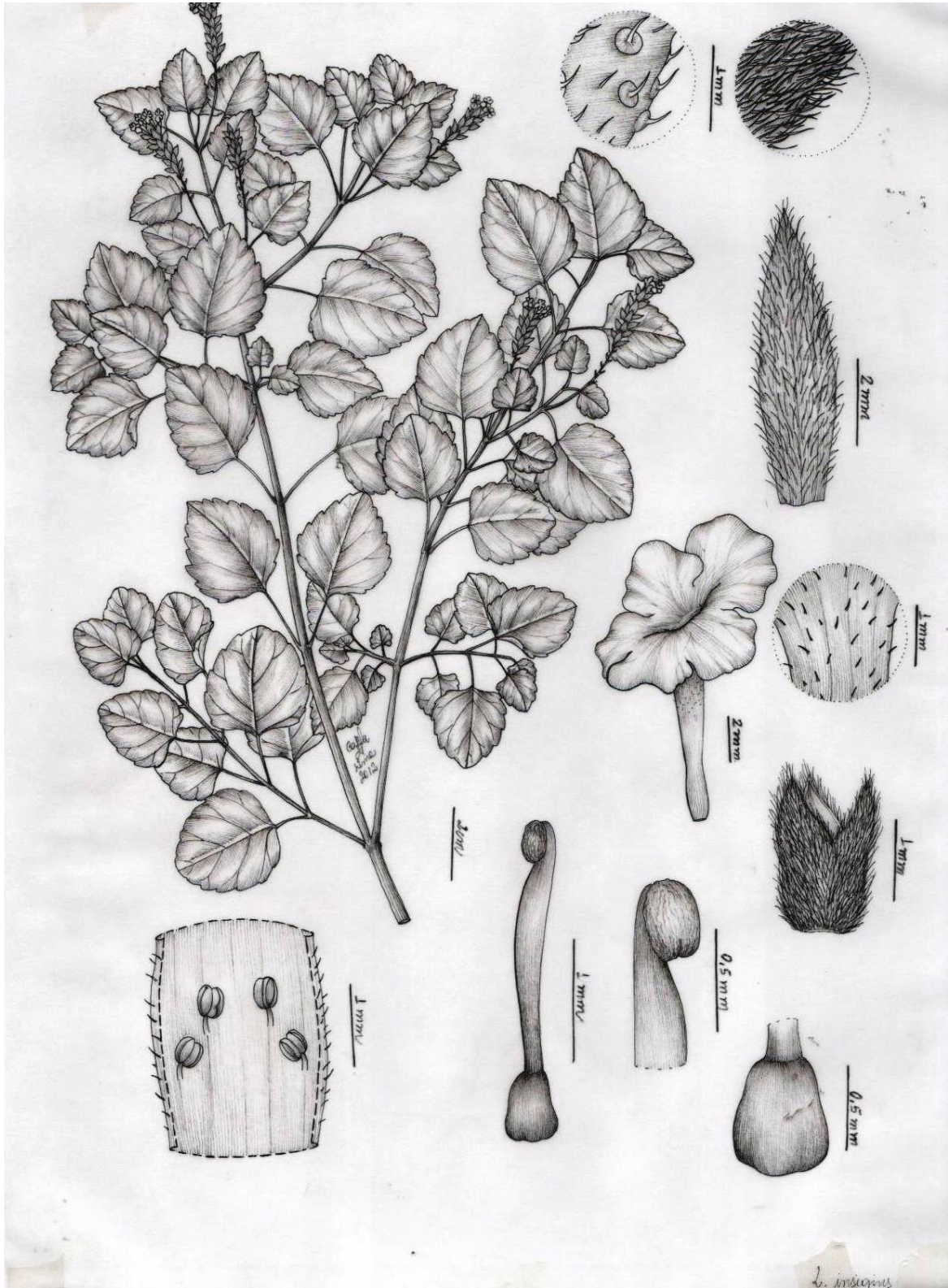
Detalhes da espécie *Lippia thymoides* Mart. e Schauer: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.



Prancha: Carla Teixeira

ANEXO E

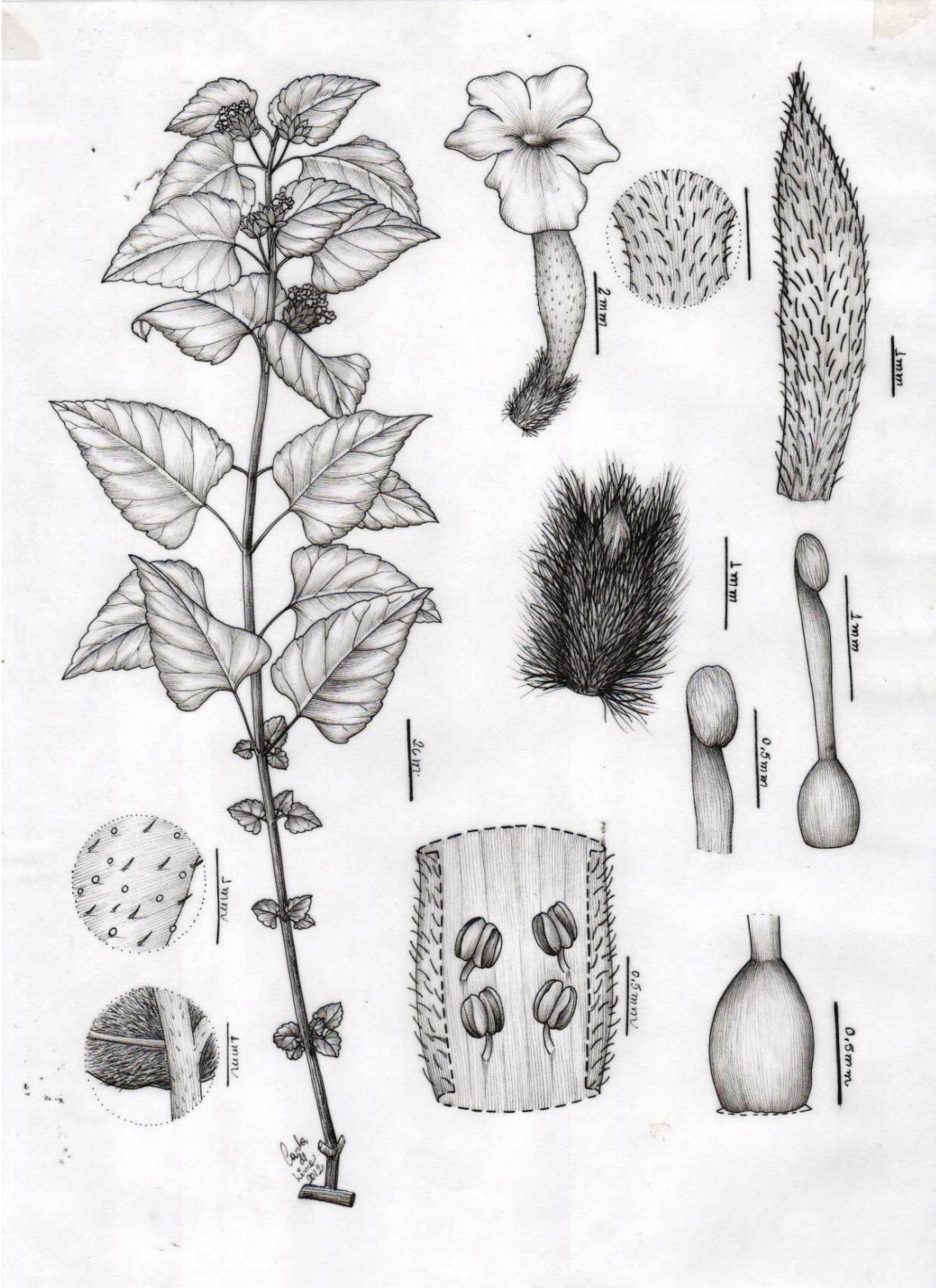
Detalhes da espécie *Lippia insignis* Moldenke: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.



Prancha: Carla Teixeira

ANEXO F

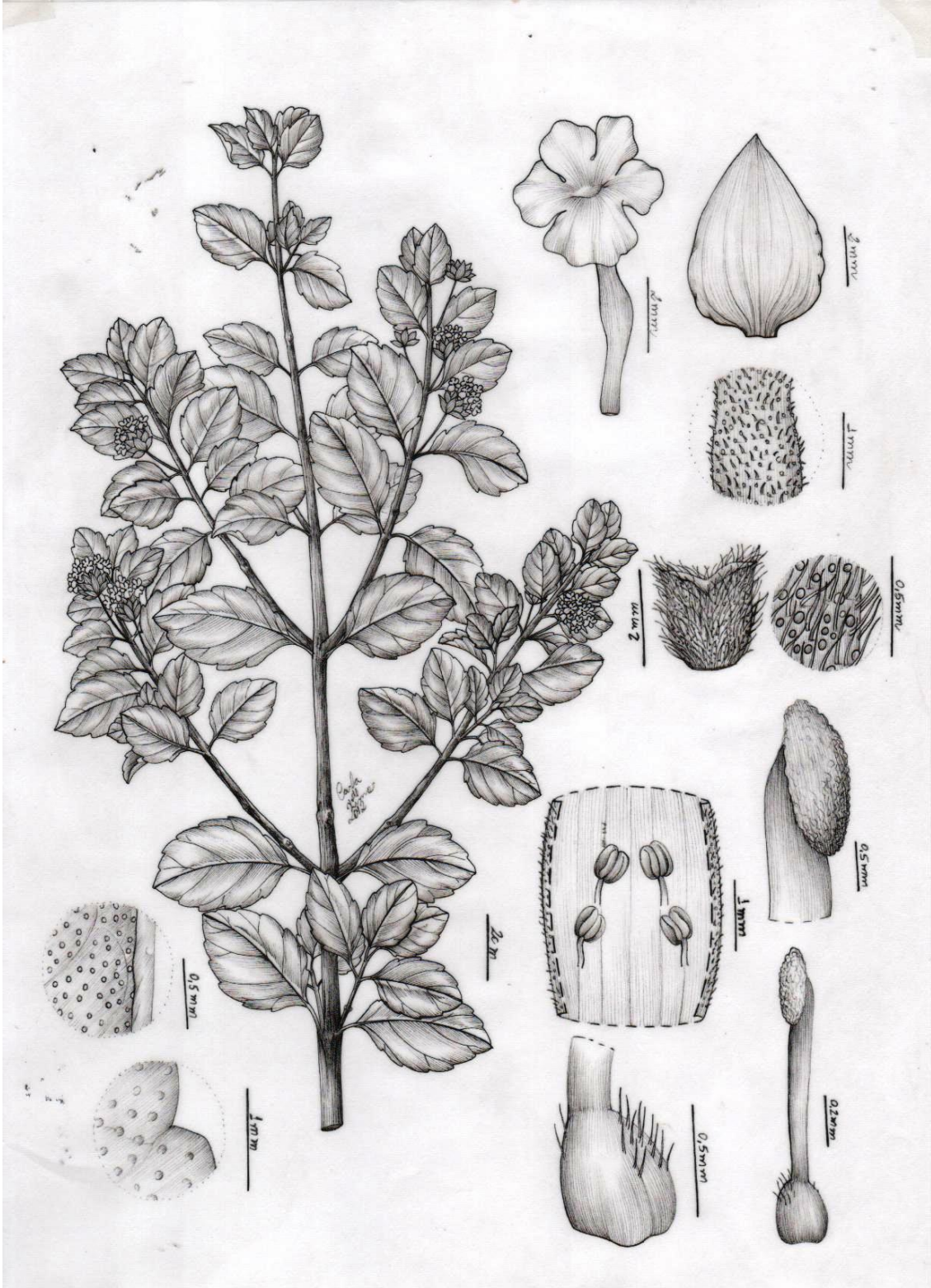
Detalhes da espécie *Lippia lasiocalicina* Cham.: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.



Prancha: Carla Teixeira

ANEXO G

Detalhes da espécie *Lippia bromleyana* Moldenke: Ramo, flor, folha, bráctea, estames.



Prancha: Carla Teixeira

## ANEXO H

Constituintes químicos do óleo essencial de *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), *L. bromleyana* Moldenke (LB), *L. insignis* Moldenke (LI) e *L. thymoides* Mart e Schauer (LT) cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal, Feira de Santana, Bahia, 2014 e colhidas 170 dias após o transplante das mudas. CM = Compostos majoritários. NC= Número de compostos identificados. M= Monoterpenos. S= Sesquiterpenos. F= Fenilpropanoides.

Composto	IK <sub>lit</sub>	IK <sub>calc</sub>	LB (%)	LI (%)	LL (%)	LT (%)
$\alpha$ -tujeno	930	928	0,33	0,40	-	t
$\alpha$ -pineno	939	935-39	t	0,03	0,37	0,77
canfeno	954	951	-	-	-	t
sabineno	975	975-77	t	t	0,55	1,17
$\beta$ -pineno	977	978	t	t	-	0,37
$\beta$ -mirceno	990	989-95	0,26	2,58	12,78	0,28
$\alpha$ -felandreno	1002	1003	-	-	-	t
$\alpha$ -terpineno	1017	1017	-	1,02	-	t
p-cimeno	1026	1024-29	2,07	3,73	3,95	1,16
limoneno	1029	1032-34	19,12	1,29	t	1,76
1,8-cineol	1031	1035	-	-	t	2,16
Z- $\beta$ -ocimeno	1037	1040	-	-	t	-
E- $\beta$ -ocimeno	1050	1051	-	0,25	0,48	t
$\gamma$ -terpineno	1059	1059-63	2,40	7,62	1,15	1,95
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1070	1067	-	0,09	-	t
terpinoleno	1088	1087	-	t	-	t
hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1096	1097	-	-	-	t
linalol	1096	1100	1,97	0,44	0,92	-
<i>trans</i> -p-menta-2,8-dien-1-ol	1122	1120	0,74	-	-	-
crisanthenona	1127	1128	-	-	t	-
<i>trans</i> -pinocarveol	1139	1139	-	-	-	t
<i>cis</i> -p-menta-2,8-dien-1-ol	1137	1135	0,43	-	-	-
<i>trans</i> -verbenol	1144	1145	-	-	-	t
ipsdienol	1145	1149	-	0,23	0,88	0,60

mircenona	1149	1153	1,29	8,18	15,64	-
borneol	1169	1167	-	-	1,90	t
terpinen-4-ol	1170	1177	-	0,39	-	t
$\alpha$ -terpineol	1188	1193	-	0,07	t	t
mirtenol	1195	1195	-	-	-	t
<i>trans</i> -carveol	1216	1218	0,45	-	-	-
<i>Z</i> -ocimenona	1229	1237	-	0,82	5,50	-
metil timol éter	1235	1235	-	1,27	-	-
timol	1238	1240	0,45	63,27	-	0,72
<i>E</i> -ocimenona	1238	1250	0,10	1,89	29,91	-
geraniol	1252	1259	-	-	0,32	-
geraniale	1267	1274	-	-	0,28	-
carvacrol	1298	1295	-	0,32	-	t
$\delta$ -elemeno	1338	1340	-	-	-	t
acetato de <i>trans</i> -carvila	1342	2341	0,83	t	-	-
piperitenona	1343	1345	1,90	-	-	-
$\alpha$ -cubebeno	1348	1351	-	-	-	0,39
óxido de piperitenona	1368	1378	37,37	t	-	-
$\alpha$ -copaeno	1377	1377	-	-	-	2,15
$\beta$ -bourboneno	1388	1384	-	-	-	t
$\beta$ -cubebeno + $\beta$ -elemeno*	1388/1390	1389/1391	-	-	-	0,58
$\beta$ -elemeno	1390	1393	-	-	1,35	-
$\alpha$ -gurjuneno	1409	1408	-	-	-	t
$\beta$ -cariofileno	1419	1419-24	1,33	1,57	2,95	28,50
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno	1434	1437	0,43	-	-	-
$\gamma$ -elemeno	1436	1435	-	-	-	t
$\alpha$ -guaieno	1439	1442	-	-	1,19	-
aromadendreno	1441	1441	-	0,18	-	-
acetato de <i>E</i> -cinamila	1446	1446	0,47	-	-	-
<i>trans</i> -muurola-3,5-dieno	1453	1453	-	-	-	1,76
$\alpha$ -humuleno	1454	1455-58	0,60	0,44	1,21	2,29
<i>E</i> - $\beta$ -farneseno	1456	1457	0,27	-	-	-

allo-aromadendreno	1460	1463	-	-	-	0,65
germacreno D	1485	1481	-	0,53	0,51	14,69
<i>trans</i> -muuroala-4(14),5-dieno	1493	1493	-	-	-	1,91
$\alpha$ -muuroleno	1500	1499	-	-	-	1,51
biciclogermacreno	1500	1500	3,52	1,0	0,62	-
cupareno+ $\beta$ -bisaboleno*	1505	1505	-	-	-	1,70
$\beta$ -bisaboleno	1505	1509	5,87	-	-	-
$\alpha$ -bulneseno	1509	1509	-	-	0,75	-
Cubebol	1515	1515	-	-	-	1,73
$\delta$ -cadineno	1523	1523	1,44	-	-	-
<i>cis</i> -calameneno	1529	1524	-	-	-	3,46
<i>trans</i> -cadinina-1,4-dieno	1534	1533	-	-	-	1,39
germacreno B	1561	1560	-	-	-	3,67
espatulenol	1578	1579	2,83	0,56	3,02	-
óxido de cariofileno	1583	1582-88	0,70	0,33	2,89	3,0
$\alpha$ -muurolol	1646	1647	-	-	-	0,77
benzoato de benzila	1760	1763	1,29	-	-	-
Monoterpenos			69,71	93,89	74,63	10,94
Sesquiterpenos			17,02	4,61	14,49	70,15
Fenilpropanoides			1,76	-	-	-
Total de compostos identificados			88,49	98,50	89,12	81,09

\* $KI_{lit}$  = índice de Kovats da literatura;  $IK_{calc}$  = índice de Kovats calculado (t): traços do composto - = ausente na espécie.

## ANEXO I

Constituintes químicos do óleo essencial de *Lippia lasiocalycina* Cham. (LL), *L. bromleyana* Moldenke (LB) e *L. insignis* Moldenke (LI) cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal, Feira de Santana, Bahia, 2014 colhidas aos 210 dias após a primeira colheita. CM = Compostos majoritários. NC= Número de compostos identificados. M= Monoterpenos. S= Sesquiterpenos. F= Fenilpropanoides.

Composto	IK <sub>lit</sub>	IK <sub>calc</sub>	LB (%)	LI (%)	LL (%)
$\alpha$ -tujeno	930	928	0,28	t	-
$\alpha$ -pineno	939	935-39	t	t	t
sabineno	975	975-77	t	t	1,33
$\beta$ -pineno	977	978	t	t	-
$\beta$ -mirceno	990	989-95	0,40	5,39	17,58
$\alpha$ -terpineno	1017	1017	-	0,94	-
p-cimeno	1026	1024-29	2,79	5,20	14,40
limoneno	1029	1032-34	27,69	5,01	1,07
1,8-cineol	1031	1035	-	-	t
Z- $\beta$ -ocimeno	1037	1040	-	-	t
E- $\beta$ -ocimeno	1050	1051	-	0,68	t
$\gamma$ -terpineno	1059	1059-63	3,54	7,16	t
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1070	1067	-	t	-
terpinoleno	1088	1087	-	t	-
linalol	1096	1100	2,55	4,17	2,33
<i>trans</i> -p-menta-2,8-dien-1-ol	1122	1120	0,94	-	0,78
crisanthenona	1127	1128	-	-	t
<i>cis</i> -p-menta-2,8-dien-1-ol	1137	1135	0,78	-	-
ipsdienol	1145	1149	-	0,91	t
mircenona	1149	1153	0,26	25,00	31,39
borneol	1169	1167	-	-	t
terpinen-4-ol	1170	1177	-	0,28	-

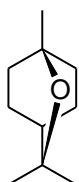


$\alpha$ -terpineol	1188	1193	-	0,58	t
<i>trans</i> -carveol	1216	1218	0,59	-	-
<i>Z</i> -ocimenona	1229	1237	t	4,52	4,80
metil timol éter	1235	1235	t	0,89	-
<i>E</i> -ocimenona	1238	1250	t	12,02	0,77
geraniol	1252	1259	-	-	1,55
geranial	1267	1274	-	-	1,00
timol	1290	1296	0,31	18,16	-
carvacrol	1298	1295	2,57	2,91	-
acetato de <i>trans</i> -carvila	1342	2341	0,87	t	-
piperitenona	1343	1345	2,20	-	-
óxido de piperitenona	1368	1378	33,27	t	-
$\beta$ -elemeno	1390	1393	-	-	0,55
$\beta$ -cariofileno	1419	1419-24	0,81	1,53	2,26
$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno	1434	1437	0,72	-	-
$\alpha$ -guaieno	1439	1442	-	-	2,27
aromadendreno	1441	1441	-	t	-
acetato de <i>E</i> -cinamila	1446	1446	0,47	-	-
$\alpha$ -humuleno	1454	1455-58	0,66	0,45	1,12
<i>E</i> - $\beta$ -farneseno	1456	1457	t	-	-
germacreno D	1485	1481	-	1,01	0,91
biciclogermacreno	1500	1500	2,52	1,10	t
$\beta$ -bisaboleno	1505	1509	6,75	-	-
$\alpha$ -bulneseno	1509	1509	-	-	t
$\delta$ -cadineno	1523	1523	0,92	-	-
espatulenol	1578	1579	1,10	0,52	3,12
óxido de cariofileno	1583	1582-88	0,32	t	7,13
benzoato de benzila	1760	1763	0,86	-	-
Monoterpenos			79,27	93,82	77,00
Sesquiterpenos			12,57	4,61	17,36
Fenilpropanoides			1,33		
Total de compostos identificados			94,17	98,43	94,36

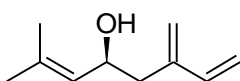
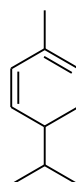
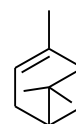
## ANEXO J

Estruturas químicas dos compostos presentes nos óleos essenciais das espécies *Lippia bromleyana* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham., *Lippia insignis* Moldenke e *Lippia thymoides* Mart e Schauer.

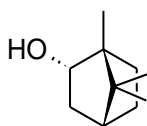
1,8-cineol



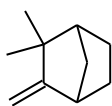
Ipsdienol

 $\alpha$ -felandreno $\alpha$ -pineno

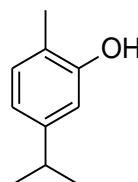
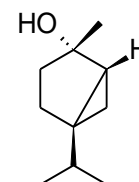
Borneol



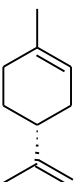
Canfeno



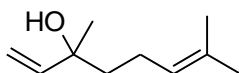
Carvacrol

Hidrato de *cis*-sabineno

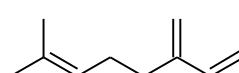
Limoneno



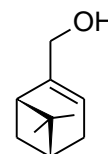
Linalol



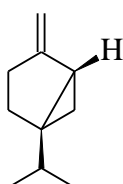
Mirceno



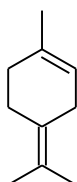
Mirtenol



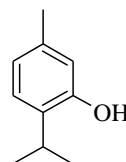
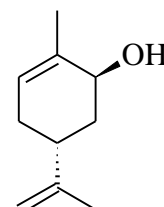
Sabineno



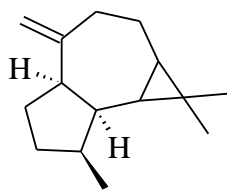
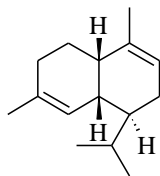
Terpinoleno



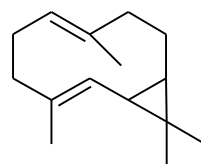
Timol

*Trans* carveol

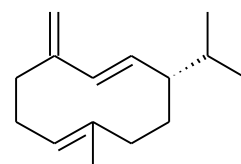
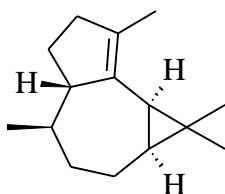
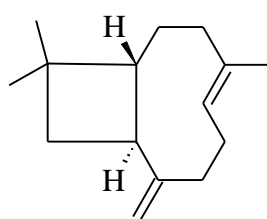
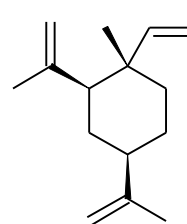
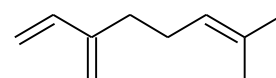
Allo-aromandendreno

 $\alpha$ -muroleno

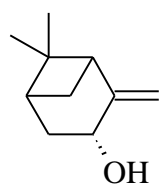
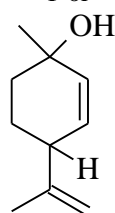
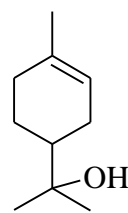
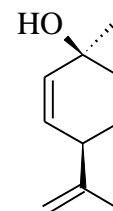
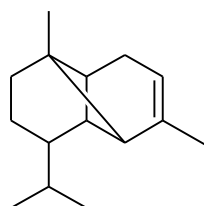
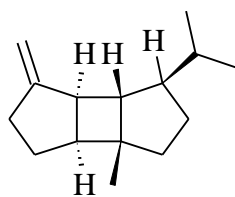
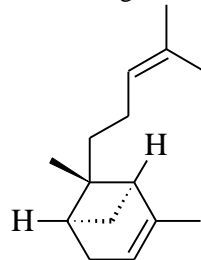
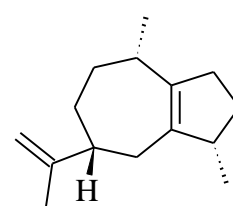
Biciclogermacreno



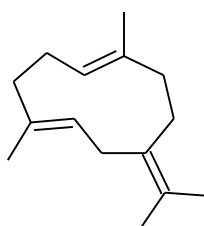
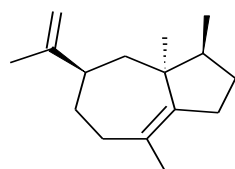
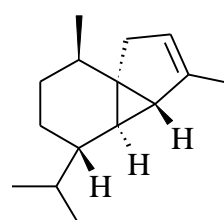
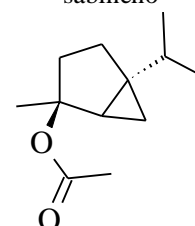
Germacreno-D

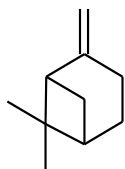
 $\alpha$ -gurjeneno $\beta$ -cariofileno $\beta$ -elemeno $\beta$ -mirceno

Transpinocarveol

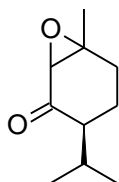
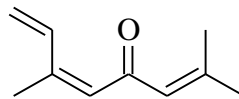
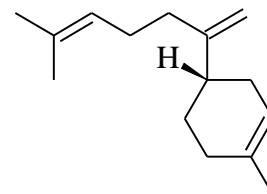
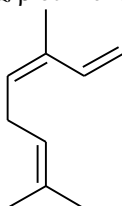
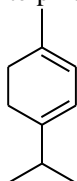
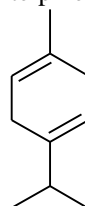
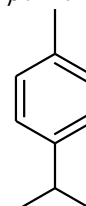
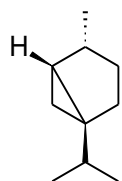
*Trans*-p-menta-2,8-dien-1-ol $\alpha$  terpineol*Cis*-p-menta-2,8-dien-1-ol $\alpha$ -copaeno $\beta$ -bourboneno*Trans*- $\alpha$ -bergamoteno $\alpha$ -guaiene

Germacrene-B

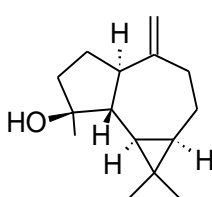
 $\alpha$ -bulseno $\alpha$ -cubebenoHidrato de *trans*-sabineno

$\beta$ -pineno

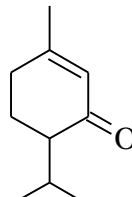
Óxido de piperitona

*Z*-ocimenona $\beta$ -bisaboleno*z*  $\beta$  ocimeno $\alpha$ -terpineno $\gamma$ -terpineno $\rho$ cimeno $\alpha$  tujeno

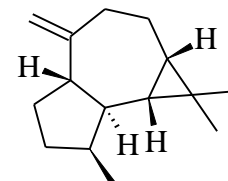
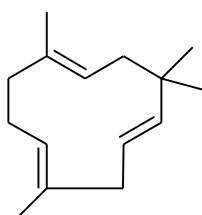
Espatulenol



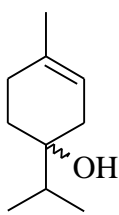
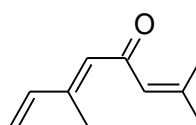
Piperitona



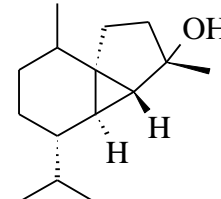
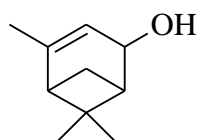
Aromandreno

 $\alpha$  humuleno

Terpinen-4-ol

*E*-ocimenona

Cubeol

*Trans* verbenol

Óxido de cariofileno

