



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



LUMA DOS PASSOS BISPO

PROPAGAÇÃO, CULTIVO E PRODUÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Lippia* (VERBENACEAE)
OCORRENTES NO SEMIÁRIDO BAIANO

Feira de Santana - BA
2015

LUMA DOS PASSOS BISPO

**PROPAGAÇÃO, CULTIVO E PRODUÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Lippia* (VERBENACEAE)
OCORRENTES NO SEMIÁRIDO BAIANO**

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

Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira

Feira de Santana - BA
2015

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

Bispo, Luma dos Passos
B525p Propagação, cultivo e produção de óleo essencial de espécies de *Lippia*
(Verbenaceae) ocorrentes no Semiárido Baiano/ Luma dos Passos Bispo. –
Feira de Santana, 2015.

85 f.: il.

Orientador: Lenaldo Muniz de Oliveira

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Feira de
Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais,
2015.

1. Plantas medicinais e aromáticas. 2. *Lippia* – espécies. 3.
Semiárido Baiano. I. Oliveira, Lenaldo Muniz de, orient. I.
Universidade Estadual de Feira de Santana. II. Título.

CDU: 633.8 (814.22)

BANCA EXAMINADORA

Prof. (a). Dr (a). Franceli da Silva
(Universidade Federal do Recôncavo Baiano – UFRB)

Prof. (a). Dr (a). Claudinéia Regina Pelacani Cruz
(Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS)

Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira
(Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS)
Orientador e Presidente da Banca

*Aos meus pais e irmãs,
dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, pela saúde, perseverança e força concedidas, pois sem Ele seria impossível trilhar essa estrada e chegar até aqui, e ao Divino Espírito Santo que me guia e acompanha em todos os momentos.

Aos meus pais José do E. Bispo e Lucimeire de C. Passos que sempre investiram na minha educação de qualidade, acima de tudo, me mostrando sua importância e prioridade na vida; e pelo amor e confiança que nos une.

As minhas irmãs Luana Passos e Luciana Passos que sempre foram um espelho para mim de humildade, perseverança e superação, e aos cunhados Ideomildo Ferreira e Júnior Almeida pelo apoio.

A minha tia Betânia Bispo, a Cosme Luis “Koka” e a Lázaro Gabriel, minha segunda família, que sempre estiveram presentes.

Ao meu namorado e companheiro Mateus Vieira pelo apoio e carinho.

A Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e ao Programa de Pós Graduação em RGV que me acolheram e deram todo o suporte para mais uma etapa da minha formação profissional e aos professores que contribuíram efetivamente com a construção do conhecimento, indo além da sala de aula muitas vezes, em especial a Prof.^a Dra. Marilza Neves.

Ao meu orientador Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira pela confiança, paciência e orientações dadas ao longo da realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos, em especial Alone Lima, que se mostrou paciente ao me orientar na preparação dos reguladores vegetais.

Aos funcionários do Horto Florestal, em especial aos trabalhadores de campo e ao técnico Uasley, sem eles seria impossível a instalação e as avaliações dos experimentos de campo.

Ao Laboratório de Produtos Naturais (LAPRON), em especial a Edna Peralta e Serly Santiago e a Prof.^a Dra. Angélica Lucchese pela paciência, disponibilidade, ensinamentos e estímulo.

A Alberto Silva, o secretário super eficiente e atencioso, que sempre tinha soluções para meus problemas acadêmicos.

Aos Prof. Drs. Carlos Alberto Ledo e José Raniere, e os colegas de curso Ronaldo Simão, Daniel de Jesus, Tecla dos Santos e Marcelo Araújo pela atenção e imensa ajuda nas análises estatísticas.

Aos meus colegas de curso, pelos estudos, anseios, dúvidas e conhecimentos compartilhados, em especial Maiane Neves, Flávia Pereira e Tamara Tanan.

As minhas amigas Carla Tatiana e Amanda Pricilla que enfrentaram e desbravaram junto comigo uma nova etapa de vida, numa cidade até então desconhecida.

As minhas amigas de longa data Cristiane Ferreira, Inaiara de Sousa, Jailiny Barbosa, Samara Cavalcante e Luana Cunha, e aos meus amigos e ex-companheiros de laboratório da Embrapa Semiárido (Ecoteca) Mara Poline, Tamires Almeida, Raiany Castro e Sr. Pedro José, que mesmo longe, sempre davam aquela palavra de carinho e incentivo.

As pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que esse trabalho fosse realizado e que não foram citadas, sintam-se agradecidas.

RESUMO

O gênero *Lippia* (Verbenaceae) é caracterizado por apresentar espécies com propriedades medicinais e aromáticas, sendo seu potencial econômico voltado para a produção de óleos essenciais com importantes atividades biológicas e farmacológicas. Mesmo com toda diversidade e potencial conhecidos, poucas espécies estão sendo alvo de estudos agrônômicos. Considerando a propagação como o primeiro passo na domesticação de uma espécie e a influência dos fatores externos na produção de óleo essencial, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tipo de estaca e concentrações de auxina na propagação vegetativa das espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, bem como de diferentes tipos de adubação e épocas de colheita na produção, teor e composição química do óleo essencial. Nos testes de propagação foram utilizados dois tipos de estacas (apical e mediana) e cinco concentrações de AIB (0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹). No cultivo foram testadas três formas de adubação (testemunha, esterco bovino e esterco + NPK 10:10:10) e duas épocas de colheita (210 e 360 dias após o plantio). Os óleos essenciais foram extraídos de folhas secas pelo método de hidrodestilação por aparelho de Clevenger e a composição química determinada por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG/DIC) acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM). Foi possível concluir que estacas apicais são as mais indicadas na propagação de *L. insignis* e tanto as estacas apicais quanto medianas para *L. thymoides* e *L. lasiocalycina*; o tratamento com AIB não é necessário na propagação por estaquia dessas espécies; a adubação mineral (NPK) associado a esterco bovino foi o melhor tratamento no crescimento e produção de biomassa das espécies *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, já para *L. insignis* o tratamento testemunha foi o melhor; a poda, seguida da segunda época de cultivo (rebrotas) é recomendável no cultivo das espécies estudadas, visando à produção de óleo essencial; β-mirceno, limoneno e E-ocimenona são os componentes majoritários de *L. insignis*; β-mirceno e E-ocimenona os componentes majoritários de *L. lasiocalycina* e E-cariofileno e óxido de cariofileno os componentes majoritários de *L. thymoides*; a adubação e a época de colheita promovem variações quantitativas na composição química dos óleos essenciais; as espécies *L. insignis* e *L. thymoides* são as mais promissoras na produção de óleo essencial nas condições de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Palavras-chave: *Lippia insignis*. *Lippia lasiocalycina*. *Lippia thymoides*. Adubação. Plantas Medicinais e Aromáticas. Metabolismo secundário.

ABSTRACT

The genus *Lippia* (Verbenaceae) is characterized by having species with medicinal and aromatic properties, its economic potential aims to the production of essential oils with important biological and pharmacological activities. Even with all known diversity and potential, few species are the target of agronomic studies. Considering the propagation as the first step in the domestication of a species and the influence of external factors on essential oil production, this study aimed to evaluate the effect of cutting type and auxin concentrations in the vegetative propagation of the species *L. insignis*, *L. lasiocalycina* and *L. thymoides*, as well as different types of fertilization and harvest season in production, and content and chemical composition of the essential oil. In propagation tests two types of cuttings were used (apical and middle) and five IBA concentrations (0, 250, 500, 750 and 1000 mg L⁻¹). In cultivation three forms of fertilization were tested (control, manure and manure + NPK 10:10:10) and two harvest seasons (210 and 360 days after planting). The essential oils are extracted from dry leaves by the hydrodistillation method by Clevenger apparatus, and chemical composition determined by gas chromatography with flame ionization detector (GC / FID) coupled to mass spectrometer (GC / MS). It was concluded that apical cuttings are the most suitable for the propagation of *L. insignis* and both apical and middle cuttings for *L. thymoides* and *L. lasiocalycina*; treatment with IBA is not necessary in the propagation by cuttings of these species; chemical fertilizers (NPK) associated with cattle manure was the best treatment in growth and biomass production of the species *L. lasiocalycina* and *L. thymoides*, while for *L. insignis* to the control treatment was the best; pruning, followed by the second growing season (regrowth) is recommended in the cultivation of the studied species, aiming at the production of essential oil; β -myrcene, limonene and E-ocimene are the major components of *L. insignis*; β -myrcene and E-ocimene the major components of *L. lasiocalycina* and E-caryophyllene and caryophyllene oxide the major components of *L. thymoides*; fertilization and harvest season promote quantitative variations in the chemical composition of essential oils; the species *L. insignis* and *L. thymoides* are the most promising for essential oil production in the conditions of Feira de Santana, Bahia, Brazil.

Keywords: *Lippia insignis*. *Lippia lasiocalycina*. *Lippia thymoides*. Fertilization. Medicinal and Aromatic Plants. Secondary metabolism.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 Potencial das espécies medicinais do Semiárido brasileiro	1
1.2 O gênero <i>Lippia</i>	2
1.3 Metabolismo secundário e óleos essenciais	10
1.4 Domesticação e cultivo de plantas medicinais nativas	12
Referências	16
CAPÍTULO I - Influência do tipo de estaca e do ácido inbolbutírico na propagação vegetativa de três espécies de <i>Lippia</i> (Verbenaceae)	21
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO II - Cultivo de espécies de <i>Lippia</i> ocorrentes no Semiárido baiano para a produção de óleos essenciais	36
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
CONCLUSÕES GERAIS	62
APÊNDICES	63
ANEXOS	69

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Percentual de sobrevivência (SOB) e percentual de enraizamento (ENR), número médio de brotos por estaca (NB), número de folhas por broto (NF), comprimento das brotações (CB) e da maior raiz (CR), massa seca das brotações (MSB) e de raízes (MSR) de mudas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer obtidas a partir de estacas apicais e medianas. Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.....28

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Altura (ALT), diâmetro do caule (DC), massa fresca e seca das folhas + inflorescências (MFFI/MSFI), dos caules (MFC/MSC), área foliar específica (AFE), razão peso foliar (RPF) e rendimento de óleo essencial (RO) de plantas cultivadas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.....46

Tabela 2 - Altura (ALT), diâmetro do caule (DC), massa fresca e seca das folhas + inflorescências (MFFI/MSFI), massa seca dos caules (MSC), área foliar específica (AFE), razão peso foliar (RPF) e rendimento de óleo essencial (RO) de plantas cultivadas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer submetidas a duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.....47

Tabela 3 - Volume da copa (VLC), massa fresca do caule (MFC) e teor de óleo essencial (TO) de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer submetidas a duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.....48

Tabela 4 - Diâmetro do caule (DC), massa fresca e seca das folhas + inflorescências (MFFI/MSFI), dos caules (MFC/MSC) e rendimento de óleo essencial (RO) de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer cultivadas sob adubação orgânica e mineral. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.....50

Tabela 5 - Porcentagem de constituintes encontrados no óleo essencial de folhas de *Lippia insignis* Moldenke cultivadas e submetidas a dois tipos de adubação e duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.....52

Tabela 6 - Porcentagem de constituintes encontrados no óleo essencial de folhas de *Lippia lasiocalycina* Cham. cultivadas e submetidas a dois tipos de adubação e duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.....53

Tabela 7 - Porcentagem de constituintes encontrados no óleo essencial de folhas e inflorescências de *Lippia thymoides* Martius & Schauer cultivadas e submetidas a dois tipos de adubação e duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.....54

Tabela 8 - Porcentagem relativa média dos componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer em função de duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, BA, 2015.....56

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. Estruturas moleculares de limoneno (1), β -cariofileno (2), ρ -cimeno (3), cânfora (4), linalol (5), α -pineno(6) e timol (7). Fonte: Pascual et al. (2001). Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.....4

Figura 2. A - *Lippia insignis* Moldenke cultivada; B – Folhas; C - Botões florais; D – Inflorescência; E – Flor; F - Disposição das folhas e inflorescências nos ramos. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2015.....5

Figura 3. A - *Lippia thymoides* Mart. & Schauer cultivada; B – Folhas; C - Botões florais; D – Inflorescência; E – Flor; F - Disposição das folhas e inflorescências nos ramos. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2015.....7

Figura 4. A - *Lippia lasiocalycina* Cham. cultivada; B – Folhas; C - Botões florais; D – Inflorescências; E – Flor; F - Disposição das folhas e inflorescências nos ramos. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2015.....8

CAPÍTULO I

Figura 1. A – Coleção de Plantas Medicinais; B – estacas com 10 cm; C – estacas com as bases imersas em AIB e água; D – estacas cultivadas em bandejas de poliestireno; E – estufa com cobertura plástica e nebulização controlada; F – mudas após 60 dias de cultivo; G – comprimento dos brotos e da maior raiz; H – amostras em sacos de papel. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2013.....26

Figura 2. Massa seca dos brotos (A), massa seca das raízes (B) e comprimento da maior raiz das estacas apicais e medianas (C) de *Lippia insignis* Moldenke (AIB). Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.....29

Figura 3. Percentual de sobrevivência (A), número de brotos por estaca (B), número de folhas por broto (C), comprimento dos brotos (D), comprimento da maior raiz (E), massa seca dos brotos (F) e massa seca da raiz (G) de mudas de *Lippia lasiocalycina* Cham. obtidas a partir de estacas submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.....30

Figura 4. Número de brotos (A), comprimento dos brotos (B), comprimento da maior raiz (C) massa seca das raízes (D) e massa seca das brotações (E) de mudas de *Lippia thymoides* Martius & Schauer obtidas a partir de estacas submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.....32

CAPÍTULO II

Figura 1. A - Propagação vegetativa das espécies em bandejas de poliestireno, B - Mudas em copos plásticos, C - Mudas com 90 dias utilizadas para o plantio, D - Área com covas prontas para o plantio, E - Adubação de plantio com esterco, F - Adubação mineral com NPK (10-10-10), G - Área do cultivo com 210 dias, H - Área do cultivo com 150 dias após primeira colheita (rebrotar), I – Planta cortado a 15 cm do solo em início de rebrotar. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2014.....42

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Potencial das espécies medicinais do Semiárido brasileiro

O Brasil é detentor da maior biodiversidade do planeta, com cerca de 55.000 espécies de plantas catalogadas, 22% de todas as espécies vegetais conhecidas, e possui um patrimônio genético potencialmente capaz de render-lhe elevados benefícios econômicos. No entanto, apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais avaliadas em suas propriedades medicinais (GARCIA et al., 1996; LÓPEZ, 2006; SIMÕES et al., 2007).

A região Nordeste do Brasil se destaca por abrigar em seu ecossistema, com predominância de Caatinga, grande biodiversidade com inúmeras espécies endêmicas e vasto potencial inexplorado para bioprospecção. A Caatinga corresponde a aproximadamente 70% da região com clima semiárido do Nordeste, onde seus inúmeros potenciais podem ser divididos pelo tipo de produto fornecido: óleos fixos, ceras, látex, fibras, alimentos, óleos essenciais e madeiras (SAMPAIO et al., 2005).

Segundo o Ministério da Integração o Semiárido brasileiro abrange uma área de 969.589,4 km², caracterizado por temperaturas médias anuais de 26 a 28 °C, insolação superior a 3.000 horas/ano, umidade relativa em torno de 65% e precipitações pluviométricas escassas e irregulares, com média anual abaixo de 800 mm (SAMPAIO et al., 2005; BRASIL, 2007). As espécies vegetais dessa região desenvolveram mecanismos diferenciados de adaptação frente às condições ambientais extremas dos habitats semiáridos, como eficiente controle estomático e alterações no crescimento e expansão foliar, podendo gerar alterações na produção de metabólitos secundários (MORAIS, 2009; GIULIETE et al., 2004).

As pesquisas desenvolvidas com plantas medicinais nesse bioma, embora ainda muito insipientes, têm levado a identificação de importantes compostos químicos, os chamados princípios ativos, produtos de valor econômico existentes em tecidos e órgãos das plantas medicinais e aromáticas que podem servir como fitofármacos ou conduzir ao desenvolvimento de novos fármacos semissintéticos ou sintéticos (CALIXTO, 2003; BRASIL, 2006a).

As plantas medicinais, legado dos povos indígenas, africanos e dos diversos povos da colonização europeia, ainda representam uma opção terapêutica de grande valor atualmente na recuperação da saúde (LORENZI; MATOS, 2008) e, mesmo a medicina moderna estando

bem desenvolvida na maior parte do mundo, de acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde) 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza a medicina tradicional para cuidados primários de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (BRASIL, 2006b).

Contudo, apesar do longo tempo que se conhece o potencial curativo das plantas nativas, apenas recentemente estas se tornaram objeto de estudo científico, tendo como alvo as suas inúmeras propriedades medicinais (NOVAIS et al., 2003). O Brasil é o maior exemplo disso, mesmo sendo considerado o país com maior diversidade vegetal do mundo, apenas no ano de 2005 conseguiu lançar o seu primeiro fitoterápico inteiramente desenvolvido no país, obtido a partir do óleo essencial da planta *Varronia curassavica* Jacq. (GONELI et al., 2014).

Na maioria das regiões brasileiras, com ênfase no Nordeste, as plantas medicinais nativas e as preparações caseiras são comumente comercializadas por raizeiros, vendedores de feiras livres e em mercados populares (SAMPAIO et al., 2005). Esse tipo de atividade tem assumido fundamental importância no tratamento de patologias que afetam as populações de baixa renda, tendo em vista a diversidade e disponibilidade da flora, a deficiência da assistência médica e a influência da transmissão oral (MATOS, 2007), que parte do conhecimento empírico das populações locais.

Entretanto, a utilização dessa biodiversidade tem sido realizada, na maioria das vezes, de forma predatória e extrativista, prejudicando a estrutura das comunidades vegetais, o que tem acarretado redução da variabilidade genética das populações e, conseqüentemente, diminuição da diversidade biológica. Dessa forma, o estudo e a conservação da vegetação da Caatinga constituem um dos maiores desafios do conhecimento científico brasileiro, por diversos motivos, dentre os quais o fato deste se restringir apenas ao território nacional e por ser o bioma menos estudado e protegido, com apenas 2% do seu território preservado na forma de reservas e unidades de conservação (LEAL et al., 2003).

1.2 O gênero *Lippia*

A família Verbenaceae é composta de plantas presentes em praticamente todos os ecossistemas terrestres, apresentando 36 gêneros e 1000 espécies distribuídas de forma pantropical, mas principalmente neotropical. No Brasil ocorrem 16 gêneros e cerca de 250 espécies (SOUZA; LORENZI, 2012), sendo 50 delas apontadas como raras (SALIMENA et al., 2009).

O gênero *Lippia* é um dos dois maiores da família Verbenaceae, composto por aproximadamente 200 espécies distribuídas principalmente na América do Sul e Central e África tropical. Aproximadamente 75% das espécies descritas estão no Brasil, o que torna o país um centro de diversidade do gênero. Os principais centros de diversidade específica estão localizados na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais, e na Chapada Diamantina, na Bahia (SALIMENA, 2000; VICCINI et al., 2006). Seus representantes são caracterizados como arbustos ou subarbustos, geralmente ramosos, ou ervas perenes, de ramos frágeis, ascendentes, geralmente aromáticos com glândulas nas folhas. A presença de tricomas secretores nas folhas (presentes na epiderme foliar e nos parênquimas paliçádico e lacunoso) caracteriza a produção de óleos essenciais, principais responsáveis pelas propriedades medicinais atribuídas as espécies desse gênero (SALIMENA, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013). Essa representatividade e expressiva utilização econômica como condimento ou medicinal justifica a grande importância desse gênero para a flora medicinal do semiárido (SALIMENA, 2000).

As espécies desse gênero são popularmente conhecidas como alecrim, alecrim do mato, alecrim do campo, alecrim de tabuleiro e cidreira, e têm sido descritas pelo seu uso na medicina tradicional e efeitos farmacológicos. Segundo Pascual et al. (2001), ao redor do mundo, tradicionalmente, espécies de *Lippia* são empregadas no tratamento de distúrbios respiratórios, gastrointestinais e no tratamento de infecções em geral, na maioria dos casos sendo utilizadas as folhas ou partes aéreas e flores, preparadas na forma de infusão ou decocto e administradas por via oral. Porém, a maioria dos estudos biológicos está concentrada nas análises dos seus óleos essenciais e extratos vegetais e suas atividades: antimicrobiana, antimalárica, espasmolítica, sedativa, hipotensiva e antiinflamatória (PASCUAL et al., 2001).

Embora o gênero *Lippia* esteja distribuído por todo o território brasileiro, os estudos relatados, sob o ponto de vista químico e agrônômico, concentram-se nas espécies amplamente usadas no Nordeste do país, destacando-se *L. alba* (Mill.) N. E. Brown, *L. sidoides* Cham. e *L. grata* Schauer (LEAL et al., 2003; FIGUEIREDO et al., 2009a; SILVA et al., 2010; TAVARES et al., 2012). Nos estudos de Silva et al., (2010), *L. sidoides* apresentou atividade antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, com formação de halos de inibição do crescimento bacteriano variando de 9 a 27 mm. Já *L. grata* apresentou elevada atividade antinociceptiva e anti-inflamatória dos seus óleos essenciais, podendo estar relacionada a presença de timol como componente majoritário no óleo essencial (MENDES et al., 2010). Em outro estudo, os óleos essenciais de *L. alba* causou inibição moderada no crescimento de

Candida albicans (CIM = 0,6 mg/L) e a análise química dos componentes do óleo evidenciou o linalol (76,30%) como componente majoritário (DUARTE et al., 2005).

As atividades biológicas descritas para o gênero *Lippia* têm sido atribuídas aos terpenoides, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, presentes nos óleos essenciais. Os componentes dos óleos essenciais dessas espécies revelam um perfil químico semelhante, com a presença frequente de limoneno (1), β -cariofileno (2), p -cimeno (3), cânfora (4), linalol (5), α -pineno (6) e timol (7) (Figura 1).

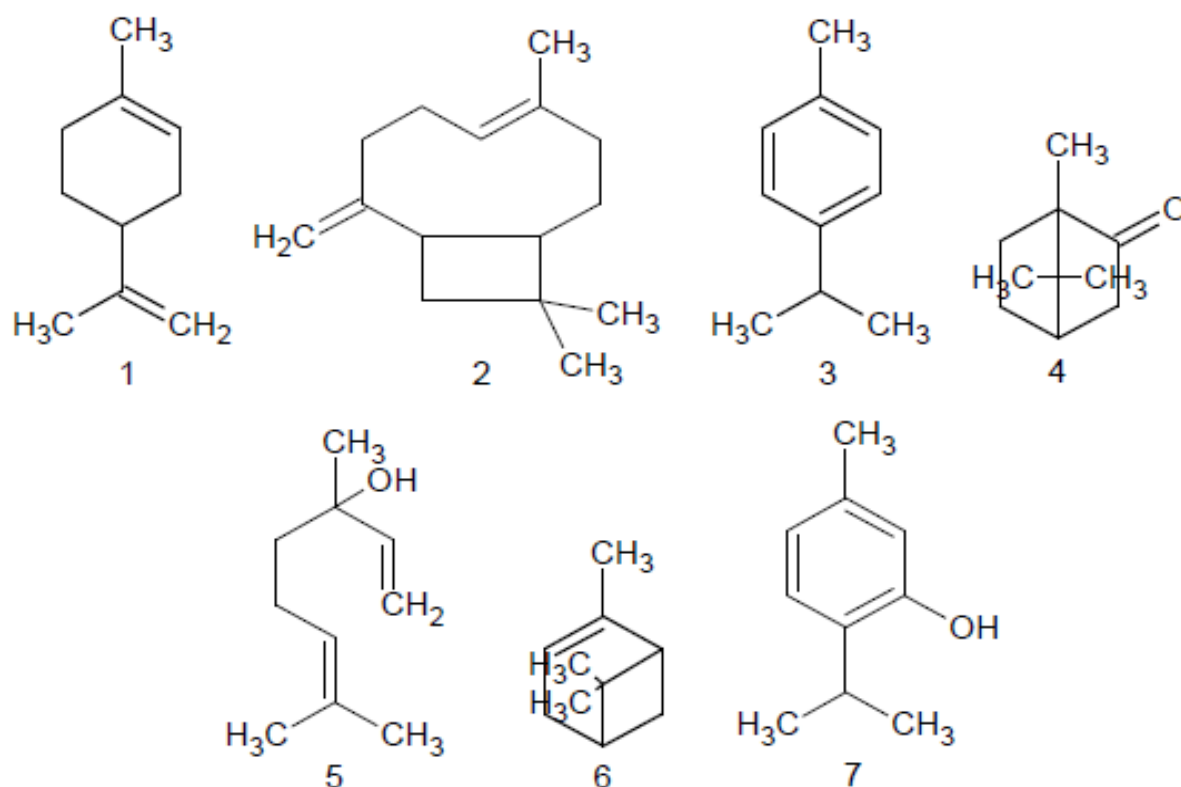
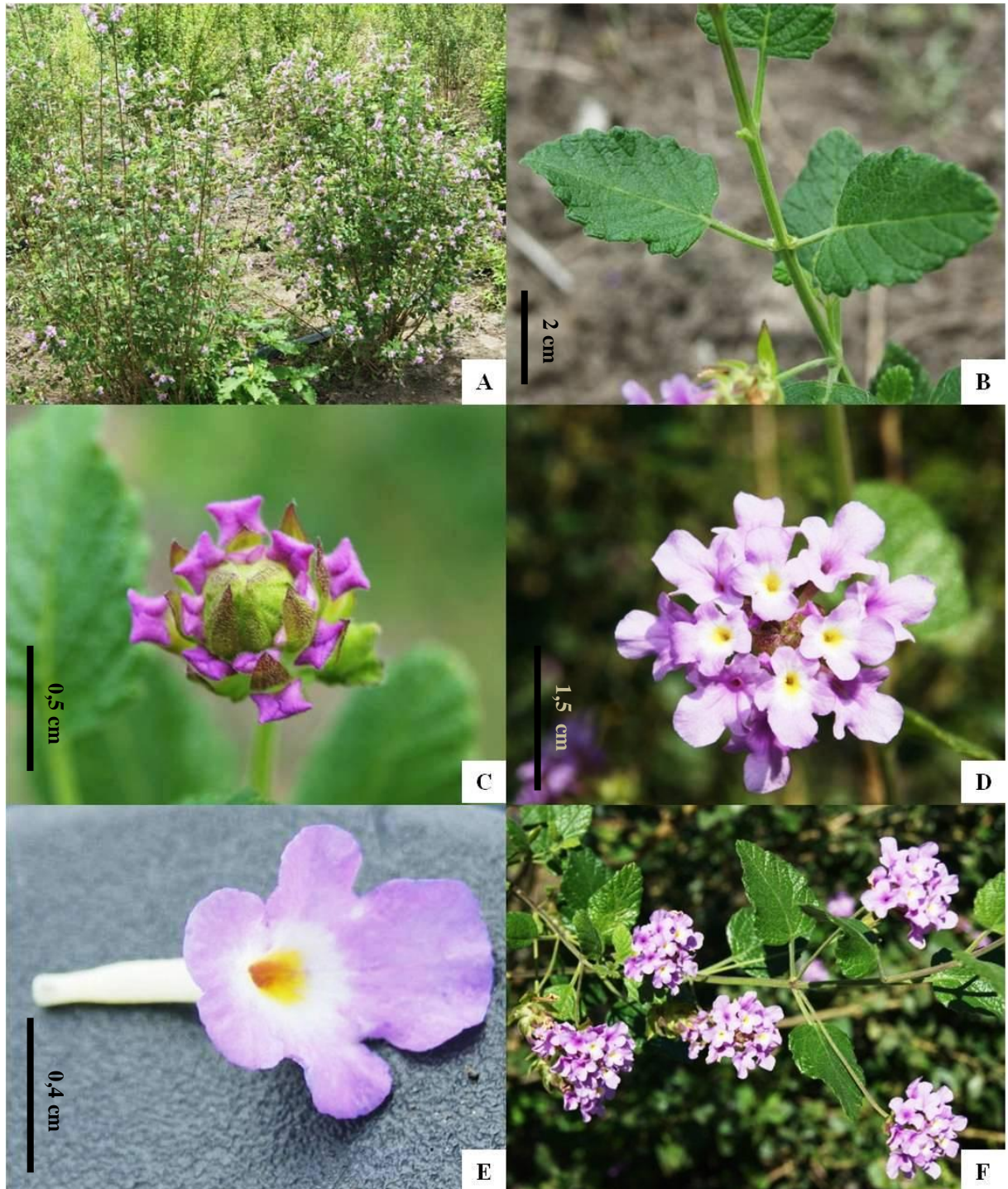


Figura 1. Estruturas moleculares de limoneno (1), β -cariofileno (2), p -cimeno (3), cânfora (4), linalol (5), α -pineno(6) e timol (7). Fonte: Pascual et al. (2001). Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

Contudo, inúmeras espécies do gênero ao menos passaram por estudos de caracterização e/ou domesticação, a exemplo de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia thymoides* Mart. & Schauer e *Lippia lasiocalycina* Cham., alvo de estudo nesse trabalho.

Lippia insignis Moldenke (Figura 2) é nativa do Brasil e endêmica da Bahia, encontrada em domínios fitogeográficos de Caatinga. É um arbusto com até 2 m de altura, ramos eretos e aromáticos. Apresenta folhas opostas, pecíolo com cerca de 1,5 cm de comprimento, piloso, lâmina com cerca de 3,5×3 cm, coriácea, ovada a deltóide, verde-escuras adaxialmente, base truncada, ápice arredondado, margem crenada, venação

craspedródoma, face adaxial incana e abaxial pilosa. Inflorescências axilares, racemosas, brácteas com cerca de 0,6 cm de comprimento, ovadas, verdes; pedicelo com cerca de 3 cm, corola labiada, lilás a magenta (SALIMENA et al., 2009; OLIVEIRA, 2014).



Fotos: Luma Bispo

Figura 2. A - *Lippia insignis* Moldenke cultivada; B – Folhas; C - Botões florais; D – Inflorescência; E – Flor; F - Disposição das folhas e inflorescências nos ramos. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2015.

Devido à escassez de dados sobre a espécie, a mesma já se encontra na lista de espécies da flora brasileira com deficiência de dados (BRASIL, 2008) e na lista de espécies com alto risco de extinção (SALIMENA et al., 2013). Na literatura, até os dias atuais, não foram reportados dados sobre o uso na medicina popular.

Lippia thymoides Mart. & Schauer (Figura 3) é nativa do Brasil e endêmica dos estados da Bahia e Minas Gerais, encontrada em domínios fitogeográficos de Caatinga e Cerrado. Tem como sinônimos os heterotípicos *L. micromera* var. *tonsilis* Moldenke, *L. thymoides* var. *mucronulata* Moldenke e *L. thymoides* var. *tonsilis* Moldenke (SALIMENA, MULGURA, 2015). É um arbusto com 0,5–1,5 m de altura; ramos glabros, quadrangulares e aromáticos. Folhas verticiladas, pecioladas; pecíolo com 0,5-0,8 mm de comprimento, glabro, lâmina com cerca de 0,7-0,9 cm de comprimento, discolor, membranácea, oblanceolada a espatulada, base atenuada, ápice arredondado, margem inteira, venação hifódroma. Inflorescência com até 6 mm de comprimento, cimeira helicoidal, axilar, pedunculada; pedúnculo com cerca de 0,5 mm de comprimento, brácteas com cerca de 0,3×0,2 cm de comprimento, foliáceas, pubescentes; flores pediceladas; cálice cilíndrico, lacínios lanceolados, pubescentes externamente, glabros internamente; corola salverforme, branca a amarelo-alaranjado, lobos arredondados, pubescentes externamente e glabros internamente. (MELO et al., 2010). *L. thymoides* é facilmente distinguível das demais espécies congêneres pelas folhas verticiladas de lâmina oblanceolada com venação hifódroma e flores de cálice cilíndrico (MELO et al., 2010). Popularmente conhecida como alecrim do mato ou alecrim do campo, as folhas e ramos desta espécie são utilizadas como banho para o tratamento de infecções na pele e como antipiréticas no tratamento da bronquite e reumatismo, com ação comprovada na literatura (FUNCH et al., 2004; SILVA, 2012).

A espécie *Lippia lasiocalycina* Cham. (Figura 4) é nativa do Brasil e ocorre nos estados da Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraná e São Paulo, em domínios fitogeográficos de Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Floresta Amazônica, porém, não é endêmica do país, apresentando registros também na Bolívia. Tem como sinônimos os heterotípicos *Lippia lasiocalycina* var. *sainthilairei* Moldenke, *L. phryxocalyx* Briq, *Lippia bromleyana* var. *hatschbachii* Moldenke, *Lippia elliptica* var. *silvicola* Moldenke e *Lippia violacea* Moldenke (SALIMENA, MULGURA, 2015). É um arbusto com até 2 m de altura com ramos eretos e aromáticos. Folhas opostas, pecíolo com cerca de 1,6 cm de comprimento, piloso, lâmina com cerca de 5×3,5 cm, membranácea, ovada, base truncada, ápice atenuado, margem crenada, venação craspedródoma, face adaxial pilosa e abaxial pubescente. Inflorescências axilares, racemosas, brácteas com cerca de 0,5 cm de comprimento,

lanceoladas, verde-claras; corola labiada, lilás (OLIVEIRA, 2014). Na literatura não foram encontrados dados sobre o uso dessa espécie na medicina popular.



Figura 3. A - *Lippia thymoides* Mart. & Schauer cultivada; B – Folhas; C - Botões florais; D – Inflorescência; E – Flor; F - Disposição das folhas e inflorescências nos ramos. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2015.

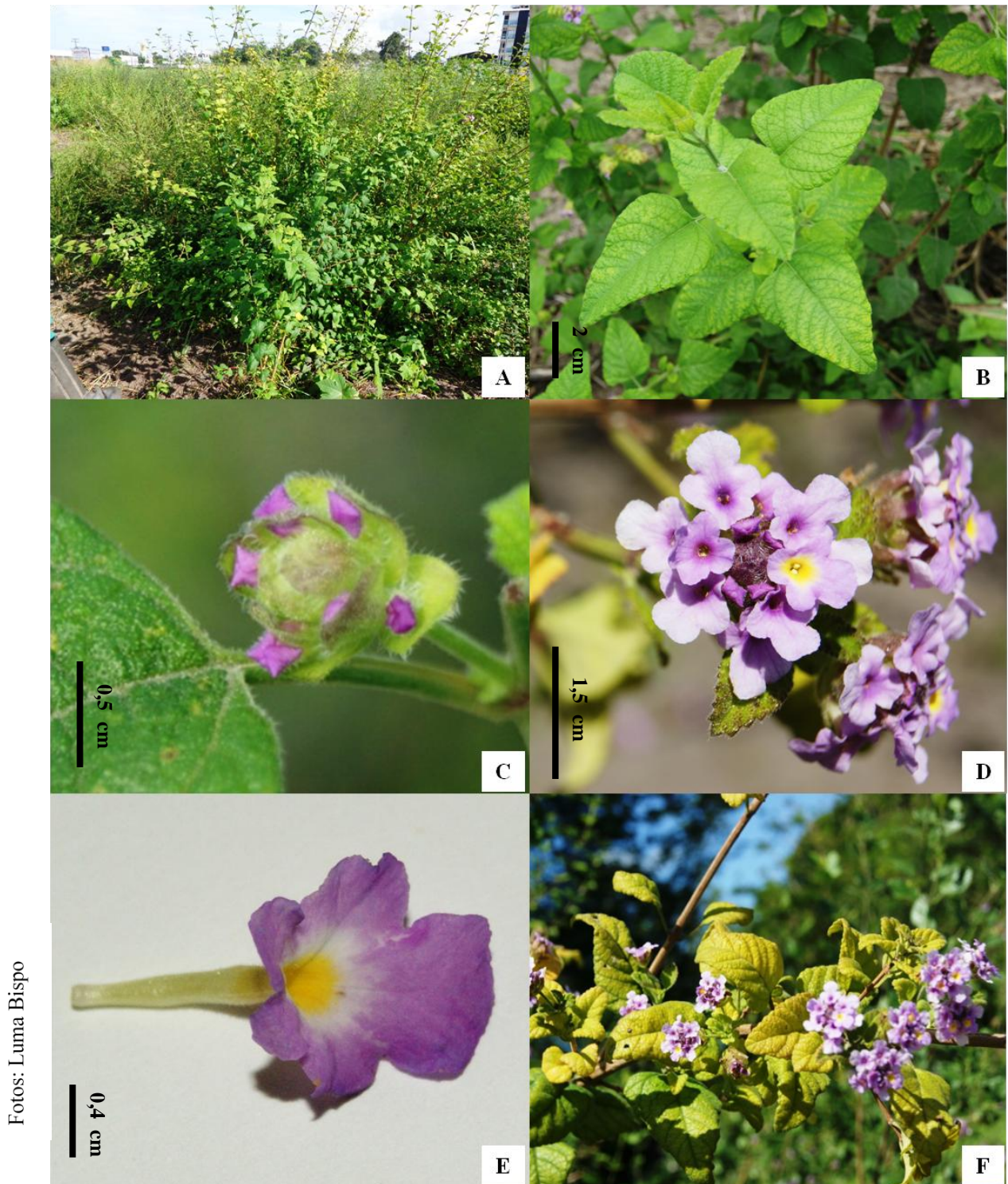


Figura 4. A - *Lippia lasiocalycina* Cham. cultivada; B – Folhas; C - Botões florais; D – Inflorescências; E – Flor; F - Disposição das folhas e inflorescências nos ramos. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2015.

Na literatura são escassos os trabalhos relacionados ao rendimento, composição e atividade biológica dos óleos essenciais das espécies em estudo, sendo que atualmente para *L. lasiocalycina* e *L. insignis* os estudos de Oliveira (2014) e Castro (2005) representam as

únicas literaturas. Em trabalhos realizados pela equipe do Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON) da Universidade Estadual de Feira de Santana, avaliou-se a composição química e atividade antimicrobiana de espécies de *Lippia* coletadas no semiárido baiano: *L. insignis*, *L. thymoides*, *L. morii* Moldenke, *L. microphylla* Cham., *L. alnifolia* Schauer, *L. hermannioides* Cham. e *L. subracemosa* Mansf (CASTRO, 2005; LUCCHESI, et al., 2006; PINTO, 2008; SILVA, 2012). Os óleos e extratos das espécies estudadas apresentaram elevada atividade contra os microorganismos gram positivos (*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus*) e gram negativos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*) e contra *Candida albicans*.

Nestes trabalhos a análise fitoquímica detectou para *L. insignis* um teor de óleo essencial de 2,85% em suas folhas, tendo como constituinte majoritário o limoneno. *L. thymoides* apresentou teor de óleo essencial de 1,98%, sendo identificado como composto majoritário o limoneno ou 1,8 cineol (CASTRO, 2005). Já nos trabalhos realizados por Silva (2012) *L. thymoides* apresentou rendimento de 2,14 a 2,93% e o sesquiterpeno β -cariofileno como constituinte majoritário, com percentual variando entre 17 e 26%, sendo a sazonalidade o fator que pode justificar essa variação. Pinto (2008) detectou nos extratos desta espécie, por meio de triagem fitoquímica, a presença de terpenos, esteroides, cumarinas, flavonoides, ácidos fenólicos e saponinas.

Pinto et al. (2013) avaliando a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos metanólicos das espécies *L. alnifolia*, *L. origanoides* e *L. thymoides* constataram alto potencial antimicrobiano das três espécies avaliadas contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*, onde cada espécie foi ativa contra pelo menos dois microorganismos, confirmando sua utilização na medicina popular. As folhas de *L. origanoides* Kunth foram as que exibiram a maior ação antimicrobiana, sendo uma alternativa promissora no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas.

Diante do potencial demonstrado pelos óleos essenciais e extratos vegetais das espécies de *Lippia* estudos no âmbito agrônomo se tornam necessários e urgentes, com o intuito de desenvolver tecnologias de cultivo associado a um manejo sustentável que possam unir a exploração econômica e a conservação dos recursos genéticos dessas espécies, visando livrá-las da constante pressão do extrativismo desordenado, bem como a geração de renda para os agricultores.

1.3 Metabolismo secundário e óleos essenciais

Nas células vegetais o metabolismo é dividido em primário e secundário. O metabolismo primário é reconhecido por gerar moléculas essenciais à realização das funções vitais nos vegetais, como fotossíntese, respiração, síntese de proteínas e transporte de solutos. Assim, os compostos gerados nesse metabolismo possuem distribuição universal em todo reino vegetal, diferentemente do metabolismo secundário que é restrito a uma espécie ou a um grupo específico desse reino e, geralmente, seus compostos apresentam estrutura complexa e de baixo peso molecular, não tendo ainda registros da sua função direta no crescimento e desenvolvimento dos vegetais (TAIZ, ZEIGER 2013).

Durante muito tempo os metabólitos secundários foram considerados como produtos finais do metabolismo, sem função aparente, ou mesmo resíduos. Atualmente, são tidos como compostos elaborados a partir de metabólitos primários e divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Apresentam inúmeras funções ecológicas nos vegetais, como a proteção das plantas contra herbivoria e infecções por microrganismos patogênicos, contra estresses ambientais e agindo como atrativos para animais polinizadores e dispersores de sementes (CASTRO et al., 2004; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências são produtos do metabolismo secundários das plantas, constituídos basicamente de compostos da classe dos terpenos, com predomínio dos monoterpenos e sesquiterpenos (SIMÕES et al., 2007). Os terpenos são sintetizados principalmente pela rota do ácido mevalônico, onde três moléculas de Acetil-Coa sofrem inúmeras reações, dando origem a uma molécula de ácido mevalônico. Esta molécula sofre reações que produzem dois isômeros de cinco carbonos, o isopentenil difosfato (IPP) e o dimetilalil difosfato (DMAPP). Em seguida o IPP e seu isômero DMAPP reagem entre si dando origem aos diferentes grupos de terpenos, entre eles mono e sesquiterpenos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Caracterizam-se por serem líquidos voláteis de aparência oleosa à temperatura ambiente, geralmente com aroma agradável e intenso, podendo ser incolores ou ligeiramente amarelados (SIMÕES et al., 2007). Normalmente são elaborados nas folhas e armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular, em estruturas secretoras como células parenquimáticas diferenciadas, canais, tricomas glandulares e cavidades (SIMÕES et al., 2007; TAIZ, ZEIGER, 2013).

A extração dos óleos essenciais pode ser feita por diversos métodos, tais como a hidrodestilação, a destilação a vapor, extração por solventes orgânicos, a extração por fluido supercrítico, a enfloração ou enfleurage, a prensagem a frio, dentre outros. Entretanto, o método mais frequentemente utilizado para a obtenção de óleos essenciais em escala laboratorial é a hidrodestilação, com auxílio de aparelho de Clevenger (SILVEIRA et al., 2012).

Os óleos essenciais apresentam diferentes propriedades biológicas, como a ação antibacteriana (DUARTE et al., 2005; SILVA et al., 2010), analgésica e antiinflamatória (MENDES et al., 2010), dentre outras. Também são matéria prima com grande aplicação em indústrias de perfumaria, cosmética, produtos de limpeza e alimentos e como coadjuvantes na produção de medicamentos. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais, e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol e mentol (CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993; BIZZO et al., 2009).

O exclusivo mercado dos óleos essenciais movimenta cerca de US\$ 1,8 bilhão anuais, e o Brasil participa com menos de 0,1% dos óleos oriundos de sua biodiversidade. O país produz e exporta por ordem de importância: óleos de laranja, limão, eucalipto, pau-rosa, lima e capim limão (FERRAZ et al., 2009), sendo o limoneno o principal produto obtido do beneficiamento de óleo essencial e suas principais aplicações são para produtos de limpeza e como solventes (BIZZO et al., 2009). Se posicionando como um dos maiores exportadores de óleos essenciais do mundo, com aproximadamente US\$ 147 milhões, atrás apenas dos EUA e França, tendo ultrapassado o Reino Unido em 2007. Entretanto, desse volume, 91% é representado por óleo essencial de cítricos, principalmente laranja (80%), subprodutos da indústria de sucos e de baixo preço (US\$ 2,18/kg) (FERRAZ et al., 2009).

De maneira geral, os produtos exportados pelo país são caracterizados por grande volume, baixo preço de mercado e pouco valor agregado, refletindo a baixa adição de tecnologia. Enquanto o valor unitário médio dos produtos comercializados pelo Brasil, em 2005, era de US\$ 1,34/kg, a França exportava para o Brasil óleos ao preço de US\$ 33,04/kg (FERRAZ et al., 2009).

Os óleos essenciais são produtos altamente valorizados no mercado internacional. O preço do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), por exemplo, pode atingir valor próximo de até US\$ 110,00/L. Esse preço passa a ser um motivo estimulante para produtores rurais que queiram diversificar a gama de plantas cultivadas em suas propriedades (BLANK et al., 2004). Pela utilização crescente nas indústrias de alimentos, cosméticos e produtos

farmacêuticos, o cultivo de espécies aromáticas e a obtenção de óleos essenciais se constituem importantes atividades econômicas. Desse modo, a disponibilidade da tecnologia para extração poderia constituir numa fonte adicional de renda para as populações locais (OLIVEIRA et al., 2007).

No passado, o Brasil também teve destaque como exportador de óleo essencial de pau-rosa, sassafrás e menta, passando a condição de importador nesses dois últimos casos. Dessa forma, o país importa, a preços bastante elevados, uma gama de óleos utilizados nos diversos setores industriais, entre eles os óleos essenciais de folhas (ex. menta, citronela, capim-limão e eucalipto), flores (ex. jasmim, alfazema ou lavanda) e madeira (ex. cabreúva e cedro) (BIZZO et al., 2009). Isso é resultado de problemas crônicos, como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor, que levaram ao quadro observado (BIZZO et al., 2009). Além disso, falta aos produtos brasileiros agregar tecnologia e valorizar a biodiversidade que tem, desenvolvendo técnicas de explorá-la de forma sustentável e socialmente justa (FERRAZ et al., 2009).

Com isso estudos sobre técnicas de cultivos e extração são necessários, a fim de se obter uma regularidade na produção desses óleos essenciais, de modo a manter um padrão de quantidade e qualidade.

1.4 Domesticação e cultivo de plantas medicinais nativas

A domesticação é um processo de seleção conduzido pelo homem que visa adaptar plantas e animais às necessidades humanas (GEPTS, 2002). A prática de cultivar plantas é uma atividade essencialmente dependente de condições edafoclimáticas, socio-econômicas e nível de conhecimentos técnicos (PATERNIANE, 2001).

No Brasil, quase todas as plantas medicinais não são domesticadas e muitas se encontram em estado totalmente silvestre, crescendo espontaneamente. As informações técnicas ainda são insuficientes, de modo a garantir qualidade, eficácia e segurança de uso das mesmas (LÓPEZ, 2006). Além de que, das plantas comercializadas atualmente, grande parte é obtida a partir do extrativismo, assim como muitos dos insumos farmacêuticos que abastecem as indústrias brasileiras. Esse procedimento resulta em inúmeros problemas: apresenta espécies com grande divergência genética, o que leva a uma intensa variação nos constituintes ativos, equívocos na correta identificação das espécies botânicas, além da ameaça de extinção de espécies por colheitas indiscriminadas (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010). Já as espécies

cultivadas, podem ser selecionadas, conduzindo a cultivos mais uniformes e produção mais padronizada.

Isto mostra a necessidade de se organizar e desenvolver cadeias produtivas orientadas para o mercado. Os projetos, tanto do setor farmacêutico quanto de outros setores que utilizam as espécies medicinais como matéria prima, deveriam atender demandas da atividade agrícola, no monitoramento da qualidade da matéria-prima ofertada; apoiar a indústria e os órgãos reguladores na diminuição de desvios de qualidade e participar intensamente da formação de recursos humanos, enquanto estratégia de médio e longo prazo (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010).

A domesticação de uma espécie envolve a escolha e otimização de métodos adequados de propagação, cultivo e manejo, os quais podem, eventualmente, demandar muito tempo. Muitas espécies de interesse para o setor farmacêutico ainda não são domesticadas, sobretudo as plantas nativas. Para tanto, o emprego de técnicas de cultivo adequadas devem ser estudadas (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010). Em relação às espécies de *Lippia* nativas, especificadamente, dado ao volume de informações acerca de suas potencialidades, a domesticação é urgente.

Para o desenvolvimento de sistema de cultivo para espécies nativas um dos primeiros desafios é quanto à definição do método de propagação da espécie. Esta etapa envolve testes de germinação, de vigor e de sanidade das sementes, estudos de viabilidade durante o armazenamento e ensaios testando a propagação por sementes e por estacas. Quando se trata de espécies nativas e não domesticadas, com pouco conhecimento agrônomico, essa etapa é prioritária e pode representar a principal limitação para o desenvolvimento de sistemas produtivos eficientes (OLIVEIRA et al., 2011).

Para o gênero *Lippia*, a propagação por semente é um dos principais problemas que limitam a multiplicação das espécies, pois as plantas ou não produzem sementes ou, quando presentes, apresentam mecanismos que dificultam a germinação, tornando-se um processo raro (LORENZI; MATOS, 2008). Outro fator limitante para a propagação sexuada é o tamanho muito reduzido de suas sementes, que dificulta sua coleta e manipulação. Para essas espécies, a propagação vegetativa torna-se uma alternativa bastante atraente.

Dentre os métodos de propagação vegetativa a estaquia é a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, pois permite, a um custo menor, a multiplicação de genótipos selecionados, em curto período de tempo. A técnica consiste na multiplicação de plantas usando segmentos caulinares da planta-mãe que, sob condições favoráveis, emitem raízes adventícias, originando uma nova planta com carga

genética uniforme e idêntica àquela que lhe deu origem (FACHINELLO et al., 2005; HARTMANN et al., 2011).

Assim, a propagação por estaca tem sido uma alternativa viável utilizada de forma eficiente na multiplicação de algumas espécies desse gênero, tais como demonstram os trabalhos realizados com *L. sidoides* Cham. (FIGUEIREDO et al., 2009b) e *L. alba* (Mill.) N. E. Brown (TAVARES et al., 2012). Contudo, o sucesso dessa técnica só é possível através da compreensão das condições fisiológicas das estacas, necessárias à indução das raízes, como o grau de diferenciação dos tecidos, tratamentos adequados com reguladores vegetais e melhor época de coleta dos propágulos (FACHINELLO et al., 2005; HARTMANN et al., 2011).

Segundo Fachinello et al. (2005) o local de emissão dos primórdios radiculares é bastante variável, conforme a espécie e o tipo de estaca. Em estacas herbáceas, que não possuem um câmbio desenvolvido, os primórdios podem surgir entre os feixes vasculares. As raízes adventícias também podem ser formadas a partir da epiderme e do periciclo. No entanto, em estacas lenhosas os primórdios se formam a partir do xilema secundário jovem, geralmente, num ponto correspondente à entrada do raio vascular. Também podem ser formados primórdios a partir do câmbio ou dos calos produzidos na base das estacas, do floema, das lenticelas ou da medula (HARTMANN et al., 2011; FACHINELLO et al., 2005).

Em diversas espécies o estímulo à emissão de raízes se faz necessário por meio da aplicação exógena de reguladores vegetais (OLIVEIRA et al., 2011). Estes são substâncias naturais ou sintéticas que podem alterar qualquer processo fisiológico das plantas, sendo as auxinas o grupo de reguladores com maior efeito na formação de raízes. O tratamento com auxinas sintéticas é um método eficiente para obtenção de raízes em estacas para propagação vegetativa, principalmente em plantas de difícil enraizamento, aumentando a indução de raízes adventícias na extremidade cortada, o número e a qualidade dessas raízes formadas, bem como a uniformidade na sua emissão (TAIZ; ZEIGER, 2013). O ácido indolbutírico (AIB) é uma das auxinas sintéticas mais eficientes para essa finalidade, por sua baixa toxicidade, elevada estabilidade à fotodegradação, maior aderência à estaca, maior resistência ao ataque por ação biológica e por apresentar boa capacidade de promover a formação de primórdios radiculares (FACHINELLO et al., 2005). Contudo, as concentrações de AIB, bem como a forma e o tempo de aplicação são variáveis em função de cada espécie.

Além do desenvolvimento de formas adequadas de propagação, a identificação do manejo adequado da cultura tem grande influência na produtividade de princípios ativos. Isso se deve ao fato da produtividade das plantas medicinais, diferentemente das demais espécies, não ser expressa apenas pelo aumento de biomassa, mas pelo teor dos princípios ativos

presentes na biomassa produzida. Essa especificidade deve orientar a adoção de todos os princípios de produção vegetal (BRASIL et al., 2006a; LÓPEZ, 2006). Assim, vários fatores afetam a qualidade da matéria prima produzida em condições de cultivo. Dentre estes fatores, ressaltam-se as interações das plantas com microrganismos, insetos, a idade e estágio de desenvolvimento. Entre os fatores abióticos pode-se citar a luminosidade, temperatura, disponibilidade hídrica, nutrição, época (sazonalidade) e horário de coleta, radiação ultravioleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita, sendo que estes fatores podem apresentar correlações entre si (BRASIL et al., 2006a; GOOBO-NETO; LOPES, 2007). Em sistemas de cultivo tradicionais a nutrição de plantas e a época de colheita encontram-se entre os fatores que mais alteram a produção e qualidade dos metabolitos secundários.

O excesso ou a deficiências de nutrientes pode está diretamente relacionado às variações de produção de substâncias bioativas, tendo, portanto, a necessidade de se avaliar as exigências de cada espécie e o manejo adequado da adubação. Neste sentido, os macronutrientes N, P e K atuam influenciando vários eventos bioquímicos do metabolismo primário e secundário das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). A influência da adubação, no desenvolvimento das plantas e na produção e composição química de óleos essenciais, têm sido demonstradas em diversas plantas medicinais. De acordo com Souza et al. (2010) a produção de matéria fresca e seca de *L. citriodora* Kunth foi maior com a aplicação do esterco de curral, no entanto, isso não refletiu em maior teor de óleo essencial. Já Seixas et al. (2013) ao avaliar o efeito da adubação química em capim citronela, constataram que a adubação mineral favorece o seu crescimento e a produtividade, e o teor e a composição do óleo essencial variaram conforme a dose de adubo mineral utilizado.

Outro aspecto a ser observado na produção de plantas medicinais é a época de colheita. As espécies medicinais apresentam alta variabilidade no tempo e no espaço e no teor e composição dos metabólitos secundários produzidos. A época de colheita varia segundo o tipo de órgão da planta, estágio de desenvolvimento, época do ano e hora do dia (LÓPEZ, 2006). Figueiredo et al. (2009a) ao testar 5 intervalos de colheita (120, 180, 240, 300 e 360 dias) no cultivo de *L. sidoides* verificaram que o teor máximo de óleo essencial foi detectado aos 180 dias, sendo esta a melhor época para a colheita dessa espécie. Luz et al. (2014) avaliando duas épocas do ano (verão e inverno) pôde observar que em *Melissa officinalis* L. houve influência da época de colheita sobre o teor de óleo essencial e constituintes majoritários. Assim, o ponto de colheita se torna um aspecto fundamental para estudos com plantas medicinais, especialmente no caso de espécies perenes, pois a determinação da melhor

época de colheita permite o máximo aproveitamento pós-colheita do produto vegetal por apresentar melhor qualidade e o mínimo de perdas (FIGUEIREDO et al., 2009a).

Diante da escassez de estudos que estabeleçam as condições adequadas para a propagação e cultivo de espécies medicinais nativas, o presente trabalho buscou avaliar a influência de diferentes tipos de estacas e concentrações de AIB na propagação vegetativa de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia thymoides* Mart. & Schauer e *Lippia lasiocalycina* Cham., bem como o efeito da adubação orgânica e mineral e da época de colheita sobre o crescimento das plantas, rendimento, teor e composição química de óleo essencial nessas espécies.

Referências

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; RESENDE C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BLANK, A. F. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p. 113-116, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plantas Medicinais & Orientações Gerais para o Cultivo: Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília-DF: MAPA/SDC, 2006a. 48 p.

_____. Ministério da Saúde - Secretaria de Ciências, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2006b. 59 p.

_____. Ministério da Integração Nacional. Câmara dos Deputados. **Nova delimitação do semiárido brasileiro**. Brasília-DF, 2007. 24 p.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Instrução Normativa nº6 de 23 de setembro de 2008**. Brasília-DF. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092_008034949.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2015.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 5, n. 3, p. 37-39, 2003.

CASTRO, H. G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2.ed. Visconde do Rio Branco: UFV, 2004. 113 p.

CASTRO, P. R. **Óleos essenciais de espécies de *Lippia* (Verbenaceae) do semiárido baiano: potencial antimicrobiano e composição química**. 2005. 24f. Monografia (Graduação em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**. São Paulo. v. 16, n. 3, p. 224-228, 1993.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal Ethnopharmacol.** v. 97, p. 305-311, 2005.

FACHINELLO, J. C; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação e Tecnologia. 2005. 221 p.

FERRAZ, J. B. S. et al. Perfumes da floresta Amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. **Ciência e Cultura**, v.61, n. 3, p. 45-53, 2009.

FIGUEIREDO, L. S. et al. Efeito da época de colheita na produção de fitomassa e rendimento de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 154-158, 2009a.

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

FUNCH, L. S. et al. **Plantas úteis**: Chapada Diamantina. São Carlos: RIMA, 2004. 206 p.

GARCIA, E. S. et al. 1996. Fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 2.ed. Florianópolis: UFRGS, 2000. 821 p.

GEPTS, P. A comparison between crop domestication, classical plant breeding, and genetic engineering. **Crop Science**. v. 42, p. 1780-1790, 2002.

GONELI, A. L. D. et al. Cinética de secagem de folhas de erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 434-443, 2014.

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

GIULIETTI, A. M. et al. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. F. & LINS, L. V. (Org.). **Biodiversidade da Caatinga**: áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 382 p.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation**: principles and practices. 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Recife: UFPE, 2003. 804 p.

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, Boa Vista, v. 1, n. 1, p. 19-27, 2006.

LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas**. 2.ed. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

LUCCHESI, A. M. et al. Comparação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de espécies do semiárido baiano. In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SBQ, 2006. p. 285.

LUZ, J. M. Q. et al. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 16, n. 3, p.552-560, 2014.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. v. 3. Fortaleza: UFC, 2007. 394 p.

MELO, J. I. M. et al. Verbenaceae *sensu lato* em um trecho da ESEC Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 3, 2010, p. 41-47.

MENDES, S. S. et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 129, n. 3, 2010, p. 391-397.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009, p. 4050-4063.

NOVAIS, T. S. et al. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 13, supl. 2, p. 5-8. 2003.

OLIVEIRA, A. R. M. F. **Morfoanatomia, produção e composição química de óleo essencial e atividade biológica de quatro espécies nativas de *Lippia***. 2014. 1v. 114f. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia.

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

OLIVEIRA, R. A.; OLIVEIRA, F. F.; SACRAMENTO, C. K. Óleos essenciais: perspectivas para o agronegócio de especiarias na Bahia. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 8, n. 1, p. 46-48, 2007.

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

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. **Estudos Avançados**. São Paulo, v. 15, n. 43, p. 303-326, 2001.

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

PINTO, P. P. et al. Antimicrobial activity of *Lippia* species from the Brazilian semiarid region traditionally used as antiseptic and anti-infective agents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-5, 2013.

SALIMENA, F. R. G. **Revisão taxonômica de *Lippia* sect. *Rhodolippia* Schauer (Verbenaceae)**. 2000. 1v. 562f. Tese (Doutorado em Botânica) - USP, São Paulo, São Paulo.

SALIMENA, F. R. G.; FRANÇA, F.; SILVA, T. R. S. **Verbenaceae**. In: GIULIETTI, A. M.; et al (Org.). *Plantas Raras do Brasil*. 1. ed. Belo Horizonte: Conservação Internacional, 2009. p. 399- 401.

SALIMENA, F. R. G. et al. Verbenaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (Org.). **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Studio, 2013. p. 1010-1016.

SALIMENA, F. R. G.; MULGURA, M. ***Lippia***. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21444>>. Acesso em: 21 fev. 2015.

SAMPAIO, E. V. S. B. et al. **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife: Associação Plantas do Nordeste-APNE, 2005. 331 p.

SEIXAS, P. T. L. et al. Efeito da adubação mineral na produção de biomassa e no teor e composição do óleo essencial do capim-citronela. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 852-858, 2013.

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

SILVA, S. V. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 452-455, 2010.

SILVEIRA, J. C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 20139-20152, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. 1102 p.

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, n. 4, p. 401-405, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado na APG III**. 3.ed. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2012. 768 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAVARES, I. B. et al. Tipos de estacas e diferentes substratos na propagação vegetativa da Erva Cidreira (quimiotipos I, II e III). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 2, p. 206-213, 2012.

VICCINI, L. F. et al. Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 256, p. 171-178, 2006.

ZUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA, P. Fitoproduto e desenvolvimento econômico. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1421-1428, 2010.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DO TIPO DE ESTACA E DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE TRÊS ESPÉCIES DE *Lippia* (VERBENACEAE)

*Artigo submetido à Revista Ciência Rural.

**INFLUÊNCIA DO TIPO DE ESTACA E DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NA
PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE TRÊS ESPÉCIES DE *Lippia*
(VERBENACEAE)**

**BISPO, L. P.^{1*}; OLIVEIRA, L. M.¹; NASCIMENTO, M. N.¹; LEDO,
C. A. S.²**

¹Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana- BA, Brasil. ²Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), Cruz das Almas - BA, Brasil.

RESUMO: O semiárido nordestino apresenta grande diversidade de espécies de *Lippia* L. com potencial medicinal e aromático; entretanto, estudos sobre a domesticação e cultivo dessas espécies são quase que inexistentes, sendo a propagação uma etapa primordial. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de diferentes tipos de estacas e do ácido indolbutírico na propagação vegetativa de *Lippia insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*. O experimento foi conduzido em arranjo fatorial 2 x 5, sendo dois tipos de estaca (apicais e medianas) e cinco concentrações de AIB (0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹), com imersão por duas horas em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e dez estacas por parcela, para cada espécie. Após 60 dias avaliou-se o percentual de sobrevivência e enraizamento, número e comprimento de brotações, número de folhas, comprimento da maior raiz, massa seca das brotações e das raízes. Observou-se diferenças significativas para o percentual de enraizamento e sobrevivência apenas para estacas apicais de *L. insignis*. O número de brotos e folhas, comprimento de brotos e raiz, e massa seca de brotos e raízes apresentaram diferenças significativas entre os dois tipos de estacas testadas, a depender da espécie. Não se detectou diferenças significativas no percentual de enraizamento das estacas tratadas com diferentes concentrações de AIB. Assim, é possível a multiplicação vegetativa das espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*. Estacas apicais são as mais indicadas na propagação de *L. insignis* e tanto as estacas apicais como medianas para *L. thymoides* e *L. lasiocalycina*. Não se faz necessária a aplicação de AIB na propagação por estaquia das espécies de *Lippia*

Palavras-chave: *Lippia insignis*. *Lippia lasiocalycina*. *Lippia thymoides*. Plantas medicinais e aromáticas. Enraizamento.

ABSTRACT: The semiarid northeast in Brazil has a great diversity of species of *Lippia* L. with medicinal and aromatic potential; however, studies about domestication and cultivation of these species are almost non-existent, with the propagation as a primary step. The aim of this study was to evaluate the effect of different types of cuttings and IBA in the vegetative propagation of *Lippia insignis*, *L. lasiocalycina* and *L. thymoides*. The experiment was conducted in a 2 x 5 factorial: two types of cuttings (apical and middle) and five IBA concentrations (0, 250, 500, 750 and 1000 mg L⁻¹), with immersion for two hours in a completely randomized design, with four replications and ten cuttings per plot for each species. After 60 days it was evaluated the percentage of survival and rooting, number and length of shoots, number of leaves, the longest root length, dry weight of shoots and roots. There were statistically significant differences in the percentage of rooting and survival only to apical cuttings of *L. insignis*. The number of shoots and leaves, length of shoots and roots, and dry weight of shoots and roots showed significant differences between the two types of cuttings tested, depending on the species. There was no significant difference in the percentage of rooting in cuttings treated with different concentrations of IBA. Thus, vegetative propagation is possible the species *L. insignis*, *L. lasiocalycina* and *L. thymoides*. Apical cuttings are the most suitable in the propagation of *L. insignis* and both apical and middle cuttings for *L. thymoides* and *L. lasiocalycina*. Do not necessary to apply IBA in the cutting propagation of species of *Lippia*.

Keywords: *Lippia insignis*. *Lippia lasiocalycina*. *Lippia thymoides*. Medicinal and Aromatic Plants. Rooting.

INTRODUÇÃO

Lippia é um dos maiores gêneros da família Verbenaceae, composto por ervas, arbustos ou pequenas árvores, frequentemente aromáticos, distribuídos nas Américas Central e do Sul e na África Central (BLANK, 2013). Inclui uma diversidade de espécies com propriedades medicinais e aromáticas, sendo que aproximadamente 75% destas encontram-se no Brasil, o que torna o país um centro de diversidade do gênero (VICCINI et al., 2006). Na medicina popular são utilizadas no tratamento de distúrbios gastrointestinais, respiratórios e hipertensão. Inúmeras propriedades dos seus óleos essenciais já foram comprovadas, como anti-inflamatória, antimalárica, espasmóllica, sedativa, hipotensora e antimicrobiana (PASCUAL et al., 2001).

As espécies em estudo são todas nativas do Brasil, sendo *Lippia insignis* Moldenk endêmica da Bahia e, segundo Brasil (2008), já se encontra na lista de espécies da flora brasileira com deficiência de dados; *Lippia lasiocalycina* Cham. ocorre nos estados da Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraná e São Paulo e *Lippia thymoides* Martius & Schauer ocorre apenas nos estados da Bahia e Minas Gerais, em domínios fitogeográficos de Caatinga, Cerrado, além da Mata Atlântica e Floresta Amazônica para *L. lasiocalycina* (SALIMENA; MULGURA, 2015).

Mesmo com potencial econômico bem difundido, o estudo dessas espécies ainda apresenta carência de informações que possibilitem sua exploração de forma sustentável (PIMENTA et al., 2007; LORENZI; MATOS, 2008). Na literatura são inexistentes estudos sobre a propagação de *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, bem como procedimentos de cultivo. Para essas espécies, ainda não domesticadas, a definição de métodos de propagação é o primeiro passo, sendo, muitas vezes, uma etapa limitante para o desenvolvimento de uma cadeia produtiva.

A propagação por semente é um dos principais problemas que limitam a multiplicação dessas espécies, pois estas podem não produzir sementes e quando presentes desenvolvem mecanismos que dificultam a germinação (LORENZI; MATOS, 2008; PIMENTA et al., 2007). Outro fator que limita esse tipo de propagação é o tamanho reduzido de suas sementes, dificultando a coleta e manipulação. Por outro lado, a propagação por estaca tem sido uma alternativa viável utilizada de forma eficiente na multiplicação de algumas espécies desse gênero, tais como demonstram os trabalhos realizados com *Lippia alba* (BIASI; COSTA, 2003; TAVARES et al., 2012), *Lippia sidoides* (OLIVEIRA et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2009) e com dez espécies de

Lippia (PIMENTA et al., 2007). A estaquia é um método de propagação que possibilita a produção de mudas com homogeneidade, qualidade genética e baixo custo, além de ser um método simples. Porém, o tipo de estaca mais adequado varia de acordo com a espécie ou cultivar a ser trabalhada, já que o grau de diferenciação e a concentração de fitormônios diferem ao longo do ramo da planta (FACHINELLO et al., 2005).

Em diversas espécies a formação de raízes adventícias depende da aplicação exógena de reguladores vegetais (OLIVEIRA et al., 2011). Nessas espécies, o tratamento com auxinas sintéticas tem sido um método eficiente para obtenção de raízes em estacas, aumentando a indução de raízes adventícias na extremidade cortada e a qualidade das raízes formadas, bem como a uniformidade na sua emissão (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Diante da escassez de informações sobre as condições adequadas para a propagação das espécies de *Lippia*, o presente trabalho buscou avaliar a influência de diferentes tipos de estacas e do ácido indolbutírico na propagação vegetativa de *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante o período de julho a outubro de 2013, na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana-Bahia, Brasil, localizada a 257 metros de altitude, na latitude de 12°16'00" Sul e longitude de 38°58'00" Oeste, com médias anuais de 848 mm de precipitação e 24 °C de temperatura. Foram utilizadas como fonte de estacas plantas matrizes com idade de dois anos mantidas na Coleção de Plantas Aromáticas do Horto Florestal (Figura 1A), sendo utilizadas três espécies: *L. insignis* (Voucher 193480), *L. lasiocalycina* Cham. (Voucher 193481) e *L. thymoides* Martius & Schauer (Voucher 77554), depositadas e identificadas no herbário desta mesma instituição (HUEFS).

O experimento foi conduzido em arranjo fatorial 2 x 5, sendo dois tipos de estacas (apicais e medianas) e cinco concentrações de AIB (0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹), conforme concentrações utilizadas por Figueiredo et al. (2009) na espécie *L. sidoides*. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições e dez estacas por parcela, para cada espécie. Antes da coleta das estacas foram preparadas as soluções de reguladores, sendo o AIB diluído em hidróxido de sódio a 0,5 M.

No ensaio de propagação foram utilizadas estacas (apicais e medianas) com três entrenós, 10 cm de comprimento e um par de folhas cortadas ao meio (Figura 1B). As

estacas apicais foram retiradas do ápice dos ramos, onde os tecidos apresentam alta atividade meristemática e baixo grau de lignificação e as medianas retiradas da parte semilenhosa, caracterizada por tecidos mais lignificados. Durante o preparo das estacas, estas foram dispostas provisoriamente em um recipiente com água para evitar a desidratação. Em seguida realizou-se o tratamento das estacas com as soluções de ácido indolbutírico (AIB), onde tiveram 1/3 do seu comprimento imerso nas diferentes concentrações de AIB, por um período de duas horas, exceto no tratamento controle, onde as estacas foram imersas em água destilada pelo mesmo período de tempo (Figura 1C). Após imersão nas diferentes soluções de fitoreguladores, as estacas passaram por imersão rápida (5 segundos) das suas bases em solução do fungicida comercial Derosal Plus[®], na concentração de 5 mL L⁻¹. As estacas tratadas foram plantadas em bandejas de poliestireno expandido contendo 200 células e preenchidas com substrato comercial Biomix[®] (Figura 1D). Após o plantio a estacas foram mantidas em casa de vegetação com cobertura plástica transparente, com 75% de luminosidade, passando por nebulizações intermitentes a cada hora com duração de quatro minutos (Figura 1E).

Após 60 dias em casa de vegetação foram realizadas análises (Figura 1F) para quantificar os percentuais de sobrevivência (estacas que formaram pelo menos uma raiz ou brotação visível) e enraizamento das estacas, o número de brotações por estaca, número de folhas por broto, comprimento das brotações, comprimento da maior raiz (Figura 1G) e a massa seca das brotações e raízes. Para quantificação da massa seca as amostras foram acondicionadas em sacos de papel (Figura 1H) e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C, até alcançarem massa constante.

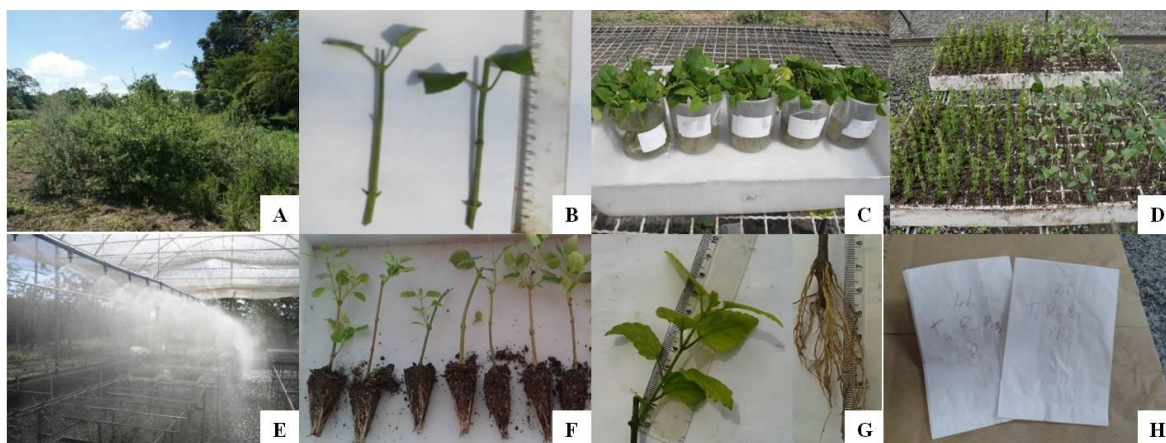


Figura 1. A – Coleção de Plantas Medicinais; B – estacas com 10 cm; C – estacas com as bases imersas em AIB e água; D – estacas cultivadas em bandejas de poliestireno; E – estufa com cobertura plástica e nebulização controlada; F – mudas após 60 dias de cultivo; G – comprimento dos brotos e da maior raiz; H – amostras em sacos de papel. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2013.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando observadas diferenças significativas, procedeu-se à comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e a análise de regressão para as concentrações de AIB. Os dados de porcentagem foram transformados em $\arcsen(\sqrt{x/100})$. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância os resultados obtidos para as espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* não foi verificada interação significativa entre os fatores tipo de estaca e concentração de AIB apenas para a variável comprimento da maior raiz em *L. insignis*. Entretanto, foram detectadas diferenças significativas nos fatores isolados em todas as espécies (Apêndice A).

Em relação à influência do tipo de estaca, a espécie *L. lasiocalycina* obteve maior número de brotos e folhas, comprimento dos brotos, massa seca das raízes e brotos com a utilização de estacas medianas (Tabela 1). Em *L. thymoides* as estacas apicais promoveram diferenças significativas apenas para o comprimento e massa seca dos brotos (Tabela 1). Para *L. insignis* verificou-se que o tipo de estaca promoveu diferenças significativas sobre o percentual de sobrevivência e enraizamento, e número de brotos das estacas com os melhores resultados sendo obtidos com a utilização de estacas apicais (Tabela 1). No entanto, para *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* os tipos de estacas não proporcionaram diferenças quanto ao enraizamento.

Biasi; Costa (2003) e Tavares et al. (2012) também constataram que o enraizamento de *L. alba* não foi influenciado pelos tipos de estacas testadas, apresentando facilidade de enraizamento (97,2 a 100%). Já na espécie *L. sidoides* verificou-se dificuldade no enraizamento (51,51 a 60,86%), entretanto, estacas apicais foram os tipos mais indicados na propagação vegetativa desta espécie (OLIVEIRA et al., 2008). Contudo, verifica-se que a capacidade de enraizamento das espécies de *Lippia* estudadas nesse trabalho foi considerada alta, uma vez que variou de 79,0% a 95,5% e de 69,5% a 91,5% nas estacas apicais e medianas, respectivamente (Tabela 1), demonstrando facilidade de formação de raízes. Resultados diferentes foram reportados por Pimenta et al. (2007), onde observaram em espécies não domesticadas de *Lippia* baixa capacidade de enraizamento das estacas, devido à reduzida ou ausente emissão de raízes adventícias, variando de 0 a 5,7 raízes formadas.

Tabela 1 - Percentual de sobrevivência (SOB), percentual de enraizamento (ENR), número médio de brotos por estaca (NB), número de folhas por broto (NF), comprimento das brotações (CB) e da maior raiz (CR), massa seca das brotações (MSB) e de raízes (MSR) de mudas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer obtidas a partir de estacas apicais e medianas. Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.

Tipo de estaca	Variáveis							
	SOB(%)	ENR(%)	NB	NF	CB(cm)	CR(cm)	MSB(g)	MSR(g)
<i>L. insignis</i>								
Apical	89,00 a	89,00 a	1,50 a	6,04 a	2,44 a	4,35 a	0,09 a	0,10 a
Mediana	70,50 b	69,50 b	1,20 b	5,76 a	2,59 a	3,67 a	0,08 a	0,09 a
<i>L. lasiocalycina</i>								
Apical	83,0 a	79,00 a	0,81 b	3,65 b	0,80 b	5,22 a	0,04 b	0,09 b
Mediana	78,5 a	75,50 a	1,04a	4,76 a	1,35 a	3,92 b	0,07 a	0,12 a
<i>L. thymoides</i>								
Apical	95,5 a	95,5 a	2,50 a	-	3,71 a	5,02 a	0,08 a	0,06 a
Mediana	91,5 a	91,5 a	2,15 a	-	2,57 b	4,57 a	0,05 b	0,05 a

Médias seguidas por letras distintas, na mesma coluna e para cada espécie, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Hartmann et al. (2011), a maior quantidade de reservas presente em estacas mais lignificadas, como estacas medianas, proporcionam maior formação de brotos e raízes. No entanto, estacas mais lignificadas geralmente apresentam maior dificuldade de enraizamento do que estacas de consistência mais herbácea, pois apresentam tecidos mais tenros, não havendo conseqüentemente, a presença de um anel de esclerênquima altamente lignificado que dificultaria a emissão dos primórdios radiculares (FACHINELO et al., 2005). Assim, verifica-se que a escolha da melhor região do ramo da planta para obtenção das estacas depende de cada espécie e até mesmo das condições fisiológicas da planta sob condições de cultivo.

Os resultados obtidos para taxa de sobrevivência foram semelhantes aos obtidos para enraizamento, para todas as espécies (Tabela 1), constatando-se, assim, que a emissão de raízes é de fundamental importância na sobrevivência das estacas. Segundo Reis et al. (2000) mudas com melhor sistema radicular apresentam maiores chances de sobrevivência, além do desenvolvimento mais rápido e vigoroso, proporcionando melhor ancoragem quando transplantadas ao local definitivo. Para Wendling et al. (2002) mudas com sistema radicular e parte aérea bem formados, com bom estado nutricional, livres de pragas e doenças, têm altas taxas de sobrevivência e desenvolvimento após o plantio. Para esses autores, os principais parâmetros que indicam a boa qualidade de uma muda são: uniformidade de altura entre as mudas; rigidez da haste principal (diâmetro de colo);

número de folhas e/ou, tamanho de copa; aspecto visual vigoroso (sintomas de deficiência, tonalidade das folhas); ausência de estiolamento; ausência de pragas e doenças na folha, no caule e nas raízes; ausência de ervas daninhas no substrato; sistema radicular e parte aérea bem desenvolvida (raiz pivotante não enrolada e fixada no solo, fora do recipiente) e relação parte aérea/sistema radicular.

Em relação ao efeito das concentrações de AIB, na espécie *L. insignis* obteve-se diferenças significativas para a massa seca das raízes e brotações, contudo, não foi possível o ajuste de um modelo estatístico significativo, tendo a concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB promovido os melhores resultados nas duas variáveis (Figura 2A e 2B). Para o efeito da interação entre os fatores tipo de estaca e concentração de AIB sobre o comprimento da maior raiz não foi possível o ajuste de um modelo estatístico significativo nas estacas apicais da espécie *L. insignis*. Já para as estacas medianas obteve-se uma curva de regressão com comportamento quadrático descendente, obtendo-se a maior média (5,99 cm) no tratamento controle (Figura 2C).

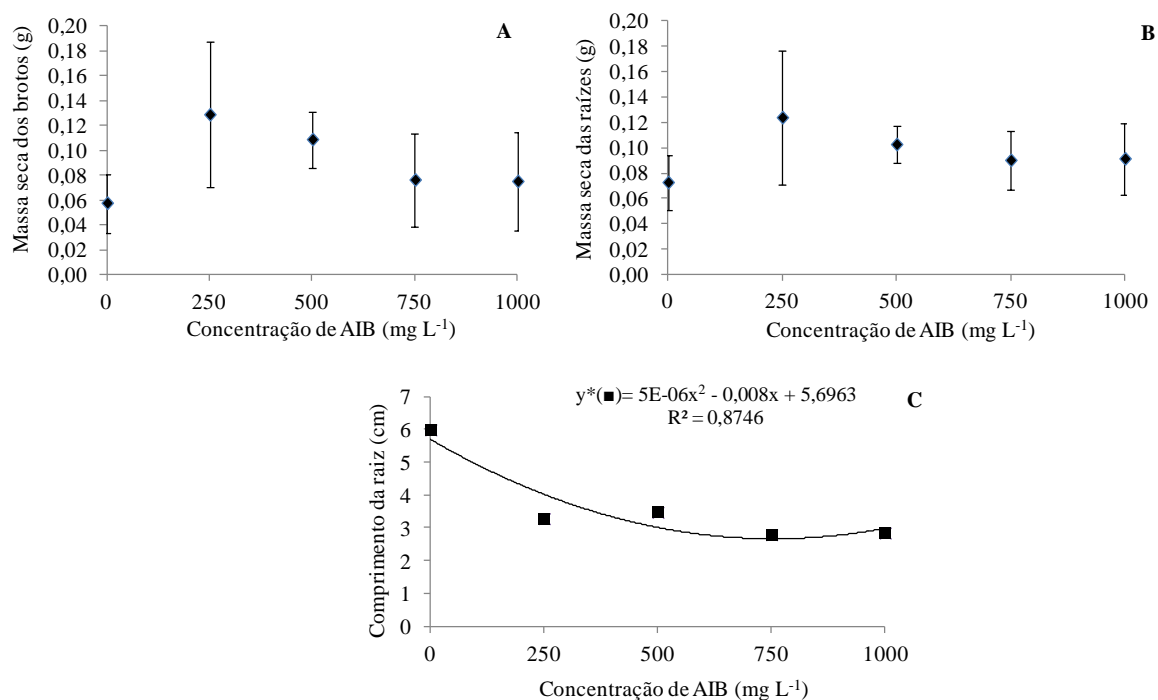


Figura 2. Massa seca dos brotos (A), massa seca das raízes (B) e comprimento da maior raiz (C) de mudas de *Lippia insignis* Moldenke obtidas a partir de estacas submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). * significativo a 5%. Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.

Na espécie *L. lasiocalycina* verificou-se que as concentrações de AIB promoveram diferenças significativas sobre todos os caracteres avaliados, exceto no percentual de

enraizamento. O aumento das concentrações de AIB proporcionou decréscimo linear do percentual de sobrevivência, com a concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB promovendo o maior percentual (92,5%), não diferindo do controle (Figura 3A).

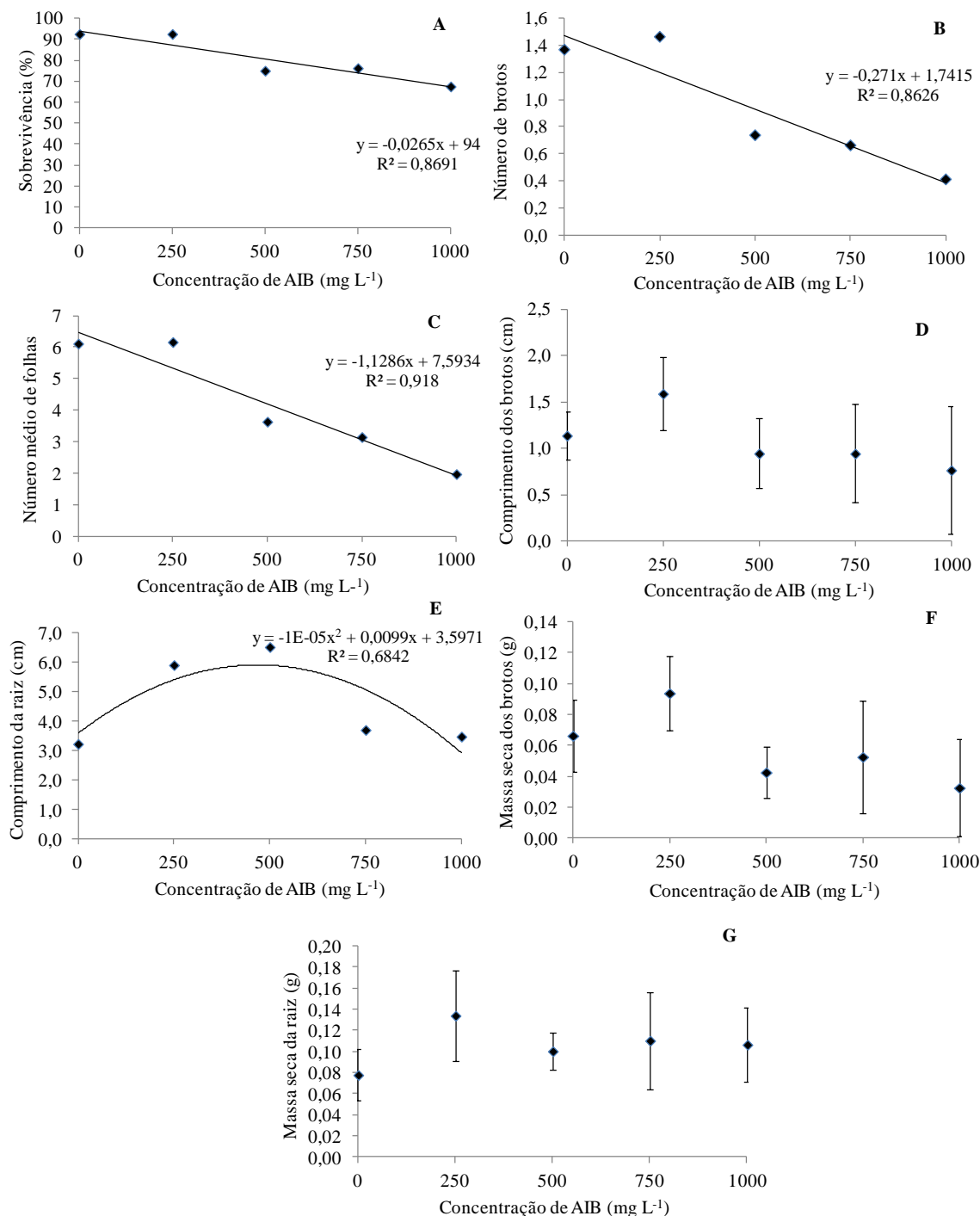


Figura 3. Percentual de sobrevivência (A), número de brotos por estaca (B), número de folhas por broto (C), comprimento dos brotos (D), comprimento da maior raiz (E), massa seca dos brotos (F) e massa seca da raiz (G) de mudas de *Lippia lasiocalycina* Cham. obtidas a partir de estacas submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.

Efeito semelhante foi encontrado no número de brotações e de folhas, obtendo-se médias de 0,41 brotos e 1,97 folhas por estaca quando submetidas à maior concentração do regulador (1000 mg L⁻¹ de AIB), valores 69,86% e 67,75% inferiores comparados ao tratamento controle (Figura 3B e 3C). Em relação ao comprimento da maior raiz obteve-se uma curva quadrática, atingindo o maior valor estimado (7,35 cm) quando tratadas com 495 mg L⁻¹ de AIB (Figura 3E). As concentrações de AIB promoveram diferenças significativas em relação aos parâmetros comprimento dos brotos e massa seca das brotações e raízes, porém, não foi possível o ajuste de um modelo estatístico significativo, sendo o tratamento com 250 mg L⁻¹ de AIB o mais eficiente, promovendo médias de 1,59 cm, 0,09 g e 0,13 g, respectivamente (Figura 3D, 3F e 3G).

Na espécie *L. thymoides* constatou-se que as concentrações de AIB promoveram diferenças significativas sobre todos os caracteres observados, exceto para o percentual de enraizamento e sobrevivência. O número de brotos apresentou comportamento linear ascendente em relação às concentrações de AIB, obtendo-se a maior média de brotos (2,65) na concentração 1000 mg L⁻¹ (Figura 4A). As concentrações de AIB promoveram respostas quadráticas sobre o comprimento dos brotos e da maior raiz, estimando-se um comprimento de 4,01 cm para as brotações na concentração de 762,5 mg L⁻¹ de AIB e 5,44 cm para as raízes na concentração 662,5 mg L⁻¹ de AIB (Figura 4B e 4C). Para massa seca das raízes e das brotações verificou-se comportamento linear ascendente em relação às concentrações de AIB, obtendo-se um aumento de 75% para as brotações e 57,1% para as raízes com a utilização de 1000 mg L⁻¹ de AIB, comparado ao tratamento controle (Figura 4D e 4E).

Ressalta-se que quando não foram aplicadas concentrações exógenas de AIB (0 mg L⁻¹), foram obtidas porcentagens acima de 78% de enraizamento nas três espécies avaliadas. Podendo supor que a concentração de auxina endógenas nas estacas se apresenta em níveis elevados, o que permite esse alto percentual de enraizamento. Verificou-se também efeitos opostos da aplicação de AIB sobre as espécies *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* para algumas das variáveis analisadas. Em *L. thymoides* a adição de AIB promoveu incremento número de brotos, comprimento e massa seca de raízes e brotações. Já em *L. lasiocalycina* as estacas apresentaram melhores respostas nas variáveis sobrevivência, número, comprimento e massa seca dos brotos e das raízes e número de folhas na ausência do regulador (0 mg L⁻¹) ou na menor concentração testada (250 mg L⁻¹).

Paulus et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes ao avaliar concentrações de AIB (0, 250, 500, 1000 e 1500 mg L⁻¹) em *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton, concluindo que o tratamento 1500 mg L⁻¹ propicia efeitos benéficos na biomassa seca e fresca, número de brotos e qualidade do sistema radicular formado das estacas. O uso de reguladores em altas concentrações também promoveu efeito benéfico a espécies de *Hyptis*, onde estacas induzidas com 2000 e 4000 mg L⁻¹ de AIB por 5 minutos possibilitaram melhores resultados na propagação vegetativa de estacas apicais, médio/apicais e médio/basais de *Hyptis leucocephala* e de estacas médio/basais e basais de *Hyptis platanifolia* (OLIVEIRA et al., 2011).

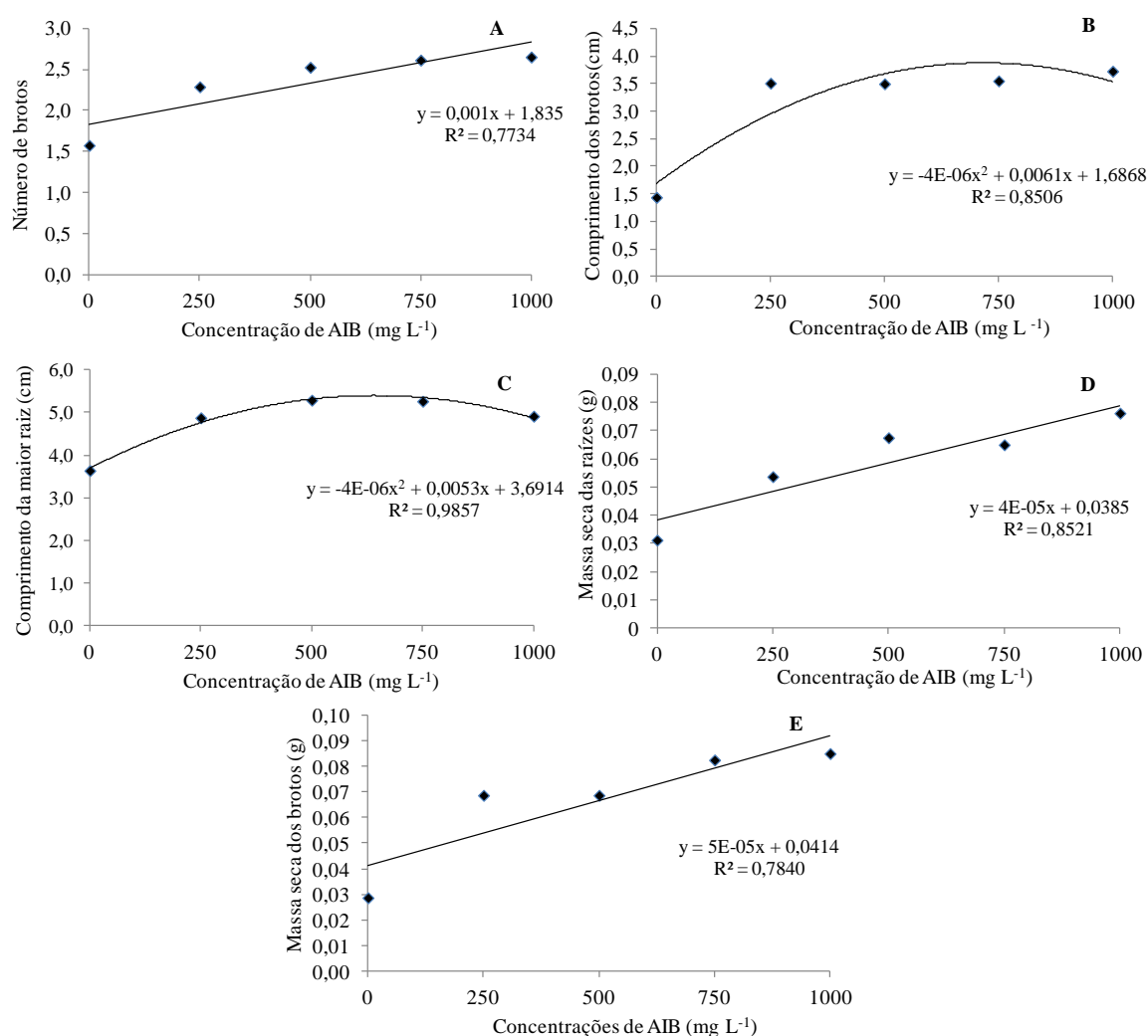


Figura 4. Número de brotos (A), comprimento dos brotos (B), comprimento da maior raiz (C) massa seca das raízes (D) e massa seca das brotações (E) de mudas de *Lippia thymoides* Martius & Schauer obtidas a partir de estacas submetidas a diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Feira de Santana-BA, UEFS, 2013.

Por outro lado, Oliveira et al. (2008) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de AIB em *L. sidoides* constataram que o número de brotações e o desenvolvimento das raízes por estaca diminuíram à medida que a concentração de AIB aumentava. Segundo os mesmos autores, possivelmente, os níveis endógenos de auxina estavam elevados auxiliando a emissão de raízes e a adição exógena de altas concentrações causou efeito fitotóxico. Tracz et al. (2014) avaliando o enraizamento de estacas de penicilina (*Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze) com as mesmas concentrações do presente trabalho, verificou que não houve diferença do percentual de enraizamento nas estacas tratadas com AIB, porém as porcentagens foram acima de 94%. Os autores concluíram que a propagação vegetativa via estaquia é viável sem o uso de reguladores para induzir o enraizamento dessa espécie, a qual pode ser considerada de fácil enraizamento.

Para Taiz; Zeiger (2013) a resposta da planta à auxina exógena pode variar com a natureza do tecido e com a concentração de hormônios de crescimento presente no propágulo, o que justifica os resultados obtidos.

CONCLUSÃO

É possível a multiplicação vegetativa das espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides* a partir de estacas. Para propagação de *L. insignis* estacas apicais são as mais indicadas, enquanto que para as espécies *L. thymoides* e *L. lasiocalycina* estacas apicais ou medianas são as mais recomendadas. Não se faz necessária a aplicação de AIB na propagação por estaquia das espécies estudadas.

REFERÊNCIAS

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

BLANK, A. F. Transformação de recursos genéticos de plantas aromáticas nativas em riqueza: o potencial do alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis*). **Horticultura Brasileira** [online], Brasília, v.31, p. 512. 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Instrução Normativa nº6 de 23 de setembro de 2008**. Brasília. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092_008034949.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2015.

FACHINELLO, J. C; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação e Tecnologia. 2005. 221 p.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistema de análise de variância, versão 5.3, 5ed. Lavras: UFLA. 2010.

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

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation**: principles and practices. 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.

LORENZI, H; MATOS. F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**: Nativas e Exóticas. 2.ed. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

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

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

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

PAULUS, D. et al. Propagação vegetativa de *Aloysia triphylla*(L'Hér.) Britton em função da concentração de AIB e do comprimento das estacas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 25-31, 2014.

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

REIS, J. M. R. et al. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

SALIMENA, F. R. G.; MULGURA, M. *Lippia*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21444>>. Acesso em: 21 fev. 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAVARES, I. B. et al. Tipos de estacas e diferentes substratos na propagação vegetativa da Erva Cidreira (quimiotipos I, II e III). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 2, p. 206-213, 2012.

TRACZ, V.; CRUZ-SILVA, C.T.A.; LUZ, M. Z. Produção de mudas de penicilina (*Alternanthera brasiliiana* (L.) Kuntze) via estaquia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 3, supl. I, p. 644-648, 2014.

VICCINI, L. F. et al. Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 256, p. 171-178, 2006.

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; GROSSI, F. **Curso intensivo de viveiros e produção de mudas**. Colombo: Embrapa Florestas, Documentos 79, 2002. 48 p.

CAPÍTULO II

CULTIVO DE ESPÉCIES DE *Lippia* OCORRENTES NO SEMIÁRIDO BAIANO PARA A PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

CULTIVO DE ESPÉCIES DE *Lippia* OCORRENTES NO SEMIÁRIDO BAIANO PARA A PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

BISPO, L. P.¹; OLIVEIRA, L. M.¹; LUCCHESI, A. M.²; OLIVEIRA, R. S.¹; LEDO, C.
A. S.³

¹Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, S/N, Novo Horizonte, CEP: 44.036.900, Feira de Santana- BA, Brasil. ²Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). ³Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), Cruz das Almas - BA, Brasil.

RESUMO: O gênero *Lippia* é um dos maiores da família Verbenaceae, composto por espécies com propriedades medicinais com elevada representatividade no semiárido brasileiro. Contudo, a grande maioria das espécies ainda não é domesticada. Buscando a inserção dessas espécies em sistemas de produção sustentáveis, para produção de óleos essenciais, o presente trabalho objetivou avaliar o crescimento das plantas, teor, rendimento e composição do óleo essencial de *L. insignis*, *L. thymoides* e *L. lasiocalycina* sob diferentes épocas de colheita e formas de adubação, nas condições edafoclimáticas de Feira de Santana, BA, Brasil. O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados, em arranjo fatorial 3 x 3 x 2, sendo três tipos de adubação, três espécies e duas épocas de colheita, com quatro repetições e quatro plantas por parcela. Em cada colheita avaliou-se a altura da planta, diâmetro do colo, volume da copa, massa seca e fresca de folhas + inflorescências e do caule, teor, rendimento e composição química do óleo essencial de cada espécie. A extração de óleo essencial foi realizada por hidrodestilação e a composição foi analisada em cromatógrafo gasoso com detector de ionização em chama (CG/DIC) acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM). Verificou-se que a adubação mineral NPK associada ao esterco bovino foi o melhor tratamento para as espécies *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*, contudo, para *L. insignis* a adição de adubo não promoveu efeitos significativos sobre todas as variáveis analisadas. A poda das plantas auxilia na produção de ramos novos e potencializa a produção de óleo essencial pela planta. O teor de óleo não apresentou diferença quanto aos tratamentos de adubação. Os componentes majoritários de *L. insignis* foram β -mirceno, limoneno e E-ocimenina; de *L. lasiocalycina* β -mirceno e E-ocimenina e de *L. thymoides* E-cariofileno e óxido de cariofileno, independentemente do tipo de adubação. A época de colheita promoveu variações quantitativas na composição do óleo das espécies. As espécies *L. insignis* e *L. thymoides* apresentaram maior potencial para cultivo e produção de óleo essencial nas condições edafoclimáticas de Feira de Santana-BA.

Palavras-chave: Verbenaceae. *L. insignis*. *L. lasiocalycina*. *L. thymoides*. Plantas medicinais e aromáticas. Adubação.

ABSTRACT: The genus *Lippia* is one of the largest in Verbenaceae family, composed of species with medicinal properties and high participation in the Brazilian semiarid region. However, the vast majority of species is not yet domesticated. Seeking the inclusion of those species in sustainable production systems, for the production of essential oils, this study aimed to evaluate the growth of plants, content, yield and composition of essential oil of *L. insignis*, *L. thymoides* and *L. lasiocalycina* in different harvest seasons and forms of fertilization, at conditions of Feira de Santana, Bahia, Brazil. The experimental design was a completely randomized block design (RBD) in a 3 x 3 x 2 factorial: three types of fertilizer, three species and two harvest seasons, with four replications and four plants per plot. In each harvest it was evaluated the plant height, stem diameter, canopy volume, fresh and dry mass of leaves + inflorescences and stem, content, yield and chemical composition of essential oil of each species. The essential oil extraction was performed by hydrodistillation and the composition was analyzed by gas chromatographer with flame ionization detection (GC/FID) coupled to a mass spectrometer (GC/MS). It was found that the NPK fertilizers associated with the manure was the best treatment for the species *L. lasiocalycina* and *L. thymoides*; however, for *L. insignis* the addition of fertilizer did not cause significant effects. Pruning the plants helps in the production of new branches and enhances the production of essential oil by the plant. The oil content did not differ regarding the fertilization treatments. The major components of *L. insignis* were β -myrcene, limonene and E-ocimenine; of *L. lasiocalycina* were β -myrcene and E-ocimenina and *L. thymoides* were E-caryophyllene and caryophyllene oxide, regardless of the type of fertilizer. The harvest season promoted quantitative changes in the species composition of the oil. The species *L. insignis* and *L. thymoides* are most promising for cultivation and essential oil production in the conditions of Feira de Santana, Bahia.

Keywords: Verbenaceae. *L. insignis*. *L. lasiocalycina*. *L. thymoides*. Medicinal and aromatic plants. Fertilization.

INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia* (Verbenaceae) possui cerca de 200 espécies, sendo que o Brasil é o país mais representativo, com cerca de 75% das espécies conhecidas e, destas, aproximadamente 35% estão presentes na região semiárida do país, em área predominantemente de Caatinga (VICCINI et al., 2006; GIULIETTI et al., 2006). Entretanto, algumas espécies do gênero ao menos passaram por estudos de caracterização e/ou domesticação, a exemplo de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia thymoides* Mart. & Schauer e *Lippia lasiocalycina* Cham. Estas são nativas do Brasil onde *L. insignis* é endêmica da Bahia e *L. thymoides* ocorre apenas nos estados da Bahia e Minas Gerais, enquanto que *L. lasiocalycina* é encontrada nos estados da Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraná e São Paulo (SALIMENA; MULGURA, 2015).

Popularmente as folhas e flores das espécies do gênero são utilizadas no tratamento de doenças respiratórias, digestivas e para tratar infecções em geral (PASCUAL et al., 2001). Contrastando com a diversidade de espécies e o amplo uso popular, poucos estudos farmacológicos têm sido descritos na literatura, concentrando-se nos estudos biológicos dos óleos essenciais, que possuem comprovada atividade antimicrobiana, antioxidante, antiprotozoário, espasmolítica, sedativa, hipotensiva e antiinflamatória (SILVA, 2012, TELES et al., 2014, PASCUAL et al., 2001). Estas atividades são atribuídas aos terpenoides, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, presentes nos óleos essenciais das espécies de *Lippia*, sendo o limoneno, β -cariofileno, p -cimeno, cânfora, linalol, α -pineno e timol os componentes mais encontrados (PASCUAL et al., 2001).

Os óleos essenciais são líquidos voláteis, de aparência oleosa, dotados de aroma forte e quase sempre agradável, proveniente do metabolismo secundário das plantas (SILVA; CASALI, 2000), com grande utilização nas indústrias de medicamentos, perfumaria, cosméticos, produtos de limpeza e alimentos. No entanto, a matéria prima, que tem como fonte as plantas medicinais, tem sido obtida, na maioria dos casos, a partir do extrativismo, o que tem promovido uma rápida erosão genética desses recursos, com muitas espécies já constando em listas de extinção (SALIMENA et al., 2013). Essa forma de exploração tem sido considerada ainda o principal responsável pela baixa qualidade dos óleos essenciais produzidos no país. Assim, o desenvolvimento de técnicas de cultivo, colheita e pós-colheita é algo urgente, sob risco de perda de genótipos promissores (EHLERT et al., 2013).

Embora o teor dos metabólitos secundários nos tecidos seja controlado geneticamente, a qualidade e a concentração desses compostos variam acentuadamente em função das

condições ambientais e técnicas de cultivo, sendo que os resultados nem sempre são uniformes (CASTRO et al., 2002; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Desta forma, o cultivo de plantas medicinais sob condições mais controladas é necessário, considerando além da produção de biomassa, principalmente, o teor e composição de princípios ativos (LÓPEZ, 2006). Nesse sentido, a nutrição de plantas e a época de colheita são aspectos relevantes na produção de óleo essencial, podendo influenciar diretamente ou indiretamente nas oscilações desses compostos.

Dentre os insumos que maximizam a produção das culturas a adubação é o principal responsável pela elevação da produtividade e qualidade dos produtos obtidos, podendo desencadear efeitos positivos e negativos, demonstrados em diversas espécies de plantas medicinais (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2005; SODRÉ et al., 2013; LUZ et al., 2014). Além da adubação, a época de colheita afeta diretamente o conteúdo e a qualidade dos óleos essenciais, visto que esses constituintes ativos não são constantes ao longo do ano, podendo apresentar inclusive variações ao longo do dia (MING, 1998; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MEIRA, et al., 2011; EHLERT et al., 2013).

Na literatura são escassos trabalhos que avaliem do teor e a composição química dos óleos essenciais de espécies nativas de *Lippia* sob condições controladas de cultivo (SILVA, 2012; OLIVEIRA, 2014). Teles et al. (2012) constatou para *L. alba* que locais de origem e métodos de secagem interferem na composição dos óleos essenciais produzidos. Já Santos; Innecco (2004) observaram para a mesma espécie interferência da adubação orgânica e altura do corte na produção dos constituintes majoritários. Para *Lippia citriodora*, Souza et al. (2010) verificaram que a época de colheita não influenciou a produção de biomassa fresca e seca, ao contrário da adubação com esterco, no entanto, isso não refletiu em maior rendimento de óleo essencial. Assim, a seleção de espécies e genótipos de maior potencial de cultivo e maior produtividade dos compostos bioativos, aliados ao desenvolvimento de sistemas de cultivo, colheita e processamento são necessários para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis e eficientes.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o crescimento das plantas, teor, rendimento e composição do óleo essencial de *L. insignis*, *L. thymoides* e *L. lasiocalycina*, sob diferentes épocas de colheita e formas de adubação, nas condições edafoclimáticas de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local do cultivo

O experimento foi desenvolvido no período de setembro de 2013 a dezembro de 2014 na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana-Bahia, Brasil, localizada a 257 metros de altitude, latitude de 12°16'00'' Sul e longitude de 38°58'00'' Oeste, com médias anuais de 848 mm de precipitação e 24°C de temperatura.

Cultivo e adubação

Foram utilizadas plantas das espécies *L. insignis*, *L. thymoides* e *L. lasiocalycina*, pertencentes à coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas do Horto Florestas da UEFS. As espécies foram identificadas pelo Herbário da mesma instituição (HUEFS), onde as exsicatas encontram-se depositadas (Vouchers números 93480, 77554 e 193481, respectivamente).

As plantas foram propagadas a partir de estacas cultivadas em bandejas de poliestireno expandido contendo 200 células, preenchidas com substrato comercial Biomix[®] (Figura 1A) e mantidas em casa de vegetação sob nebulização intermitente (a nebulização ocorreu a cada hora com duração de quatro minutos). Após 60 dias de cultivo as mudas foram transferidas para copos plásticos de 200 mL contendo o mesmo substrato, sendo mantidas em casa de vegetação com cobertura plástica transparente, com 75% de luminosidade, nas mesmas condições de irrigação, por um período total de 90 dias (Figura 1B). Posteriormente, as mudas (Figura 1C) foram transplantadas para a área experimental, com plantio direto em covas com 15 x 15 x 15 cm de dimensão, sem revolvimento do solo e mantendo-se a palhada como cobertura morta (Figura 1D).

O experimento foi instalado em blocos inteiramente casualizados, em arranjo fatorial 3 x 3 x 2, sendo 3 espécies (*L. insignis*, *L. thymoides* e *L. lasiocalycina*), 3 formas de adubação (esterco bovino, esterco bovino + NPK (10:10:10) e testemunha, sem adubação) e 2 épocas de colheita (210 e 360 dias após o plantio), com quatro repetições e quatro plantas por parcela, em espaçamento de 1 m entre linhas, 0,8 m entre plantas na linha e 1,5 m entre blocos (Anexo B). Como bordadura foram usadas mudas da espécie *L. insignis*.

Com base na análise química do solo (Anexo 1) foi definido o quantitativo dos fertilizantes: para a primeira época de colheita utilizou-se 500 g de esterco bovino por cova para a adubação orgânica, e 500 g de esterco bovino por cova mais 48 g/planta de fertilizante NPK (10:10:10) para adubação orgânica/mineral (Figura 1E e 1F). A aplicação de NPK foi

dividida em duas aplicações (aos 50 e 130 dias após o plantio). Para a segunda época de colheita foram utilizados os mesmos tratamentos, porém o esterco bovino foi aplicado na proporção de 1000 g por planta, em cobertura, e a aplicação de NPK também foi realizada em duas épocas (aos 90 e 125 dias após a primeira poda). O esterco bovino utilizado apresentou a seguinte composição química: pH em água - 7,50; CE - 13,15 mS cm⁻¹; P - 2,02 g kg⁻¹; K - 1,50 g kg⁻¹; Ca - 6,20 g kg⁻¹; Mg - 3,70 g kg⁻¹; N - 6,96 g kg⁻¹; S - 2,89 g kg⁻¹.

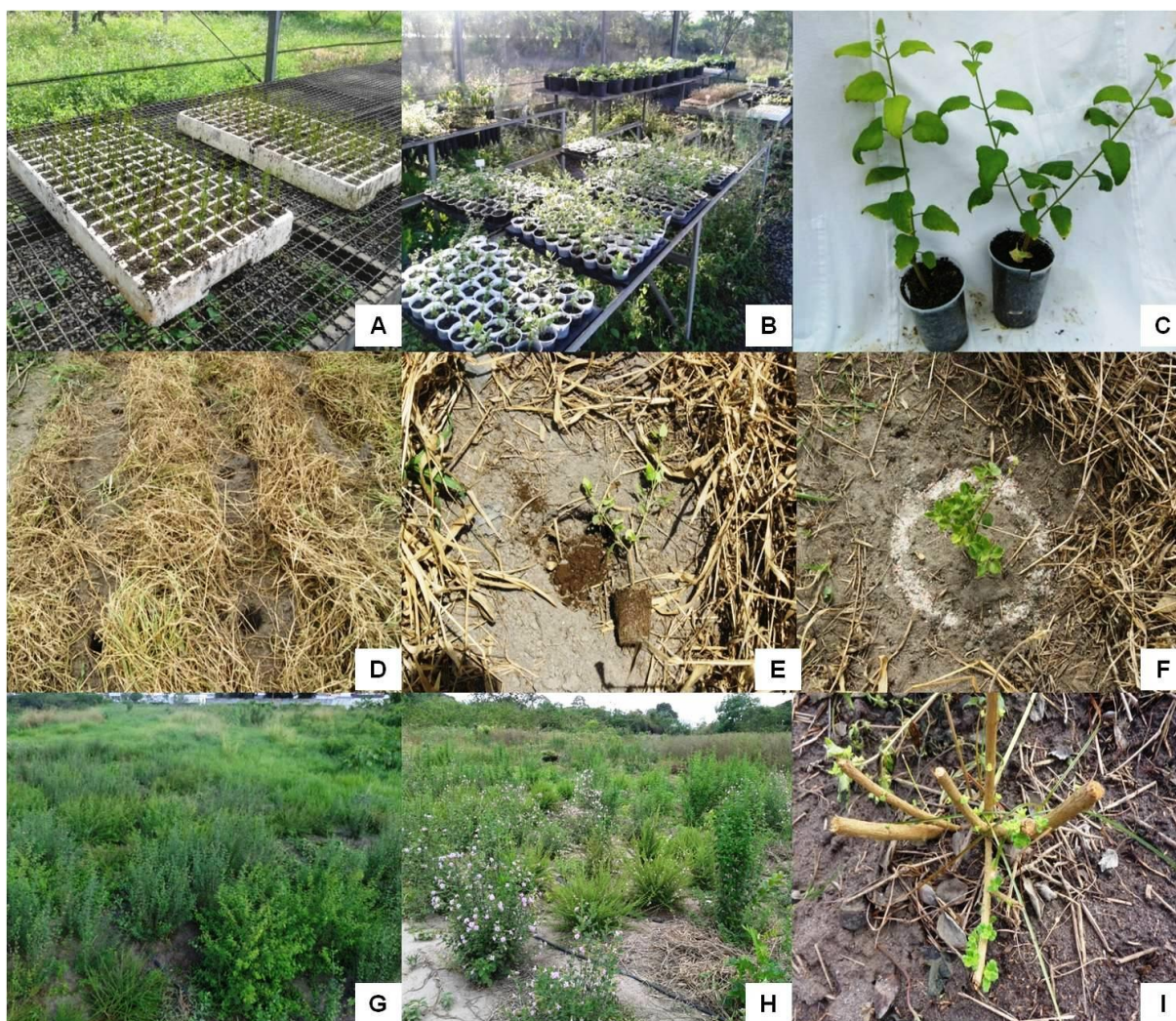


Figura 1. A - Propagação vegetativa das espécies em bandejas de poliestireno; B - Mudanças em copos plásticos; C - Mudanças com 90 dias utilizadas para o plantio; D - Área com covas prontas para o plantio; E - Adubação de plantio com esterco; F - Adubação mineral com NPK (10-10-10); G - Área do cultivo com 210 dias; H - Área do cultivo com 150 dias após primeira colheita (rebrotas); I - Planta cortado a 15 cm do solo em início de rebrotas. Feira de Santana-BA, Horto Florestal-UEFS, 2014.

A primeira colheita foi realizada aos 210 dias após o transplante das mudas para o campo (Figura 1G), correspondendo ao mês de julho e a segunda colheita (rebrotas) aos 150

dias após a primeira colheita (Figura 1H), ocorrendo no mês de dezembro, perfazendo dois ciclos de cultivo em um total de 360 dias. As duas colheitas foram feitas através do corte dos ramos inteiros das plantas, a 15 cm do solo, conforme metodologia sugerido por FIGUEIREDO et al. (2009) (Figura 1I). Os caracteres avaliados foram área foliar (dm^2), medida com o auxílio do Medidor de Área Foliar de Bancada LI-3100C, a partir da qual foram obtidos os parâmetros fisiológicos área foliar específica (AFE) e razão de peso foliar (RPF), conforme BENINCASA (2003); altura da planta (m), determinada com o auxílio de uma trena graduada, adotando-se como critério a distância entre o colo da planta e a extremidade do broto terminal do ramo principal; diâmetro do colo (mm), determinado por um paquímetro digital; volume da copa da planta (m^3), determinado com trena graduada e estimando-se o volume pela fórmula de Mendel (1956): $V = 2 / 3 \cdot \pi \cdot R^2 \cdot H$, onde: V = volume da copa; R = raio médio e H = altura da copa; e a biomassa fresca e seca das folhas, inflorescências e caule (g). Para análise da biomassa seca as plantas foram separadas em caule e folhas mais inflorescências, e posteriormente levados à estufa de circulação forçada de ar a 60°C até peso constante.

Extração do óleo essencial

Na extração dos óleos, 100 g de folhas secas de cada tratamento foram trituradas em liquidificador com água destilada e, em seguida, adicionadas em balão de vidro contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal. O método de extração foi por hidrodestilação utilizando-se o aparelho de Clevenger, acoplados em balões de vidro, que foram aquecidos por mantas térmicas elétricas com termostato. A extração foi conduzida durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger. Após a extração foi adicionado ao óleo o sulfato de sódio anidro para eliminação da água residual. Posteriormente, com o uso da pipeta do tipo Pasteur, o óleo foi coletado e acondicionado em frasco de vidro de 4 mL, etiquetado e armazenado em congelador comercial a -23°C até a realização da análise química. Uma pequena amostra de 1 g das folhas foi utilizada na determinação do teor de umidade, em triplicatas, no aparelho determinador de umidade (Série ID Versão 1.8 Marte[®]), secando-se as amostras à temperatura de 105°C , por 10 minutos.

O teor do óleo essencial foi obtido a partir da base livre de umidade (BLU), e corresponde ao volume (mL) de óleo essencial em relação à massa seca, conforme fórmula descrita por Santos et al. (2004): $To = [Vo/Bm - (Bm \times U/100)] \times 100$, onde: To = Teor de óleo;

V_o = Volume de óleo extraído; B_m = Biomassa vegetal; $(B_m \times U)$ = Quantidade de umidade presente na biomassa; $B_m - (B_m \times U)$ = Quantidade de biomassa seca. Os dados obtidos do teor de óleo foram utilizados para calcular o rendimento de óleo essencial em $L\ ha^{-1}$, a partir da multiplicação entre o teor de óleo, a biomassa seca de folhas produzidas por planta e o número de plantas por hectare.

Identificação dos componentes químicos do óleo essencial

A identificação da composição química dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais (LAPRON) da UEFS. A análise da composição química dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia de fase gasosa, empregando-se cromatógrafos a gás com detector de ionização em chama (CG/DIC) acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM). Na análise por CG/DIC foi utilizado Cromatógrafo Varian® CP-3380, equipado com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar Chrompack CP-SIL 5 (30 m x 0,5 mm, com espessura do filme de 0,25 μ m), temperatura do injetor de 220 °C e do detector de 240 °C, hélio como gás de arraste (1 mL/min), com programa de temperatura do forno de 60 °C a 240 °C (3 °C/min), 240 °C (20 min). As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0,25 mm, com espessura de filme 0.25 μ m), temperatura do injetor 220 °C, gás de arraste hélio (1 mL/min), temperatura da interface de 240 °C, temperatura da fonte de ionização de 240 °C, energia de ionização 70 eV, corrente de ionização: 0,7kV e programa de temperatura do forno: 60 °C a 240 °C (3 °C/min), 240 °C (20 min).

Previamente as análises no CG/DIC e CG/EM, aproximadamente 0,05 g de cada amostra de óleo essencial foi pesada em balança analítica e diluída em 1000 μ L do solvente acetato de etila. O volume de 0,2 μ L desta solução foi injetado, sob as mesmas condições supracitadas, no CG/DIC e no CG/EM com razão de split de 1:100. A determinação do índice de Kovat's foi efetuada empregando-se uma solução a 5% de n-alcanos (C8 a C24). A identificação dos constituintes foi realizada por espectrometria de massas e por meio do índice de Kovat's de cada pico, conforme fórmula descrita por Adams (2007): $IK = 100 N + 100$. ($\log t'_R(A) - \log t'_R(N)$)/($\log t'_R(N+1) - \log t'_R(N)$), onde IK = Índice de retenção de Kovat's, N = Número de átomos de carbono do padrão do alcano (C8 a C24), $t'_R(A)$ = tempo de retenção do pico calculado, $t'_R(N)$ = tempo de retenção do alcano correspondente ao pico calculado e $t'_R(N + 1)$ = tempo de retenção do alcano que elui posteriormente ao pico calculado.

Cada pico do cromatograma foi identificado pelo seu espectro de massas, por comparação com a biblioteca do equipamento (Nist 21 e Nist 72), através de fontes da literatura (ADAMS, 2007; JOULAIN; KONIG, 1998) e injeções de padrões autênticos (timol, carvacrol, cânfora, limoneno e borneol). Foram realizadas quatro injeções do óleo essencial para cada forma de adubação, época de colheita e espécie, para as quatro repetições, obtendo-se a concentração média para cada constituinte. A quantificação do percentual relativo foi obtida com base nas áreas dos picos cromatográficos correspondentes pelo método da normalização da área (%).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste t-LSD (Least Significant Difference) a 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) (Sas Institute Inc., 2000). Os dados da razão peso foliar (RPF) foram transformados em arcsen ($\sqrt{x/100}$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cultivo e produção de óleo essencial

Os resultados obtidos demonstraram que a interação tripla (adubação x espécie x época de colheita) não foi significativa ($p < 0,05$) em todas as variáveis analisadas, indicando que a influência de cada fator ocorreu de forma independente. Contudo, verificou-se interação dupla entre a época de colheita e as espécies estudadas para o volume da copa, massa fresca do caule e teor de óleo, e efeito altamente significativo ($p < 0,01$) para os tipos de espécie e época de colheita, sobre todos os parâmetros avaliados, exceto para área foliar específica ($p < 0,05$) (Apêndice B). Esses resultados indicam a alta influência das épocas de colheita no desenvolvimento particular de cada vegetal e na produção dos compostos secundários.

Comparando-se o desempenho das três espécies, verifica-se que *L. lasiocalycina* apresentou as maiores médias em todas as variáveis, exceto na área foliar específica e rendimento de óleo, não diferindo estatisticamente de *L. insignis* quanto ao diâmetro do colo, massa seca do caule e razão peso foliar (Tabela 1). Na área foliar específica *L. thymoides*

obteve a maior média ($1,40^{-3} \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$), enquanto que no rendimento de óleo essencial a espécie *L. insignis* foi a que se destacou, com 119 L ha^{-1} (Tabela 1).

Tabela 1 - Altura (ALT), diâmetro do caule (DC), massa fresca e seca das folhas + inflorescências (MFFI/MCFI), dos caules (MFC/MSC), área foliar específica (AFE), razão peso foliar (RPF) e rendimento de óleo essencial (RO) de plantas cultivadas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.

Espécies	Variáveis							
	ALT (m)	DC (mm)	MFFI (g)	MSFI (g)	MSC (g)	AFE ($\text{dm}^2 \text{ g}^{-1}$)	RPF (g g^{-1})	RO (L ha^{-1})
<i>L. thymoides</i>	1,00 c	23,09 b	238,63 b	91,50 b	106,88 b	$1,40^{-3}$ a	$1,70^{-4}$ b	94,35 b
<i>L. insignis</i>	1,46 b	28,99 a	286,90 b	96,01 b	157,17 a	$1,16^{-3}$ b	$2,85^{-3}$ a	119,0 a
<i>L. lasiocalycina</i>	1,60 a	26,72 a	390,64 a	146,28 a	185,00 a	$1,16^{-3}$ b	$3,44^{-3}$ a	83,68 b

Médias seguidas por letras distintas, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t-LSD a 5% de significância.

Os resultados corroboram com os obtidos por Oliveira (2014), principalmente quanto às diferenças morfológicas das espécies: *L. lasiocalycina* se destacou pelo seu maior porte, volume da copa, altura da planta, tamanho das folhas e, conseqüentemente, maior produção de biomassa foliar, se assemelhando a *L. insignis*; já *L. thymoides* apresentou menor porte e morfologia característica, com folhas menores, porém em maior quantidade que as demais. Essas características das folhas de *L. thymoides* foram confirmadas pela sua maior área foliar específica (Tabela 1), indicando ser a espécie que apresenta a maior área fotossintética disponível (BENINCASA, 2003). A área foliar específica (AFE) relaciona também componentes morfoanatômicos (área da folha e biomassa seca da própria folha), assim esse pode ser indiretamente um indicativo da espessura da lâmina foliar, permitindo a estimativa da proporção relativa da superfície assimilatória e dos tecidos de sustentação e condutores da folha (BENINCASA, 2003) sugerindo, portanto, que as folhas de *L. thymoides* são mais densas e espessas.

As espécies *L. insignis* e *L. thymoides* apresentaram as maiores médias para teor (2,85 e 3,02%, respectivamente) e rendimento ($119,00$ e $94,35 \text{ L ha}^{-1}$, respectivamente) de óleo essencial, comprovando que no cultivo de plantas medicinais apenas a produção de biomassa não é o suficiente para selecionar uma espécie como mais promissora, e sim a quantidade e qualidade dos seus princípios ativos (Tabelas 1 e 3). Oliveira (2014) avaliando a produção de óleo essencial dessas três espécies também pôde observar essa proporção, porém obteve

teores de óleo inferiores: *L. insignis* (0,99%), *L. lasiocalycina* (0,58%) e *L. thymoides* (1,01%). Já Castro (2005) verificou teores de óleo essencial semelhantes aos obtidos no presente trabalho, 2,85% nas folhas de *L. insignis* e 1,98% para *L. thymoides*. Nos trabalhos realizados por Silva (2012) *L. thymoides* obteve valores que variaram de 2,14 a 2,93%.

Essas diferenças na produção de óleos essenciais podem estar associadas a diversos fatores, como os de ordem genética e os fatores ambientais, como temperatura, incidência solar, disponibilidade hídrica, horário de coleta, nutrição, época de colheita, secagem, armazenamento, entre outros, podendo estes apresentarem correlações entre si (GOBBONETO; LOPES, 2007; BRASIL, 2006). Na espécie *L. alba*, por exemplo, diversos são os estudos que revelaram variações quantitativas na produção de óleo essencial, como o aumento do teor e rendimento, e qualitativas, como alterações na composição química do óleo essencial (SANTOS; INNECCO, 2004; TELES et al., 2012; EHLERT et al., 2013).

Quanto à época de colheita, foi constatado que as plantas da primeira época apresentaram maior desenvolvimento vegetativo e rendimento de óleo em relação às da segunda época, exceto na razão peso foliar e no diâmetro do caule (Tabela 2). Este maior desenvolvimento das plantas pode estar associado à maior duração da primeira época de cultivo (210 dias) em relação ao segundo (rebrotar) (150 dias). De acordo com May et al. (2008) maiores intervalos entre cortes proporcionaram maior altura da planta e maior massa fresca da parte aérea e, conseqüentemente, maior produção de óleo essencial, visto que o rendimento de óleo e a massa fresca apresentam correlação positiva. Assim, a maior produção de folhas na colheita pode levar à maior rendimento de óleo, pois nela encontram-se as estruturas secretoras responsáveis pelo acúmulo desta substância (FIGUEIREDO et al., 2009).

Tabela 2 - Altura (ALT), diâmetro do caule (DC), massa fresca e seca das folhas + inflorescências (MFFI/MCFI), massa seca dos caules (MSC), área foliar específica (AFE), razão peso foliar (RPF) e rendimento de óleo essencial (RO) de plantas cultivadas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer submetidas a duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.

Colheita	Variáveis							
	ALT (m)	DC (mm)	MFFI (g)	MSFI (g)	MSC (g)	AFE (m ² g ⁻¹)	RPF (g g ⁻¹)	RO (L ha ⁻¹)
Época 1	1,63 a	24,24 b	407,50 a	142,20 a	208,56 a	1,47 ⁻³ a	1,36 ⁻³ b	112,30 a
Época 2	1,08 b	28,28 a	203,28 b	80,33 b	90,81 b	1,10 ⁻³ b	2,96 ⁻³ a	85,71 b

Médias seguidas por letras distintas, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t-LSD a 5% de significância.

Verificou-se também que a primeira época promoveu as maiores médias no volume da copa e massa fresca do caule das três espécies, tendo *L. lasiocalycina* apresentado os melhores resultados (3,59 m³ e 576,43g, respectivamente), não apresentando diferença significativa em relação a *L. insignis* para massa fresca do caule (526,77g). Entretanto, no teor de óleo observou-se efeito contrário, onde a segunda época proporcionou os maiores teores, destacando-se as espécies *L. insignis* e *L. thymoides* com as maiores médias (2,85 e 3,02 %, respectivamente) (Tabela 3).

Tabela 3 - Volume da copa (VLC), massa fresca do caule (MFC) e teor de óleo essencial (TO) de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer submetidas a duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.

Espécies	Variáveis					
	VLC (m ³)		MFC (g)		TO (%)	
	Época 1	Época 2	Época 1	Época 2	Época 1	Época 2
<i>L. thymoides</i>	1,13 aC	0,36 bA	324,62 aB	121,53 bA	1,66 bB	3,02 aA
<i>L. insignis</i>	1,79 aB	0,41 bA	526,77 aA	186,90 bA	2,27 bA	2,85 aA
<i>L. lasiocalycina</i>	3,59 aA	0,72 bA	576,43 aA	230,70 bA	1,00 aC	1,35 aB

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúscula na coluna, diferem entre si pelo teste t-LSD, a 5% de significância.

Meira et al. (2011) obtiveram resultados semelhantes ao avaliar o crescimento e teor de óleo essencial de *Melissa officinalis* sob o efeito da época de colheita, os mesmos autores observaram redução na produção de teor de óleo em colheitas realizadas com maior tempo. Figueiredo et al. (2009) ao avaliarem épocas de colheita na produção de fitomassa e rendimento de óleo essencial em *L. sidoides*, verificaram que o teor de óleo essencial decresceu linearmente com o aumento do número de dias após a colheita, indicando que plantas jovens apresentam maior teor, porém menor produção de fitomassa. Essa relação também foi verificada por Ming (1998), em trabalhos com *L. alba*, onde observou que o teor de óleo diminui a medida em que as colheitas eram realizadas em intervalos mais longos, em relação à época de plantio. Para Hartmann (1996) essas observações podem ser devidas o fato de que tecidos mais novos geralmente possuem maior taxa biossintética de metabólitos, tais como os óleos essenciais.

O menor teor de óleo essencial (mL g⁻¹) obtido na primeira época pode ser justificada pelas condições climáticas do mês em que foi realizada as avaliações, julho de 2014 (inverno), quando se verificou menor temperatura média, maior umidade e pluviosidade do ano, com 21,90 °C, 87,39% e 122 mm, respectivamente, com chuvas bem distribuídas ao

longo do mês (Anexo 2). Estes fatos podem ter levado a perda de substâncias hidrossolúveis das folhas por lixiviação, o que pode conduzir à perda de alcalóides, glicosídeos e até mesmo óleos voláteis (EVANS, 1996; GOOBO-NETO; LOPES, 2007). Em meses mais quentes, como foi o de dezembro de 2014 (26 °C), época da segunda colheita, com menor precipitação (102 mm) e chuvas mais concentradas, as plantas têm a possibilidade de acionar seus mecanismos de defesa contra a perda de água, como o fechamento estomático, produzindo assim, uma maior quantidade de óleos essenciais (GOOBO-NETO; LOPES, 2007; MORAIS, 2009).

Quanto aos tratamentos de adubação os resultados demonstraram incremento no diâmetro do caule, massa fresca e seca da parte aérea e rendimento de óleo nas plantas adubadas com esterco associado ao NPK, em relação às cultivadas apenas com esterco e a testemunha, para as três espécies estudadas (Tabela 4). Entretanto, somente foi possível observar diferença estatística no diâmetro do caule, massa fresca e seca das folhas e inflorescências em *L. thymoides* e massa fresca da parte aérea e massa seca do caule para *L. lasiocalycina*. Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos realizados por Oliveira Júnior et al. (2005) que demonstraram que a aplicação de adubação mista (orgânica/mineral) e sem calagem, na produção de mudas de arnica (*Lychnophora ericoides*), favoreceu o alto rendimento, além de produção satisfatória de biomassa fresca de parte aérea. Montanari et al. (2004) ao testar adubação orgânica (esterco bovino 20 L m⁻²), mineral (N-P-K 4-14-8 600 kg ha⁻¹) e a adubação orgânica/mineral nas mesmas proporções anteriores, observaram influência nas características morfológicas de *L. alba*, como número de ramificações, altura da planta e diâmetro do caule, sendo recomendado pelos autores o uso tanto da adubação mista (esterco+NPK) como orgânica no aumento da produtividade da espécie. Sodré et al. (2013), ao avaliarem o efeito de diferentes doses de esterco bovino (0, 1, 2, 4, 8 kg m⁻²), em relação ao fertilizante mineral (30 g m⁻² de NPK 4-14-8) em melissa (*Melissa officinalis*), também verificou que a espécie responde à adubação orgânica e à adubação mineral para produção de biomassa, no entanto, o teor de óleo essencial não foi influenciado, como visto no presente trabalho.

Tabela 4 - Diâmetro do caule (DC), massa fresca e seca das folhas + inflorescências (MFFI/MSFI), dos caules (MFC/MSFC) e rendimento de óleo essencial (RO) de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer cultivadas sob adubação orgânica e mineral. Feira de Santana-BA, UEFS, 2014.

Tratamento	DC(mm)	MFFI(g)	MFC(g)	MSFI(g)	MSC(g)	RO(L ha ⁻¹)
<i>L. thymoides</i>						
Testemunha	19,36 b	179,37 b	163,00 a	67,47 b	76,25 a	69,75 a
Esterco	22,58 b	201,87 b	204,32 a	84,17 b	101,56 a	79,23 a
NPK+Esterco	27,31 a	334,63 a	301,93 a	122,86 a	142,81 a	114,00 a
<i>L. insignis</i>						
Testemunha	29,24 a	248,28 a	320,26 a	90,21 a	150,88 a	104,25 a
Esterco	27,74 a	283,40 a	360,09 a	92,73 a	153,43 a	101,27 a
NPK+Esterco	30,00 a	329,01 a	390,16 a	105,01 a	167,19 a	105,45 a
<i>L. lasiocalycina</i>						
Testemunha	23,61 a	360,53 b	345,70 b	133,33 a	169,87 b	71,20 a
Esterco	26,54 a	344,52 b	358,00 b	134,11 a	149,12 b	65,63 a
NPK+Esterco	30,00 a	466,86 a	507,01 a	171,49 a	236,03 a	98,06 a

Médias seguidas por letras distintas, na mesma coluna, para cada espécie, diferem entre si pelo teste t-LSD a 5% de significância.

No cultivo de plantas, a adição de nutrientes, particularmente nitrogênio, é geralmente empregada no aumento da produção de biomassa, influenciando no metabolismo primário e a produção de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Teles et al. (2014) avaliando a adubação orgânica (composto orgânico - 10 t ha⁻¹) e mineral (N-P-K 80-200-80 kg ha⁻¹) em *L. organoides* concluíram que para a produção de biomassa e de óleo essencial a aplicação de fertilizantes não se faz necessária, apresentando valores significativamente iguais a testemunha. Assim como Santos; Innecco (2004), que verificaram que as produções de massa seca foliar e óleo essencial em folhas de *L. alba* não foram influenciadas pela adubação orgânica.

Composição química do óleo essencial

A análise química do óleo essencial da espécie de *L. insignis* possibilitou a identificação de 30 constituintes, correspondendo entre 94,03 e 95,58% da composição do óleo em todos os tratamentos e épocas avaliados, divididos em monoterpenos (84,20-86,51%) e sesquiterpenos (7,87-9,83%). Três compostos foram classificados como majoritários: E-ocimenona (23,15-27,25%), limoneno (12,17-15,40%), β-mirceno (12,39-13,45%), todos monoterpenos. Foram detectados apenas traços de α-pineno, β-pineno, hidrato de cis-

sabineno, terpinen-4-ol, timol, éter metílico, timol e β -bisaboleno nas amostras de todos os tratamentos avaliados (Tabela 5).

Para *L. lasiocalycina* foram identificados 28 compostos, correspondendo entre 96,20 e 96,82% dos compostos identificados, constituídos de monoterpenos (79,26-82,95%) e sesquiterpenos (13,65-16,98%). Os compostos majoritários foram E-ocimenona (22,82-29,43%) e β -mirceno (27,36-31,36%), todos monoterpenos. Apenas traços de α -pineno, Z- β -ocimeno, crisanthenona, α -terpineol e timol foram detectados nas amostras de todos os tratamentos (Tabela 6).

A análise do óleo de *L. thymoides* permitiu a identificação de 47 compostos, referente a 75,21 a 86,02% da sua composição, formado pela mistura de sesquiterpeno (49,90-65,42%) e monoterpenos (17,43-25,65%). Prevalendo como majoritários E-cariofileno (22,13-27,62%) e óxido de cariofileno (4,17-11,90%), ambos sesquiterpenos. Entre os monoterpenos o 1-8 cineol foi preponderante (4,08-7,96). Foram detectados apenas traços de α -felandreno, E- β -Ocimeno, hidrato de cis-sabineno, hidrato de trans-sabineno, trans-verbenol, α -terpineol e carvacrol em todas as amostras avaliadas (Tabela 7).

Resultados semelhantes quanto aos constituintes majoritários de *L. insignis* foram verificados por Castro (2005) que obteve o limoneno em maiores valores. Oliveira (2014) detectou o composto timol (63,27%) e E-ocimenona (12,02%) como majoritários, dependendo da época de colheita, sendo que no presente trabalho apenas traços de timol foram encontrados. Para *L. thymoides*, resultados semelhantes foram encontrados por Silva (2012) e Oliveira (2014). Castro (2005) constatou que o limoneno e 1,8 - cineol foram os compostos majoritários dessa espécie. Quanto a *L. lasiocalycina* resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira (2014), obtendo E-ocimenona (29,90%) e β -mirceno (12,78-17,58%) como compostos majoritários.

A composição e concentração dos compostos químicos no óleo essencial dependem do controle genético (fatores fixos) e dos estímulos promovidos por fatores do ambiente (fatores variáveis), mudando continuamente com o tempo e o espaço, como a temperatura, insolação e época do ano (LÓPEZ, 2006; EHLERT et al., 2013). Contudo, verifica-se que nas três espécies de *Lippia* estudadas foram mantidas a mesma composição básica dos constituintes dos óleos essenciais para as duas épocas de colheita e tratamentos de adubação utilizados, assim como os compostos majoritários. Apesar de não ter ocorrido diferença qualitativa na composição química das espécies, pode-se observar alterações quantitativas no conteúdo entre os componentes (Tabela 5, 6 e 7).

Tabela 5 - Porcentagem de constituintes encontrados no óleo essencial de folhas de *Lippia insignis* Moldenke cultivadas e submetidas a dois tipos de adubação e duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

Composto	IK _{lit}	IK _{calc}	E (%)		T (%)		E+NPK (%)		Média
			Época 1	Época 2	Época 1	Época 2	Época 1	Época 2	
α -tujeno	930	927	0,24	0,27	0,24	0,26	0,25	0,26	0,25
α -pineno	939	935	t	t	t	t	t	t	t
sabineno	975	973	t	0,12	0,08	0,18	t	0,10	0,08
β -pineno	977	977	t	t	t	t	t	t	t
β-mirceno	990	989	12,69	13,37	12,79	12,39	12,92	13,45	12,94
α -terpineno	1017	1016	1,16	1,17	1,18	1,05	1,24	1,16	1,16
p-cimeno	1026	1024	7,59	6,34	7,25	7,39	7,19	6,65	7,07
limoneno	1029	1029	15,20	12,69	15,16	12,27	15,40	12,17	13,82
E- β -ocimeno	1050	1048	1,84	1,58	1,85	1,42	1,91	1,47	1,68
γ -terpineno	1059	1059	7,05	8,41	7,36	6,96	7,38	7,93	7,52
hidrato de cis-sabineno	1070	1068	t	t	t	t	t	t	t
terpinoleno	1088	1089	0,18	0,13	0,10	0,19	t	0,20	0,13
linalol	1096	1096	2,72	1,87	3,02	2,56	2,24	1,89	2,38
ipsdienol	1145	1144	0,76	0,98	0,80	0,55	0,88	0,87	0,81
mircenona	1149	1151	5,61	4,61	6,35	10,93	5,59	6,80	6,65
terpinen-4-ol	1177	1179	t	t	t	t	t	t	t
α -terpineol	1188	1188	0,56	0,56	0,55	0,53	0,56	0,53	0,55
Z-ocimenona	1229	1231	5,83	4,43	6,32	3,89	6,77	4,60	5,31
timol, éter metílico	1235	1237	t	t	t	t	t	t	t
E-ocimenona	1238	1240	24,93	27,25	23,15	24,90	23,99	26,84	25,18
timol	1290	1290	t	t	t	t	t	t	t
carvacrol	1298	1297	0,17	0,43	0,24	0,38	0,15	0,41	0,30
óxido de piperitenona	1368	1368	t	t	t	t	t	0,10	0,02
E-cariofileno	1419	1420	1,92	2,40	2,02	2,47	1,70	2,33	2,14
α -humuleno	1454	1455	0,54	0,69	0,56	0,70	0,46	0,68	0,61
germacreno D	1485	1481	1,92	2,31	2,07	2,14	1,82	2,15	2,07
biciclogermacreno	1500	1496	2,43	2,55	2,70	2,25	2,43	2,34	2,45
β -bisaboleno	1505	1504	t	t	t	t	t	t	t
espatulenol	1578	1577	1,45	1,51	1,34	1,78	1,22	1,62	1,49
óxido de cariofileno	1583	1583	0,33	0,37	0,31	0,42	0,25	0,40	0,35
Total de compostos identificados			95,08	94,03	95,43	95,58	94,32	94,90	94,89
Monoterpenos			86,51	84,20	86,43	85,83	86,45	85,39	85,79
Sesquiterpenos			8,57	9,83	9,00	9,75	7,87	9,51	9,10

IK_{lit} - Índice de Kovat's da literatura; IK_{calc} - Índice de Kovat's calculado; E- adubação com estercos; T- testemunha; E+NPK- adubação com estercos e NPK.

Tabela 6 - Porcentagem de constituintes encontrados no óleo essencial de folhas de *Lippia lasiocalycina* Cham. cultivadas e submetidas a dois tipos de adubação e duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

Composto	IK _{lit}	IK _{calc}	E (%)		T (%)		E+NPK (%)		Média
			Época	Época	Época	Época	Época	Época	
			1	2	1	2	1	2	
α-pineno	939	939	t	t	t	t	t	t	t
sabineno	975	975	1,16	1,09	1,12	1,16	1,09	1,21	1,14
β-mirceno	990	991	30,52	27,36	29,02	29,44	29,23	31,36	29,49
p-cimeno	1026	1026	6,88	4,41	6,67	4,86	5,70	4,85	5,56
limoneno	1029	1031	0,20	0,34	t	0,33	t	0,34	0,20
Z-β-ocimeno	1037	1038	t	t	t	t	t	t	t
E-β-ocimeno	1050	1049	1,61	1,45	1,56	1,48	1,76	1,52	1,56
γ-terpineno	1059	1061	2,21	3,92	2,15	3,75	2,30	4,10	3,07
linalol	1096	1098	1,12	1,27	1,36	1,29	1,31	1,20	1,26
crisanthenona	1127	1125	t	t	t	t	t	t	t
ipsdienol	1145	1146	0,30	0,56	0,40	0,53	0,26	0,53	0,43
mircenona	1149	1153	3,88	4,90	4,49	5,32	4,18	4,11	4,48
borneol	1169	1163	1,25	1,41	1,37	1,40	1,43	1,33	1,37
α-terpineol	1188	1190	t	t	t	t	t	t	t
Z-ocimenona	1229	1231	5,98	3,99	5,87	3,69	6,37	4,65	5,09
E-ocimenona	1238	1241	22,82	29,43	25,51	28,24	25,18	26,00	26,20
geraniol	1252	1255	0,21	0,60	0,37	0,52	0,41	0,56	0,45
geranial	1267	1271	0,54	0,76	0,62	0,70	0,76	0,82	0,70
timol	1290	1292	t	t	t	t	t	t	t
β-elemeno	1390	1393	0,58	0,40	0,53	0,39	0,57	0,40	0,48
E-cariofileno	1419	1423	5,32	4,79	4,66	4,40	4,92	4,54	4,77
α-guaieno	1439	1442	3,55	2,89	2,93	2,62	3,10	2,70	2,97
α-humuleno	1454	1457	1,85	1,66	1,66	1,53	1,73	1,55	1,66
germacreno D	1485	1483	0,55	0,66	0,51	0,57	0,61	0,62	0,59
biciclogermacreno	1500	1498	0,56	1,02	0,52	0,98	0,68	1,01	0,80
α-bulneseno	1509	1508	1,73	1,35	1,47	1,24	1,68	1,34	1,47
espatulenol	1578	1580	1,68	1,25	1,68	1,19	1,53	1,14	1,41
óxido de cariofileno	1583	1585	1,73	1,20	1,81	1,12	1,39	0,98	1,37
Total de compostos identificados			96,24	96,68	96,28	96,72	96,20	96,82	96,50
Monoterpenos			79,26	81,88	81,03	83,07	80,56	82,95	81,47
Sesquiterpenos			16,98	14,80	15,25	13,65	15,64	13,87	15,03

IK_{lit} - Índice de Kovat's da literatura; IK_{calc} - Índice de Kovat's calculado; E- adubação com estercor; T- testemunha; E+NPK- adubação com estercor e NPK.

Tabela 7 - Porcentagem de constituintes encontrados no óleo essencial de folhas e inflorescências de *Lippia thymoides* Martius & Schauer cultivadas e submetidas a dois tipos de adubação e duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

Composto	IK _{lit}	IK _{calc}	E (%)		T (%)		E+NPK (%)		Média
			Época	Época	Época	Época	Época	Época	
			1	2	1	2	1	2	
α -tujeno	930	928	0,14	0,11	0,16	t	t	t	0,07
α -pineno	939	936	2,17	2,06	2,25	2,24	1,45	1,76	1,99
canfeno	954	951	0,31	0,26	0,99	1,90	0,80	1,12	0,90
sabineno	975	975	2,84	3,18	2,87	3,14	1,63	2,29	2,66
β -pineno	977	979	1,24	1,22	1,30	1,35	0,82	1,00	1,16
β -mirceno	990	989	0,50	0,56	0,61	0,80	0,39	0,59	0,58
α -felandreno	1002	1004	t	t	t	t	t	t	t
α -terpineno	1017	1017	0,21	0,18	0,20	0,12	t	t	0,12
p-cimeno	1026	1025	1,43	0,48	1,86	0,42	1,43	0,40	1,00
limoneno	1029	1031	3,12	2,83	3,20	3,10	2,49	2,61	2,89
1,8-cineol	1031	1034	7,96	6,96	7,74	6,59	4,08	4,36	6,28
E- β -Ocimeno	1050	1048	t	t	t	t	t	t	t
γ -terpineno	1059	1060	0,73	0,72	0,92	0,56	0,59	0,64	0,69
hidrato de cis-sabineno	1070	1067	t	t	t	t	t	t	t
terpinoleno	1088	1088	t	t	0,17	0,30	t	t	0,08
hidrato de trans-sabineno	1096	1097	t	t	t	t	t	t	t
trans-pinocarveol	1139	1140	0,22	0,14	0,30	0,18	0,09	0,12	0,18
trans-verbenol	1144	1142	t	t	t	t	t	t	t
ipsdienol	1145	1145	0,20	0,20	0,24	0,30	0,10	0,18	0,20
borneol	1169	1166	0,59	0,54	1,87	3,38	1,39	1,99	1,63
terpinen-4-ol	1177	1177	0,79	0,61	0,78	0,67	0,39	0,40	0,61
α -terpineol	1188	1189	t	t	t	t	t	t	t
mirtenol	1195	1195	0,10	t	0,21	0,28	t	t	0,10
carvacrol	1298	1298	t	t	t	t	t	t	t
δ -elemeno	1338	1339	0,07	0,25	0,04	0,18	t	0,20	0,12
α -cubebeno	1348	1352	0,85	0,70	0,77	0,54	0,73	0,58	0,70
α -copaeno	1377	1379	3,86	2,85	3,40	2,12	3,37	2,31	2,99
β -bourboneno	1388	1387	0,45	0,31	0,37	t	0,40	0,20	0,29
β -cubebeno	1388	1391	0,34	0,35	0,33	0,16	0,31	0,33	0,30
β -elemeno	1388	1392	0,29	0,36	0,30	0,36	0,33	0,21	0,32
α -gurjuneno	1409	1411	0,40	0,36	0,35	0,27	0,37	0,31	0,34
E-cariofileno	1419	1426	27,49	27,62	23,44	22,13	26,22	25,39	25,38
γ -elemeno	1436	1435	0,11	0,17	0,09	0,11	0,15	0,16	0,13
trans-muurola-3,5-dieno	1453	1453	0,42	0,69	0,41	0,48	0,45	0,54	0,50
α -humuleno	1454	1457	2,44	2,66	2,73	3,24	2,77	3,14	2,83
allo-aromadendreno	1460	1464	0,80	0,65	0,67	0,49	0,76	0,56	0,66
germacreno D	1485	1485	4,24	8,19	3,92	5,82	4,84	7,78	5,80
trans-muurola-	1493	1493	0,92	1,12	0,91	0,83	0,87	1,03	0,95

4(14),5-dieno									
α -muuroloeno	1500	1499	0,21	0,58	0,57	0,17	0,27	0,30	0,35
cupareno	1505	1507	2,19	1,42	1,80	1,08	2,62	1,46	1,76
β -bisaboleno	1505	1509	0,58	0,74	0,79	0,74	0,26	0,60	0,62
cubebol	1515	1516	0,41	0,55	0,39	0,45	0,52	0,66	0,50
cis-calameneno	1529	1526	5,54	4,37	4,71	3,52	5,21	4,01	4,56
trans-cadina-1,4-dieno	1534	1535	0,38	0,75	0,45	0,76	0,46	0,78	0,60
germacreno B	1561	1561	1,65	2,66	1,61	1,83	1,98	2,70	2,07
óxido de cariofileno	1583	1588	9,36	4,84	9,05	4,17	11,90	4,99	7,39
α -muurolol	1646	1648	0,53	0,67	0,55	0,49	0,66	0,65	0,59
Total de compostos identificados			86,02	82,86	83,27	75,21	81,05	76,31	80,85
Monoterpenos			22,51	20,03	25,65	25,31	18,63	17,43	21,12
Sesquiterpenos			63,51	62,83	57,62	49,90	65,42	58,88	59,73

IK_{lit} - Índice de Kovat's da literatura; IK_{calc} - Índice de Kovat's calculado; E- adubação com esterco; T- testemunha; E+NPK- adubação com esterco e NPK.

Considerando apenas os constituintes majoritários das três espécies, não se verificou diferenças significativas em relação aos tratamentos de adubação, porém para a época de colheita foram detectadas diferenças para alguns compostos (Apêndice C). A primeira época favoreceu a produção do constituinte limoneno (15,25%) em relação à segunda (12,36%) em *L. insignis*; em *L. thymoides* a primeira época de cultivo favoreceu a produção de óxido de cariofileno (10,1%) em detrimento a segunda época (rebrotada) (4,66%). Já para a espécie *L. lasiocalycina* o constituinte E-ocimenona teve uma maior produção na segunda época de cultivo, com 27,89% (Tabela 8).

Resultados semelhantes foram obtidos por Santos; Innecco (2004) onde a produção de limoneno em *L. alba* não sofreu efeito da adubação orgânica, em nenhuma das duas colheitas realizadas. Avaliando o efeito da adubação orgânica e mineral em *L. origanoides*, Teles et al. (2014) observaram variações quantitativas na composição química do óleo essencial (carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno, β -cariofileno e timol), sem diferenças significativas, não sendo detectada nenhuma variação qualitativa, como o surgimento de uma nova substância ou o desaparecimento de outra. Luz et al. (2014) também constataram que a composição química do óleo essencial de manjeriço não diferiu entre as épocas de cultivo e com o tipo de adubação, orgânica (3 kg m² de cama-de-frango) e mineral (NPK 4-30-16).

Tabela 8 - Porcentagem relativa média dos componentes majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer em função de duas épocas de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

Colheita	<i>L. insignis</i>		
	β -mirceno	limoneno	E-ocimenona
Época 1	12,72 a	15,25 a	24,02 a
Época 2	13,03 a	12,36 b	26,07 a
CV(%)	5,07	7,81	11,40
Colheita	<i>L. lasiocalycina</i>		
	β -mirceno	E-ocimenona	
Época 1	29,73 a	24,56 b	
Época 2	29,38 a	27,89 a	
CV(%)	5,75	10,42	
Colheita	<i>L. thymoides</i>		
	E -cariofileno	óxido de cariofileno	
Época 1	25,71 a	10,10 a	
Época 2	25,04 a	4,66 b	
CV(%)	15,88	30,38	

Médias seguidas por letras distintas, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t-LSD a 5% de significância, para cada espécie.

Uma hipótese que justificaria essas observações seria que os metabólitos secundários derivados do mevalonato, como é o caso dos constituintes majoritários das espécies de *Lippia*, parecem não mostrar correlações consistentes com mudanças na disponibilidade de nitrogênio, fósforo ou potássio (GERSHENZON, 1984; GOOBO-NETO; LOPES, 2007), não variando em relação aos tratamentos de adubação testados.

Castro et al. (2002) avaliando diferentes épocas de colheita obtiveram os mesmos compostos majoritários em *L. alba*, porém seus resultados sugeriram que tanto a constituição química (citril, β -mirceno, β -cariofileno e β -elemeno) como a porcentagem relativa dos óleos foram alteradas em função das épocas de colheita testadas.

Silva (2012) trabalhando com *L. thymoides* observou que a época de colheita influenciou quantitativamente o constituinte majoritário (E-cariofileno) variando entre 17 e 26 %. Essa variação podem estar relacionada com a dinâmica de crescimento e desenvolvimento nos estádios fenológicos das plantas, onde as espécies medicinais e aromáticas apresentam relativamente alterações bioquímicas e fisiológicas capazes de modificar a elaboração de substâncias biologicamente ativas, tanto qualitativamente como quantitativamente (TAIZ; ZEIGER, 2013) influenciando não só no rendimento, como já citado, mas na qualidade dos óleos essenciais de forma específica para cada espécie.

O composto β -mirceneno, encontrado em quantidade significativa nas espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina*, é um monoterpene acíclico com ampla atividade biológica, tendo como exemplo a ação analgésica potencial observada no chá de capim limão (utilizado largamente na medicina popular brasileira, para tratar distúrbios gastrointestinais e como sedativo e antipirético), sendo comprovada em roedores, onde o mirceneno foi identificado como o princípio ativo responsável por este efeito (FIOCRUZ, 2015). O limoneno, composto majoritário em *L. insignis*, é um monoterpene monocíclico com diversas ações biológicas: inseticida, repelentes, atrativa de inimigos naturais, além de atividades fitotóxicas comprovadas em óleos essenciais de inúmeras espécies (IBRAHIM et al., 2001). Já o E-cariofileno, composto majoritário do óleo essencial de *L. thymoides* é um sesquiterpene, e está relacionada à defesa contra insetos herbívoros ou à competição com outras plantas em seu habitat (SILVA, 2012). A presença de derivados do cariofileno tem importância ecológica, pois são repelentes naturais de formigas cortadeiras, sendo óxido de cariofileno o mais efetivo (HARBORNE, 1991; MARQUES et al., 2009).

Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que a composição química dos óleos essenciais é bem diversa, principalmente da *L. thymoides*, apresentando uma variedade de compostos monoterpenos e sesquiterpenos, que oscilam frequentemente quanto a sua quantidade, independente da época de colheita e tratamento de adubação. As espécies *L. insignis* e *L. lasiocalycina* apresentam semelhanças em relação à composição do óleo e componentes majoritários, onde os óleos em sua maioria são compostos por monoterpenos, diferenciando-se do óleo essencial de *L. thymoides*, composto em sua maioria por sesquiterpenos. Essa particularidade na composição química do óleo essencial das espécies de *Lippia* também foi verificada por Silva (2012) e Oliveira (2014).

Os resultados obtidos demonstram a importância de se conhecer a fitoquímica das espécies, bem como suas respostas às práticas de cultivo e época de colheita sobre o crescimento e desenvolvimento, e a produção dos compostos químicos de interesse.

CONCLUSÃO

Nas condições de cultivo a adubação mineral (Fórmula NPK 10:10:10) associado a esterco bovino promove maior crescimento e produção de biomassa nas espécies *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*. O teor de óleo não apresentou diferença quanto aos tratamentos de adubação. A poda, seguida da segunda época de cultivo (rebrotas), é recomendável no cultivo das espécies estudadas, visando à produção de óleo essencial. β -mirceneno, limoneno e

E-ocimenona são os componentes majoritários de *L. insignis*; β -mirreno e E-ocimenona os componentes majoritários de *L. lasiocalycina* e E-cariofileno e óxido de cariofileno os componentes majoritários da *L. thymoides*. A época de colheita promove variações quantitativas na composição química dos óleos essenciais das espécies estudadas. As espécies *L. insignis* e *L. thymoides* são as mais promissoras para a produção de óleo essencial nas condições de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.ed. Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2007. 804 p.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plantas Medicinais & Orientações Gerais para o Cultivo: Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília-DF: MAPA/SDC, 2006. 48 p.

CASTRO, D. M.; MING L. C.; MARQUES, M. O. M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. em diferentes épocas do ano e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 2, p. 75-79, 2002.

CASTRO, P. R. **Óleos essenciais de espécies de *Lippia* (Verbenaceae) do semiárido baiano: potencial antimicrobiano e composição química**. 2005. 24f. Monografia (Graduação em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia

EHLERT, P. A. D. et al. Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 72-77, 2013.

EVANS, W. C. Trease and Evans' pharmacognosy. ed.14. London: WB Saunders Company, 1996. 612 p.

FIGUEIREDO, L. S. et al. Efeito da época de colheita na produção de fitomassa e rendimento de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 154-158, 2009.

FIOCRUZ. **Preclinical Toxicological Study of Beta-Myrcene, na Analgesic Substance Obtained from Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*, Stapf)**. Disponível em: <www.dbbm.fiocruz.br/biotech/tox2.html>. Acesso em 27 fev. 2015.

GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In: TIMMERMANN, B. N.; STEELINK, C.; LOEWS, F. A. (Ed.).

Phytochemical Adaptations to Stress. **Recent Advances in Phytochemistry**, New York, v. 18, p. 273-320. 1984.

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

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

HARBORNE, J. B. Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In: HARBORNE, J. B.; TOMAS-BARBERÁN, F. A. (Ed.). **Proceedings of the Phytochemical Society of Europe. Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids**, Oxford: Claredon Press, v. 31. 1991.

HARTMANN T. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 80, p. 177-188. 1996.

IBRAHIM, M. A. et al. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and fitotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests: review. **Agricultural and Food Science in Finland**, Finland, v.10, p.243-259, 2001.

JOULAIN, D.; KÖNIG, W. A. **The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons**. Hamburg: E. B. Verlag, 1998. 658 p.

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, Boa Vista, v. 1, n. 1, p. 19-27, 2006.

LUZ, J. M. Q. et al. Produção de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, n. 1, p. 69 – 80, 2014.

MAY, A. et al. Produtividade da biomassa de melissa em função de intervalo de cortes e doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 312-315, 2008.

MARQUES, C. A. et al. Anatomia e análise de óleo essencial das folhas de *Hennecartia omphalandra* (Monimiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 95-105, 2009.

MEIRA, M. R.; MANGANOTTI, S. A.; MARTINS, E. R. Crescimento e produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. nas condições climáticas de Montes Claros - MG. **Biotemas**, Florianópolis, v. 24, n. 1, p. 1-8, 2011.

MENDEL, K. Rootstock-scion relationships in Shamouti trees on light soil. **Ktavim**, Rehovot, v. 6, p. 35-38, 1956.

MING, L. C. Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br – Verbenaceae. In: MING, L. C.; SCHEFFER, M. C.; CORREA, J. R., C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. (Org.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares – avanços na pesquisa agrônômica**. v. 1, ed.1. Botucatu: CEPLAM/UNESP, 1998. p. 165-191.

MONTANARI, R. M. et al. Phenotypical plasticity of the external morphology in *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britt & Wilson in response to level of luminosity and fertilization. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 3. p. 96-101. 2004.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009, p. 4050-4063.

OLIVEIRA, A. R. M. F. **Morfoanatomia, produção e composição química de óleo essencial e atividade biológica de quatro espécies nativas de *Lippia***. 2014. 1v. 114f. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, Bahia.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C. et al. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 735-739. 2005.

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

SALIMENA, F. R. G. et al. Verbenaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (Org.). **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Studio, 2013. p. 1010-1016.

SALIMENA, F. R. G.; MULGURA, M. *Lippia*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21444>>. Acesso em: 21 fev. 2015.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 182-185, 2004.

SANTOS, A. S. et al. **Informe técnico**: Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Belém: Embrapa Amazônia Ocidental, 2004. 6 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27902/1/com.tec.99.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2015.

SAS Institute INC. **The SAS system for windows v.8e**. Cary: SAS Institute, 2000.

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

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas**: Pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa: UFV, 2000, 135 p.

SODRÉ, A. C. B. et al. Adubação orgânica e mineral em melissa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1. p. 147-152, 2013.

SOUZA, M. F. et al. Calagem e adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em *Lippia citriodora* Kunth. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 401-405, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

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.

TELES, S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 247–252, 2012.

VICCINI, L. F. et al. Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 256, p. 171-178, 2006.

CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que os experimentos foram realizados pode-se concluir que a estaquia é um método adequado para a propagação das espécies *L. insignis*, *L. lasiocalycina* e *L. thymoides*. As espécies estudadas apresentaram características promissoras para o cultivo, como elevada produção de biomassa por planta e expressiva produção de óleo essencial. A poda das plantas auxilia na produção de ramos novos e potencializa a produção de óleo essencial pela planta. No cultivo em campo a adubação mineral e orgânica contribuíram para a maior produção de biomassa e de óleo essencial das espécies, não promovendo interferências qualitativas entre os compostos majoritários de *L. insignis* (β -mirceno, limoneno e E-ocimenona), *L. lasiocalycina* (β -mirceno e E-ocimenona) e *L. thymoides* (E-cariofileno e óxido de cariofileno). As espécies *L. insignis* e *L. thymoides* apresentaram maior potencial para cultivo e produção de óleo essencial condições edafoclimáticas de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

APÊNDICES

Apêndice A - Resumo da análise de variância da porcentagem de sobrevivência (SOB) e enraizamento (ENR), número médio de brotos por estaca (NB), número de folhas por broto (NF), comprimento das brotações (CB) e da maior raiz (CR), massa seca das brotações (MSB) e de raízes (MSR) de mudas de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer em função das concentrações de AIB e tipos de estacas. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

FV	GL	Quadrado Médio							
		SOB ¹	ENR ¹	NB	NF	CB(cm)	CR(cm)	MSB(g)	MSR(g)
<i>L. insignis</i>									
AIB	4	0,06	0,07	0,46	4,11	1,50	2,21	0,002*	0,006**
Estaca (E)	1	0,64**	0,69**	0,93*	0,74	0,23	4,64	0,00	0,00
AIB x E	4	0,02	0,03	0,12	1,70	1,49	8,49**	0,00	0,00
Erro	30	0,07	0,07	0,21	3,86	0,91	1,49	0,00	0,00
CV(%)		19,53	21,85	33,54	33,32	37,94	30,38	31,77	43,91
<i>L. lasiocalycina</i>									
AIB	4	0,22**	0,12	1,69**	27,76**	0,80**	18,61**	0,003*	0,004**
Estaca (E)	1	0,06	0,04	0,55**	12,43**	3,07**	16,90*	0,01**	0,009**
AIB x E	4	0,03	0,03	0,11	0,32	0,18	8,42	0,00	0,00
Erro	30	0,05	0,06	0,07	1,43	0,13	3,68	0,00	0,00
CV(%)		18,17	21,31	28,91	28,45	33,86	41,94	28,49	40,29
<i>L. thymoides</i>									
AIB	4	0,05	0,05	1,58*	-	7,36**	3,64*	0,002**	0,004**
Estaca (E)	1	0,09	0,09	1,23	-	13,01**	2,03	0,00	0,006**
AIB x E	4	0,04	0,04	0,79	-	0,60	1,23	0,00	0,00
Erro	30	0,05	0,05	0,55	-	1,66	1,15	0,00	0,00
CV(%)		16,32	16,32	31,8	-	41,01	22,39	45,01	39,42

*, **: significativo a 5% e 1%, respectivamente. ¹Dados transformados para $\arcsen \sqrt{x/100}$. - : não foi avaliado o número de folhas.

Apêndice B - Resumo da análise de variância das variáveis altura (ALT), diâmetro do colo (DC), volume da copa (VLC), área foliar específica (AFE), razão peso foliar (RPF), rendimento de óleo (RO), massa fresca e seca de folhas + inflorescências (MFFI/MSFI) e caule (MFC/MSFC) e teor de óleo essencial (TO) das plantas do cultivo de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer submetidas a diferentes tipos de adubação e época de colheita. Feira de Santana-BA, UEFS, 2015.

FV	GL	Quadrado Médio					
		ALT	DC	VLC	AFE	RPF ¹	RO
Tratamento (T)	2	1,91 ⁻³	150,21*	0,91	7,79 ⁻⁸	4,86 ⁻⁴	7138,55**
Espécie (E)	2	2,24**	207,29**	11,46**	4,62 ^{-7*}	0,43**	7106,19**
Colheita (C)	1	5,09**	269,63**	46,08**	3,54 ^{-6**}	0,14**	11685,41**
T x E	4	0,04	30,05	0,40	2,34 ⁻⁸	2,06 ⁻³	1636,27
T x C	2	0,01	14,42	0,57	8,68 ⁻⁸	1,32 ⁻³	765,43
E x C	2	0,11	16,19	6,28**	2,04 ⁻⁷	8,43 ⁻³	1046,50
T x E x C	4	0,02	18,46	0,43	7,86 ⁻⁸	2,01 ⁻⁶	135,48
Erro	47	0,04	20,01	0,29	1,20 ⁻⁷	6,05 ⁻³	1358,82
Média		1,34	26,47	1,26	1,25 ⁻³	0,22	99,48
CV(%)		15,18	16,90	42,91	28,22	35,25	37,05

FV	GL	Quadrado Médio				
		MFFI	MFC	MSFI	MSC	TO
Tratamento (T)	2	87639,46**	93353,25**	8365,21*	17716,03**	1,22 ⁻³
Espécie (E)	2	129175,58**	197890,61**	19437,79**	34955,29**	11,55**
Colheita (C)	1	689341,35**	1450448,44**	63257,45**	229172,33**	9,55**
T x E	4	5538,04	7466,78	929,16	3369,73	0,06
T x C	2	13806,37	37575,17*	1863,85	9560,92	0,02
E x C	2	22138,45	37374,55*	763,22	2497,67	1,56**
T x E x C	4	1627,14	2499,31	250,74	1268,50	0,06
Erro	47	8915,54	11451,18	1883,24	3161,30	0,17
Média		299,34	321,17	109,31	147,70	2,05
CV(%)		31,54	33,32	31,47	38,07	19,97

FV- Fonte de variação; GL - Graus de liberdade. *, **: significativo a 5% e 1%, respectivamente. ¹Dados transformados para arcseno $\sqrt{x/100}$.

Apêndice C - Resumo da análise de variância dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Martius & Schauer em função da época de colheita e tipo de adubação. Feira de Sanatana- BA, UEFS, 2015.

FV	GL	Quadrado Médio	
<i>L. insignis</i>			
		β -mirceno	limoneno
			E-ocimenona
Época	1	0,21	54,57 **
Tratamento	2	0,80	0,52
Erro	14	0,42	1,46
Média		12,90	13,75
CV(%)		5,06	8,80
<i>L. lasiocalycina</i>			
		β -mirceno	E-ocimenona
Época	1	0,54	49,77 *
Tratamento	2	3,49	2,86
Erro	12	2,87	7,59
Média		29,47	26,43
CV(%)		5,75	10,42
<i>L. thymoides</i>			
		E -cariofileno	óxido de cariofileno
Época	1	2,7	177,45 **
Tratamento	2	46,67	7,26
Erro	15	16,24	5,03
Média		25,38	7,38
CV(%)		15,88	30,38

FV- Fonte de variação; GL - Graus de liberdade. *, **: significativo a 5% e 1%, respectivamente.

Apêndice D - Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Lippia insignis* Moldenke (identificação dos números correspondentes na tabela 1).

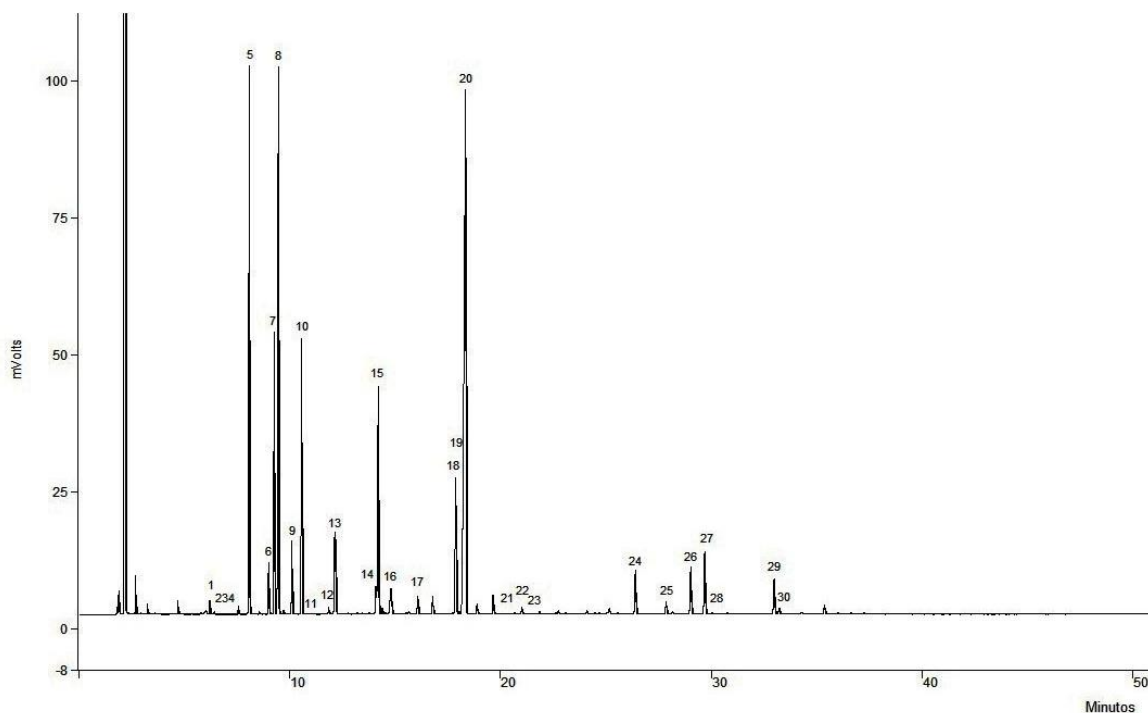


Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de folhas de *L. insignis* Moldenke.

Composto	%	Composto	%
1 α -tujeno	0,24	16 terpinen-4-ol	traços
2 α -pineno	traços	17 α -terpineol	0,56
3 sabineno	traços	18 Z-ocimenona	4,56
4 β -pineno	traços	19 timol, éter metílico	traços
5 β -mirceno	12,15	20 E-ocimenona	29,3
6 α -terpineno	1,21	21 timol	traços
7 p-cimeno	6,81	22 carvacrol	0,2
8 limoneno	13,69	23 óxido de piperitenona	traços
9 E- β -ocimeno	1,73	24 E-cariofileno	1,52
10 γ -terpineno	6,89	25 α -humuleno	0,43
11 hidrato de cis-sabineno	traços	26 germacreno D	1,62
12 terpinoleno	0,18	27 biciclogermacreno	2,11
13 linalol	2,31	28 β -bisaboleno	traços
14 ipsdienol	0,87	29 espatulenol	1,28
15 mircenona	6,87	30 óxido de cariofileno	0,26
		Total de compostos identificados	94,79

Apêndice E - Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Lippia lasiocalycina* Cham. (identificação dos números correspondentes na tabela 2).

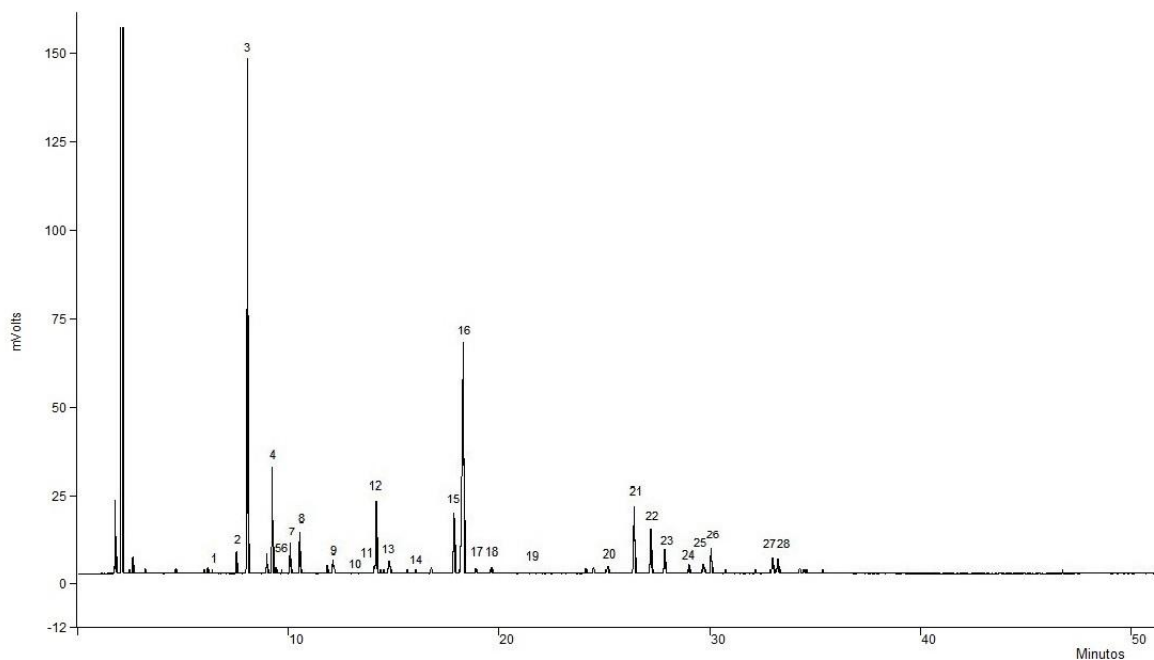


Tabela 2 - Composição química do óleo essencial de folhas de *L. lasiocalycina* Cham.

Composto	%	Composto	%		
1	α -pineno	traços	15	Z-ocimenona	4,52
2	sabineno	1,03	16	E-ocimenona	27,29
3	β -mirceneno	28,99	17	geraniol	0,31
4	p-cimeno	5,68	18	geranial	0,44
5	limoneno	0,29	19	timol	traços
6	Z- β -ocimeno	traços	20	β -elemeno	0,54
7	E- β -ocimeno	1,61	21	E-cariofileno	5,32
8	γ -terpineno	2,36	22	α -guaieno	3,46
9	linalol	1,02	23	α -humuleno	1,81
10	crisanthenona	traços	24	germacreno D	0,63
11	ipsdienol	0,39	25	biciclogermacreno	0,74
12	mircenona	4,71	26	α -bulneseno	1,96
13	borneol	1,39	27	espatulenol	1,31
14	α -terpineol	traços	28	óxido de cariofileno	1,15
		Total de compostos identificados		96,95	

Apêndice F - Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Lippia thymoides* Marth & Schauer (identificação dos números correspondentes na tabela 3).

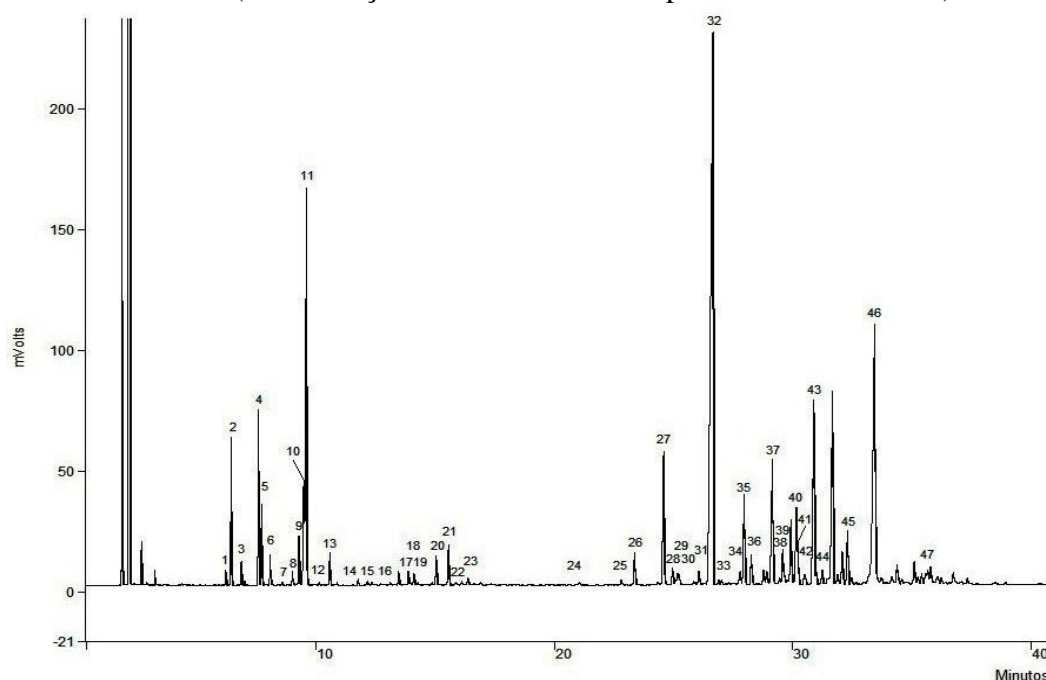


Tabela 3 - Composição química do óleo essencial de folhas de *Lippia thymoides* Marth & Schauer.

Composto	%	Composto	%
1 α -tujeno	0,19	25 δ -elemeno	traços
2 α -pineno	2,00	26 α -cubebeno	0,78
3 canfeno	0,34	27 α -copaeno	3,59
4 sabineno	2,70	28 β -bourboneno	0,45
5 β -pineno	1,19	29 β -cubebeno	0,32
6 β -mirceno	0,47	30 β -elemeno	0,24
7 α -felandreno	traços	31 α -gurjuneno	0,37
8 α -terpineno	0,24	32 E-cariofileno	26,72
9 p-cimeno	0,93	33 γ -elemeno	traços
10 limoneno	2,56	34 trans-muuro-la-3,5-dieno	0,37
11 1,8-cineol	8,19	35 α -humuleno	2,40
12 E- β -Ocimeno	traços	36 allo-aromadendreno	0,80
13 γ -terpineno	0,56	37 germacreno D	3,81
14 hidrato de cis-sabineno	traços	38 trans-muuro-la-4(14),5-dieno	0,93
15 terpinoleno	traços	39 α -muuro-leno	0,20
16 hidrato de trans-sabineno	traços	40 cupareno	2,33
17 trans-pinocarveol	0,29	41 β -bisaboleno	0,60
18 trans-verbenol	traços	42 cubebol	0,42
19 ipsdienol	0,24	43 cis-calameneno	5,83
20 borneol	0,65	44 trans-cadina-1,4-dieno	0,40
21 terpinen-4-ol	0,85	45 germacreno B	1,43
22 α -terpineol	traços	46 óxido de cariofileno	11,59
23 mirtenol	0,17	47 α -muuro-lol	0,54
24 carvacrol	traços		
		Total de compostos identificados	85,69

ANEXOS

Anexo 1 - Análise química do solo da área experimental do Horto Florestal da UEFS, município de Feira de Santana-BA.

pH	P	K	Ca+Mg	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	S	CTC	V
em água	mg/dm ³	Cmol/dm ³									%
6,0	17	0,19	6,0	4,7	1,3	0,00	3,52	0,04	6,23	9,75	64

*Análise realizada no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Cruz das Almas-BA.

Anexo 2 - Médias da temperatura (°C), umidade (%) e pluviosidade (mm) e dias com chuva na região de Feira de Santana – BA, no período de realização do experimento (Dezembro de 2013 a Dezembro de 2014). Feira de Santana, Bahia.

Mês	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)	Umidade (%)	Dias com chuva
dez/13	66,2	26,89	72,73	-
jan/14	19,4	26,37	70,10	5
fev/14	41,6	25,79	77,41	8
mar/14	24,1	26,32	74,90	6
abr/14	19,6	26,56	70,87	7
mai/14	98,9	24,31	83,76	15
jun/14	59,9	22,56	84,35	14
jul/14	122,3	21,90	87,39	20
ago/14	49,5	21,45	84,90	12
set/14	22,1	23,64	80,59	11
out/14	53,2	24,47	78,40	7
nov/14	27,6	25,89	78,50	11
dez/14	109,2	26,02	82,57	9

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

Anexo 3 - Estruturas químicas dos compostos presentes nos óleos essenciais das espécies *Lippia insignis* Moldenke, *Lippia lasiocalycina* Cham. e *Lippia thymoides* Mart & Schauer (SILVA, 2012; OLIVEIRA, 2014).

