



**Universidade Federal do Tocantins
Câmpus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

MARIA APARECIDA ALVES SUGAI

**PROPAGAÇÃO, CRESCIMENTO VEGETATIVO E COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth**

**GURUPI - TO
2016**



**Universidade Federal do Tocantins
Câmpus de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

MARIA APARECIDA ALVES SUGAI

**PROPAGAÇÃO, CRESCIMENTO VEGETATIVO E COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Tarcísio Castro Alves de Barro Leal

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmu

**GURUPI - TO
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S947p Sugai, Maria Aparecida Alves.

Propagação, crescimento vegetativo e composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth. / Maria Aparecida Alves Sugai. – Gurupi, TO, 2016.
94 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Produção
Vegetal, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Tarcísio Castro Alves de Barro Leal

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo

1. Plantas medicinais. 2. Esterco bovino. 3. Biomassa. 4. Compostos químicos.
I. Leal, Tarcísio Castro Alves de Barro (Orientador). II. Universidade Federal do
Tocantins. III. Título.

CDD 635

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

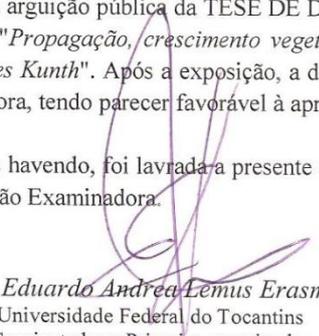
Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Defesa nº 09/2016

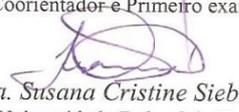
ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MARIA APARECIDA ALVES SUGAI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

Aos 17 dias do mês de Junho do ano de 2016, às 14:00 horas, no(a) Sala 15 do Bala II, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. Tarcísio Castro Alves de Barro Leal do Câmpus Universitário de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins, Prof. Coorientador Dr. Eduardo Andrea Lemus Eraso do Câmpus Universitário de Palmas/Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Saulo de Oliveira Lima do Câmpus Universitário de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins, Dra. Susana Cristine Siebeneichler do Câmpus Universitário de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins, Dr. Hélio Bandeira Barros do Câmpus Universitário de Gurupi/Universidade Federal do Tocantins sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de MARIA APARECIDA ALVES SUGAI, intitulada "*Propagação, crescimento vegetativo e composição química do óleo essencial de Lippia origanoides Kunth*". Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer favorável à aprovação, habilitando-o(a) ao título de Doutora em Produção Vegetal.

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.



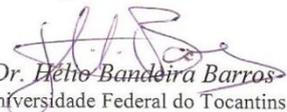
Dr. Eduardo Andrea Lemus Eraso
Universidade Federal do Tocantins
Coorientador e Primeiro examinador



Dra. Susana Cristine Siebeneichler
Universidade Federal do Tocantins
Terceiro examinador



Dr. Saulo de Oliveira Lima
Universidade Federal do Tocantins
Segundo examinador



Dr. Hélio Bandeira Barros
Universidade Federal do Tocantins
Quarto examinador



Dr. Tarcísio Castro Alves de Barro Leal
Universidade Federal do Tocantins
Orientador e presidente da banca examinadora

Gurupi, 17 de Junho de 2016.



Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal

A Deus, por me amparar em todos os momentos da vida.
À minha filha Gabriela Sugai pelo amor, incentivo e paciência.

Ao meu marido e a todos os meus familiares.

DEDICO.

“O homem se torna muitas vezes o que ele próprio acredita que é. Se insisto em repetir para mim mesmo que não posso fazer uma determinada coisa, é possível que acabe me tornando realmente incapaz de fazê-la. Ao contrário, se tenho a convicção de que posso fazê-la, certamente adquirirei a capacidade de realizá-la, mesmo que não a tenha no começo.”

(Mahatma Gandhi)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, por ter me concedido forças, sabedoria e paciência para enfrentar as dificuldades e jamais desistir dos meus objetivos.

Ao meu pai Agrivino Candido Alves e minha mãe Rosa Maria do Nascimento Alves, aos meus irmãos e irmãs, sobrinhos e sobrinhas pelo carinho.

Aos meus sogros Sr^a. Nair Sugai e Sr. Rodrigo Sugai pelo incentivo na minha formação profissional.

À Universidade Federal do Tocantins - UFT, pela licença concedida, para que eu pudesse dedicar integralmente à minha pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Câmpus de Gurupi, pela realização de mais essa etapa na minha vida profissional.

Ao Prof. Dr. Tarcísio Castro Alves de Barro Leal, pela valiosa orientação nessa pesquisa, incentivo e pela confiança a mim atribuído.

Ao Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo, pela coorientação e pelo apoio na estrutura de Laboratório e de Campo.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis, Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal pelo profissionalismo, confiança e amizade.

À Prof^a. Dr^a. Susana Cristine Siebeneichler, pela valorosa contribuição, profissionalismo e amizade.

Aos Prof. Dr. Saulo de Oliveira Lima e Prof. Dr. Hélio Bandeira Barros, pela valorosa contribuição.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pelo conhecimento adquirido e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento, pelo apoio na instalação do sistema de irrigação, pela amizade e experiência acadêmica.

Ao colega Prof. Dr. Rogério Lorençoni, pela amizade e pelo apoio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Luiz Gustavo Guimarães da Universidade Federal de São João Del Rei, pelo auxílio na identificação dos compostos químicos do óleo essencial.

Ao colega Otávio dos Santos Limeira Luz, pela amizade, apoio e contribuição valorosa nas análises de dados.

À Erika A. Menezes Borba, Secretária da Pós-Graduação em Produção Vegetal - UFT, pelo profissionalismo, paciência e carisma.

Ao colega Bruno de Oliveira Garcia e Sr. João Vieira dos Reis, pelo apoio na expedição de campo e pela amizade.

A todos os colegas, Marciane, Thomas, Ismael, Nayara e Sara pela amizade e contribuição nas atividades de laboratório e de campo.

Ao Vagner, Técnico do Laboratório de Botânica do Câmpus de Porto Nacional - UFT, pelo apoio nas exsiccatas e registro da espécie aqui estuda.

Aos colegas da Pós-Graduação em Produção Vegetal - UFT, pela amizade e troca de conhecimentos.

A todos meus colegas de trabalho da UFT - Câmpus de Gurupi, em especial o Túlio, a Damiana e a Ângela, funcionários do Laboratório de Solos, pela amizade e profissionalismo.

RESUMO GERAL

Lippia origanoides Kunth é uma espécie arbustiva perene encontrada em algumas regiões brasileira e utilizada para fins medicinais. Seu óleo essencial tem se mostrado eficiente no controle de fungos e bactérias causadoras de doenças em seres humanos, animais e vegetais. Objetivou-se com esse trabalho avaliar a propagação, crescimento vegetativo e composição química do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro concentrações de AIB: zero, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹ e dois substratos: comercial e areia, distribuídos em dois experimentos: um com estacas contendo um par de folhas e outro com dois pares de folhas, sendo seis repetições de quatro estacas por parcelas, totalizando 384 estacas plantadas em copos plásticos com capacidade para 0,2 dm³. Aos 90 dias foi avaliado o crescimento absoluto, o número de brotos e de folhas, área foliar, percentagem de enraizamento, comprimento da raiz, massa fresca e seca dos brotos e das raízes e massa seca total. Para crescimento vegetativa utilizou-se DIC, com oito tratamentos e 10 repetições, a seguir descritos: (T1)= 40 kg N ha⁻¹; (T2)= 60 kg N ha⁻¹; (T3)= 120 kg N ha⁻¹, equivalentes a 89, 133 e 267 kg ha⁻¹ de ureia respectivamente; (T4)= 60 kg N, P₂O₅ e K₂O ha⁻¹, equivalentes a 133, 353 e 100 kg ha⁻¹ de ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente; (T5)= 3,1 t ha⁻¹ de esterco bovino (EB) (T6)= 4,6 t ha⁻¹ de EB e (T7)= 9,2 t ha⁻¹ de EB, equivalentes a 40, 60 e 120 kg N ha⁻¹ respectivamente; e (T8)=Testemunha - sem adubação química e sem orgânica. A cada 30 dias foram avaliados o crescimento, diâmetro do caule e de copa, e aos 150 dias avaliou-se área foliar (AF), massa seca da folha, (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), comprimento de raiz (CR), teor de óleo essencial (OE), macronutrientes e micronutrientes foliares. A análise e identificação dos compostos químicos do óleo essencial foram realizadas a partir de amostragens retiradas de cada tratamento em equipamento de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Concluiu-se que para as estacas com um par de folhas, a concentração de 250 mg L⁻¹ no substrato areia favorece 100% o enraizamento, aumenta o número de brotos e de folhas, peso seco de brotos e de raízes e massa seca total. A concentração de 500 mg L⁻¹ aumenta a área foliar e a concentração de 1000 mg L⁻¹ proporciona maior altura dos brotos em substrato areia. A areia é o melhor substrato para o enraizamento das estacas e formação de mudas da espécie *L. origanoides* Kunth quando comparado com o substrato comercial. A aplicação de AIB não influencia a percentagem de enraizamento das estacas com dois pares de folhas no substrato comercial e

na areia. A concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB favorece a altura total dos brotos e área foliar das estacas com dois pares de folhas no substrato areia. No substrato comercial, maior média de altura, número de brotos, massa seca de brotos, de raízes e massa seca total foi obtido na concentração de 1000 mg L⁻¹ AIB, porém inferior ao substrato areia. É possível produzir mudas de *L. origanoides* Kunth a partir de estacas com dois pares de folhas em substrato areia sem a utilização de AIB. A adubação com esterco bovino e adubação com NPK favoreceu o crescimento, diâmetro do caule, diâmetro de copa, área foliar e massa seca total. A adubação com 60 kg N ha⁻¹, equivalente a 4,6 t ha⁻¹ de esterco bovino, apresentou maior crescimento absoluto de *L. origanoides* Kunth aos 150 dias de cultivo. Maior produção de óleo essencial e acúmulo de teor de P e Zn nas folhas foi obtido na dose de 120 kg ha⁻¹ N, equivalente a 9,2 t ha⁻¹ de esterco bovino. A adubação com NPK favoreceu o acúmulo de manganês nas folhas. Menor acúmulo dos teores de cálcio e potássio foi observado nos tratamentos adubados apenas com nitrogênio. Foram identificados 58 compostos químicos no óleo essencial entre monoterpenos, sesquiterpenos e diterpeno. Os compostos majoritários do óleo essencial foram, o carvacrol, α -humuleno, acetato geranil geraniol, *bicyclo[3.1.0]hexane-6-methanol*, *2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-*, óxido de humuleno, timol, acetato farnesil 3, eucaliptol e p-cimeno. As menores doses de adubação química e orgânica ou sem adubação proporcionaram as maiores concentrações de carvacrol e α -humuleno, enquanto que a adubação com NPK favoreceu a concentração de acetato geranil geraniol.

Palavras-chave: Plantas medicinais; esterco bovino; biomassa; compostos químicos.

ABSTRACT GENERAL

Lippia origanoides Kunth species is a perennial shrub found in some Brazilian regions and used for medicinal purposes. Its essential oil has been shown to be effective in controlling fungi and bacteria that cause disease in humans, animals and plants. The aim of this study was to evaluate the propagation, vegetative growth and essential oil chemical composition *L. origanoides* Kunth. The experimental design was completely randomized (DIC), with four concentrations of AIB: zero, 250, 500 and 1000 mg L⁻¹ and two substrates: Commercial and sand, distributed in two experiments: with cuttings containing a pair of leaves and the other with two pairs leaves, six replicates of four stakes in plots, totaling 384 cuttings planted in plastic cups with a capacity of 0,2 dm³. 90 days was rated the absolute growth, the number of shoots and leaves, leaf area, rooting percentage, root length, fresh and dry weight of shoots and roots and total dry mass. For vegetative growth was used DIC with eight treatments and 10 repetitions, as described below: (T1) = 40 kg N ha⁻¹; (T2) = 60 kg N ha⁻¹; (T3) = 120 kg N ha⁻¹, equivalent to 89, 133 and 267 kg ha⁻¹ of urea respectively; (T4) = 60 kg ha⁻¹ of N, P₂O₅ and K₂O, equivalent to 133, 353 and 100 kg ha⁻¹ of urea, superphosphate and potassium chloride, respectively; (T5) = 3,1 t ha⁻¹ of manure (EB) (T6) = 4,6 t ha⁻¹ and EB (T7) = 9,2 t ha⁻¹ of EB, equivalent to 40, 60 and 120 kg ha⁻¹ N, respectively; and (T8) = Witness - without chemical fertilizers and without organic. We evaluated the absolute growth, stem diameter and crown every 30 days and leaf area (AF), dry weight of leaf (MSF), dry mass of the stem (MSC), root dry mass (MSR), mass dry total (MST), root length (CR), essential oil content (OE), macronutrients and foliar micronutrients to 150 days. The analysis and identification of chemical compounds in the essential oil were made from samples taken from each treatment equipment gas chromatography coupled to mass spectrometry. It was concluded that for the stakes with a pair of leaves, the concentration of 250 mg L⁻¹ in the sand substrate favors 100% rooting, increases the number of shoots and leaves, dry weight of shoots and roots and total dry matter. The concentration of 500 mg L⁻¹ increases the leaf area and the concentration of 1000 mg L⁻¹ provides greater height of shoots on substrate sand. It was also concluded that sand is the best substrate for rooting of cuttings and seedling *L. origanoides* Kunth species when compared to the commercial substrate. The application of AIB does not influence the rooting of cuttings with two pairs of leaves in the commercial substrate and sand. The concentration of 250 mg L⁻¹ of AIB promotes the total height of the shoots and leaf area of the cuttings with two pairs of leaves in the sand substrate. In the commercial substrate, higher

average height, number of shoots, dry mass of shoots, roots and total dry mass was obtained in the concentration of 1000 mg L⁻¹ IBA, but below the sand substrate. It is possible to produce seedlings of *L. origanoides* Kunth from cuttings with two pairs of leaves in sand substrate. The fertilization with manure and NPK fertilization favored growth, stem diameter, crown diameter, leaf area and total dry mass. The fertilization with 60 kg N ha⁻¹, equivalent to 4.6 t ha⁻¹ of manure, showed the highest absolute growth of *L. origanoides* Kunth to 150 days of cultivation. Increased production of essential oil and P content and accumulation of Zn in the leaves was obtained at a dose of 120 kg ha⁻¹ N, equivalent to 9.2 t ha⁻¹ of manure. The NPK fertilization favored manganese accumulation in the leaves. Less accumulation of calcium and potassium levels was observed in treatments fertilized only with nitrogen. 58 chemical compounds were identified in the essential oil of *L. origanoides* Kunth between monoterpenes, sesquiterpenes and diterpene. The major compounds of the essential oil were carvacrol, α -humulene, geranyl acetate, bicyclo [3.1.0] hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-, humulene oxide, thymol, farnesyl acetate 3, eucalyptol and p-cymene. Smaller doses of chemical and organic fertilizer or without fertilizer showed the highest concentrations of carvacrol and α -humuleno, while the fertilization with NPK favored the concentration of geraniol geranyl acetate.

Keywords: Medicinal plants; manure; chemical compounds.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	16
2	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

CAPÍTULO I: PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Lippia origanoides* Kunth EM FUNÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO INDOL-BUTÍRICO (AIB)

	RESUMO.....	22
	ABSTRACT.....	23
1	INTRODUÇÃO	24
2	MATERIAL E MÉTODOS	26
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
3.1	Experimento 1: Estacas medianas com um par de folhas	28
3.2	Experimento 2: Estacas medianas com dois pares de folhas	33
4	CONCLUSÃO	41
4.1	Experimento 1: Estacas medianas com um par de folhas	41
4.2	Experimento 2: Estacas medianas com dois pares de folhas	41
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

CAPÍTULO II: PRODUÇÃO DE BIOMASSA E DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth EM FUNÇÃO DE DOSES DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA E QUÍMICA

	RESUMO.....	46
	ABSTRACT.....	47
1	INTRODUÇÃO.....	48
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4	CONCLUSÃO.....	63
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

CAPÍTULO III: IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth EM FUNÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO QUÍMICA E ORGÂNICA

RESUMO.....	69
ABSTRACT.....	70
1 INTRODUÇÃO.....	71
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4 CONCLUSÃO.....	86
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
7 ANEXOS 1	93
8 ANEXOS 2.....	94

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Características químicas do solo utilizado como substrato e do esterco bovino (EB) utilizado como adubo orgânico nos vasos para a produção de biomassa e óleo essencial de *L. origanoides* Kunth. 51

Tabela 2. Diâmetro do caule (DCA), Diâmetro da copa (DCO), Área foliar (AF), Massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e comprimento de raízes (CR) e óleo essencial (OE) da espécie *Lippia origanoide* Kunth após 150 dias de cultivado em diferentes doses de adubo químico e adubo orgânico... 57

Tabela 3. Teores de macronutrientes na massa seca da parte aérea de *L. origanoides* Kunth após 150 dias de cultivado em diferentes doses de adubo químico e adubo orgânico. 60

Tabela 4. Teores de micronutrientes na massa seca da parte aérea da espécie *Lippia origanoides* Kunth (*Lippia*) após 150 dias de cultivado em diferentes doses de adubo químico e adubo orgânico..... 61

CAPÍTULO III

Tabela 1. Composição química e porcentagem da área de pico encontrada no óleo essencial extraídos das folhas de *L. origanoides* Kunth após 150 dias de cultivado..... 77

Tabela 2. Médias dos compostos majoritários encontradas no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth após 150 dias do cultivo. 83

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Variáveis climáticas registradas na estação experimental do Câmpus de Gurupi da Universidade Federal do Tocantins (Estação Meteorológica - UFT, 2015).....26
- Figura 2.** Porcentagens de enraizamento das estacas de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).28
- Figura 3.** Altura total (A), número de brotos (B), número de folhas (C) e área foliar (D) de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indolbutírico (AIB).30
- Figura 4.** Massa seca do broto (A), massa seca da raiz (B) e massa seca total (C) de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).32
- Figura 5.** Porcentagens de enraizamento das estacas de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).34
- Figura 6.** Altura total (A), número de brotos (B), número de folhas (C), área foliar (D) de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).....37
- Figura 7.** Massa seca do broto (A), massa seca da raiz (B) e massa seca total (C) de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e de ácido indol butírico (AIB).39

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Variáveis climáticas registradas na estação experimental do Câmpus de Gurupi da Universidade Federal do Tocantins (Estação Meteorológica - UFT, 2014)..... 50

Figura 2. Crescimento absoluto em altura (cm) de *L. origanoides* Kunth avaliado a cada 30 dias em cultivo com adubação de 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (**A**); 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (**B**); 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (**C**); 60 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O (**D**); 3,1 t ha⁻¹ de esterco - EB, equivalente a 40 kg ha⁻¹ de N (**E**); 4,6 t ha⁻¹ de EB, equivalente a 60 kg ha⁻¹ de N (**F**); 9,2 t ha⁻¹ de EB, equivalente a 120 kg ha⁻¹ de N (**G**) e Testemunha - sem adubação (**H**). 55

CAPÍTULO III

Figura 1. Variáveis climáticas registradas na estação experimental do Câmpus de Gurupi da Universidade Federal do Tocantins (Estação Meteorológica - UFT, 2014). 73

Figura 2. Estrutura química dos compostos majoritários encontrados no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth. 84

1 INTRODUÇÃO GERAL

As plantas são fonte inesgotável de produtos naturais, sendo as medicinais constituídas de metabólitos secundários com diversas utilidades nas indústrias químicas, farmacológicas, cosméticos, perfumaria, alimentos, e principalmente na área da medicina. Os compostos do óleo essencial das plantas medicinais também têm mostrado eficiência no controle de pragas e patógenos causadores de doenças em plantas e animais.

O cultivo de plantas medicinais tem assumido importância mundial devido à demanda exercida por várias indústrias químicas (SOUZA et al., 2007). A América Latina detém uma grande biodiversidade constituída pelo Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador México, Panamá e Peru, sendo que no Brasil, a comercialização de fitoterápicos cresceu 13% no ano de 2011, movimentando 1,1 bilhão em relação ao ano anterior (ALVES, 2013).

O gênero *Lippia* pertence à família Verbenaceae que reúne a maior riqueza no Brasil, com 16 gêneros e 286 espécies, sendo 187 endêmicas, distribuídas nos Estados do Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e no Sul do país (SALIMENA et al., 2016). As *Lippias* são plantas medicinais, cujo nome deriva de August Lippi, botânico italiano (BLANK, 2013), e inclui aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e árvores de pequeno porte, distribuídas em vários locais do mundo, principalmente na América Central, regiões tropicais da África, América do Norte, América do Sul e Austrália (BLANK, 2013; GOMES et al., 2011; SILVA et al., 2006; PASCUAL et al., 2001; MUNIR, 1993).

No Brasil, a diversidade desse gênero está localizada principalmente, na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais, e na Chapada Diamantina, na Bahia, regiões caracterizadas por Cerrado e Caatinga, dois importantes biomas brasileiros (SALIMENA, 2002a; SOARES e TAVARES-DIAS, 2013). As *Lippias* geralmente se destacam por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu forte aroma agradável (GOMES et al., 2011).

A *Lippia origanoides* Kunth é um arbusto aromático que pode chegar até 3 metros de altura, possui constituição perene, sendo nativa do Sul da América Central e do Norte da América do Sul (TEIXEIRA et al., 2014; VICUÑA et al., 2010; PASCUAL et al., 2001). Possuem inflorescências em racimo, axilares de cor branca, folhas ovaladas e aromáticas (RUIZ et al., 2007). No Brasil pode ser encontrado nas regiões Norte e Nordeste, principalmente, no Pará (OLIVEIRA et al., 2014). Há registro dessa espécie também no Maranhão e Mato Grosso (REFLORA, 2015). Segundo O'Leary et al. (2012), essa espécie

crece em regiões de Cerrado e Caatinga, com solos rochosos e elevação de 160 a 1800 metros.

Na medicina tradicional a *L. origanoides* Kunth é utilizada para o tratamento de doenças respiratórias e gastrointestinais (VICUÑA et al., 2010). As propriedades químicas encontradas no óleo essencial dessa espécie apresentaram atividades contra algumas espécies de fungos e bactérias, tais como, *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophytum rubrum*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mutans* (OLIVEIRA et al., 2007), *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania chagasi* (ESCOBAR et al., 2010), *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos (QUEIROZ et al., 2014).

Os óleos essenciais são compostos químicos originados do metabolismo secundário das plantas e são formados pelos terpenos e fenilpropanóides, sendo os monoterpenos e sesquiterpenos normalmente predominantes na composição desses óleos essenciais (TAIZ e ZEIGER, 2009; WINK e WATERMAN, 1999). São produtos voláteis podendo apresentar constituição complexas com diferentes componentes químicos distribuídos em quantidades variáveis (SEIXAS et al., 2013). Geralmente, os óleos essenciais de *L. origanoides* Kunth são constituídos por importantes variações de quimiotipos podendo ser formados pelos compostos majoritários p-cimeno, carvacrol, γ -terpineno, timol, trans-cariofileno, α -humuleno e 1-8 cineol (SARRAZIN et al., 2015; STASHENKO et al., 2010).

Os nutrientes minerais podem influenciar os níveis de alguns compostos orgânicos nas plantas devido ao potencial que exercem sobre os processos bioquímicos ou fisiológicos, como a atividade fotossintética e a taxa de translocação de fotoassimilados (FERREIRA et al., 2006). Conhecer o comportamento fisiológico e o potencial das plantas medicinais não domesticadas é importante para subsidiar o cultivo e conseqüentemente, melhorar a produção de matéria prima. Como a grande maioria das culturas, as plantas aromáticas respondem positivamente a um adequado programa de produção, envolvendo manejo correto do solo e da planta (LUZ et al., 2014).

A prática da adubação exige conhecimento sobre as características morfofisiológicas da planta, além da disponibilidade dos nutrientes no solo e o comportamento na planta, sendo os nutrientes fornecidos por meio da adubação orgânica ou mineral (SOUSA et al., 2013). A adubação orgânica contribui para melhoria das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, disponibilizando macro e micronutrientes para as plantas através da capacidade de troca catiônica (CTC) e do poder tampão do solo, melhora também as condições de infiltração e aeração, além de aumentar os microrganismos e sua atividade no solo (RIBEIRO et al., 1999).

Outro fator importante nos estudos de *L. origanoides* Kunth é quanto ao potencial de produção de mudas, o qual é essencial para o sucesso da sua domesticação. Nesse sentido, trabalhos têm sido realizados a fim de obter informações que possam descobrir a melhor forma de reproduzi-las, pois suas sementes são muito pequenas, de difícil manuseio com índice de germinação muito baixo.

A propagação vegetativa nas plantas medicinais é uma forma importante que pode diminuir ou impedir as variações nos teores dos princípios ativos, mantendo a qualidade do produto final (MONTANARI JÚNIOR, 2002; MARCHESE e FIGUEIRA, 2005). É uma prática fácil, econômica e constitui de alternativa eficiente para aumentar o sucesso da produção de matéria prima, pois favorece a transferência das características genéticas da matriz, propiciando uma matéria prima uniformizada.

Diante do exposto, a presente pesquisa propôs estudar o desenvolvimento de *L. origanoides* Kunth em ambiente doméstico, a fim de colaborar com informações que possam subsidiar cultivo e produção de matéria prima. Dessa forma, os trabalhos foram conduzidos em três capítulos com os seguintes objetivos: 1) avaliar a propagação vegetativa em função de diferentes concentrações de ácido indol-butírico (AIB); 2) avaliar o crescimento das plantas em função de doses de adubação orgânica e química na produção de biomassa e teor de óleo essencial; 3) identificar os compostos químicos majoritários presentes no óleo essencial, em função de diferentes doses de adubação orgânica e química.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. F. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. **Revista Virtual Química**, v. 5, n. 3, p. 450-513, 2013.

BLANK, A. F. Transformação de recursos genéticos de plantas aromáticas nativas em riqueza: o potencial do alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis*). **Horticultura Brasileira** [online], v. 31, n. 3, p. 512, 2013.

ESCOBAR, P.; LEAL, S. M., HERRERA, L. V.; MARTINEZ, J. R.; STASHENKO, E. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 184-190, 2010.

FERREIRA, M. M. M.; FERREIRA, G. B.; FONTES, P. C. R.; DANTAS, J. P. Qualidade do tomate em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica em duas estações. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 141-145, 2006.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; HABBER, L. L.; MARQUEZ, M. O. M. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.3, p. 552-560, 2014.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. Campinas: CPQBA-UNICAMP, 2002. 7p. Disponível em: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/producao.htm>>. Acesso em: 23 de março, 2016.

MUNIR, A. A. A. Taxonomic revision of the genus *Lippia* [HOUST. EX] Linn. (Verbenaceae) in Australia. **Journal of the Adelaide Botanic Gardens**, v. 15, n. 2, p. 129-145, 1993.

O'LEARY, N.; DENHAM, S. S.; SALIMENA, F.; MÚLGURA, M. E. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 170, p. 197-219, 2012.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; FERNANDES, P. D.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological studies of *Lippia organoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 24, n. 2, p. 206-214, 2014.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides*. **Food Chemistry**, 101, p. 236-240, 2007.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, 76, p. 201-214, 2001.

QUEIROZ, M. R. A.; ALMEIDA, A. C.; ANDRADE, V. A.; LIMA, T. S.; MARTINS, E. R.; FIGUEIREDO, L. S.; CARELI, R. T. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n. 3, p. 737-743, 2014.

REFLORA - Herbário Virtual. Disponível em: <<http://www.herbariovirtualreflora.jbrj.gov.br>>. Acesso em 22/9/2015.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; AVAREZ V., V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação, Viçosa, MG, 1999, 359 p.

RUIZ, C.; TUNAROSA, F.; MARTÍNEZ, J.; STASHENKO, E. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia origanoides* H.B.K., obtenidos por diferentes técnicas de extracción. **Scientia et Technica**, v.1, n. 33, p. 325-328, 2007.

SALIMENA, F. R. G. Novos sinônimos e tipificação em *Lippia* sect. *Rhodolippia* (Verbenaceae). **Hickenia** 3, v. 37, p. 145-149, 2002a.

SALIMENA, F. R. G.; THODE, V.; MULGURA, M.; O'LEARY, N.; FRANÇA, F.; SILVA, T. R. S.; SOUZA, V. C. *Verbenaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB246>>. Acesso em 29 de maio, 2016.

SARRAZIN, S. L. F.; SILVA L. A. DA; ASSUNÇÃO, A. P. F. DE; OLIVEIRA, R. B.; CALAO, V. Y. P., SILVA, R. DA, STASHENKO, E. E.; MAIA, J. G. S.; MOURÃO, R. H. V. Antimicrobial and Seasonal Evaluation of the Carvacrol-Chemotype Oil from *Lippia origanoides* Kunth. **Molecules**, 20, p. 1860-1871, 2015.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. G. DE; CARDOSO, D. P.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. DO; BARBOSA, L. C. DE A. Efeito da adubação mineral na produção de biomassa e no teor e composição do óleo essencial do capim-citronela. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 852-858, 2013.

SILVA, N. A.; OLIVEIRA, F. F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, R. A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**. Macapá, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.

SOUSA, L. B. DE; HEITOR, L. C.; SANTOS, P. C. DOS; FREITAS, J. A. A.; FREITAS, M. S. M. DE; FREITAS, S. DE J.; CARVALHO, A. J. C. DE. Crescimento, composição mineral e fenóis totais de espécies de *Passiflora* em função de fontes nitrogenadas. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 3, p. 247-254, 2013.

SOUZA, M. A. A.; ARAÚJO, O. J. L.; FERREIRA, M. A.; STARK, E. M. L. M.; FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R. Produção de biomassa e óleo essencial de hortelã em hidroponia em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, 25, p. 41-48, 2007.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. RUÍZ, C. A.; ARIAS, G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **Journal of Separation Science**, 33, p. 93-103, 2010.

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

TEIXEIRA, M. L.; CARDOSO, M. DAS G.; FIGUEIREDO, A. C. S.; MORAES, J. C.; ASSIS, F. A.; ANDRADE, J. DE; NELSON, D. L.; GOMES, M. DE S.; SOUZA, J. A. DE; ALBUQUERQUE, L. R. M. DE. Essential oils from *Lippia organoides* Kunth and *Mentha spicata* L.: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. **American Journal of Plant Sciences**, 5, p. 1181-1190, 2014.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J.L. Chemical Composition of the *Lippia organoides* Essential Oils and Their Antigenotoxicity against Bleomycin-Induced DNA Damage. **Fitoterapia**, v. 81, p. 343-349, 2010.

WINK, M.; WATERMAN, P. G. **Chemotaxonomy in relation to molecular phylogeny of plants**. In: WINK, M. Biochemistry of plant secondary metabolism. Volume 2. Germany. 1999, 358p.

CAPÍTULO I

PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Lippia origanoides* Kunth EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB)

RESUMO: A propagação vegetativa de espécies medicinais a partir da utilização de fitorreguladores vegetais pode ser uma alternativa para aumentar a base de domesticação e assegurar aspectos agronômicos importantes na produção de matéria prima. Objetivou-se com essa pesquisa avaliar o efeito de concentrações de ácido indolbutírico (AIB) na propagação vegetativa de *Lippia origanoides* Kunth em substrato comercial e areia. Foram conduzidos dois experimentos: um com estacas de duas folhas e outro com estacas de quatro folhas. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro concentrações de AIB, constituídos por zero, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹ e dois tipos de substratos: substrato comercial e areia. Foram utilizadas seis repetições, com quatro estacas por parcela em cada tratamento e nos dois experimentos, totalizando 384 estacas plantadas em copos plásticos com capacidade para 200 ml. Aos 90 dias avaliaram-se a altura dos brotos, número de brotos, número de folhas, área foliar, percentagem de enraizamento, comprimento da raiz, massa fresca e seca dos brotos, massa fresca e seca das raízes e massa seca total. Concluiu-se que para as estacas com um par de folhas, a concentração de 250 mg L⁻¹ no substrato areia favorece 100% o enraizamento, aumenta o número de brotos e de folhas, peso seco de brotos e de raízes e massa seca total. A concentração de 500 mg L⁻¹ favorece a área foliar e a concentração de 1000 mg L⁻¹ favorece a altura total dos brotos em substrato areia. A areia é o melhor substrato para o enraizamento das estacas e formação de mudas da espécie *L. origanoides* Kunth quando comparado com o substrato comercial. A aplicação de AIB não influencia a porcentagem de enraizamento das estacas com dois pares de folhas no substrato comercial e na areia. A concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB favorece a altura total dos brotos e área foliar das estacas com dois pares de folhas no substrato areia. No substrato comercial, maior média de altura, número de brotos, massa seca de brotos, de raízes e massa seca total foi obtido na concentração de 1000 mg L⁻¹ AIB, porém inferior ao substrato areia. É possível produzir mudas de *L. origanoides* Kunth a partir de estacas com dois pares de folhas em substrato areia sem a utilização de AIB.

Palavras-chave: regulador vegetal; concentrações; plantas medicinais.

CHAPTER I

VEGETATIVE PROPAGATION OF *Lippia origanoides* Kunth DUE TO THE APPLICATION OF INDOLE-BUTYRIC ACID (IBA)

ABSTRACT: Vegetative propagation of medicinal species from the use of plant growth regulators can be an alternative to increase the base of domestication and ensure agronomical important aspects in the production of raw materials. The objective of this research was to evaluate the effect of indole butyric acid concentrations (AIB) in the vegetative propagation of *Lippia origanoides* Kunth commercial and sand substrate. Two experiments were conducted: With stakes of two leaves and one with four-leaf cuttings. The design was completely randomized with four concentrations of IBA consisting of zero, 250, 500 and 1000 mg L⁻¹ and two types of substrates: commercial substrate and sand. Six replicates were used, with four cuttings per plot for each treatment and in both experiments, totaling 384 cuttings planted in plastic cups with a capacity of 200 ml. At 90 days evaluated the height of shoots, number of shoots, number of leaves, leaf area, rooting percentage, root length, fresh and dry weight of shoots, fresh and dry weight of roots and total dry mass. It was concluded that for the stakes with a pair of leaves, the concentration of 250 mg L⁻¹ in the sand substrate favors 100% rooting, increases the number of shoots and leaves, dry weight of shoots and roots and total dry matter. The concentration of 500 mg L⁻¹ promotes leaf area and the concentration of 1000 mg L⁻¹ promotes the overall height of shoots on substrate sand. The sand is the best substrate for rooting of cuttings and seedling *L. origanoides* Kunth species when compared to the commercial substrate. The application of AIB does not influence the rooting of cuttings with two pairs of leaves in the commercial substrate and sand. The concentration of 250 mg L⁻¹ of AIB promotes the total height of the shoots and leaf area of the cuttings with two pairs of leaves in the sand substrate. In the commercial substrate, higher average height, number of shoots, dry mass of shoots, roots and total dry mass was obtained in the concentration of 1000 mg L⁻¹ IBA, but below the sand substrate. It is possible to produce seedlings of *L. origanoides* Kunth from cuttings with two pairs of leaves in sand substrate.

Keywords: plant growth regulator, concentrations, medicinal plants.

1 INTRODUÇÃO

Lippia origanoides Kunth. (Verbenaceae) é uma planta aromática nativa da América Central e na América do Sul (O'LEARY et al., 2012; VICUÑA et al., 2010). No Brasil é encontrada na região Norte e Nordeste, sendo conhecida popularmente como “Salva-demarajó”, “Alecrim d’ Angola” e “Orégano de Monte” (VICUÑA et al., 2010; STASHENKO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2007).

As folhas e inflorescências de *L. origanoides* Kunth são frequentemente utilizadas nas infusões e empregada na medicina popular para o tratamento de indigestão, dores de estômago, náuseas e antisséptico geral pelos habitantes das regiões do Cerrado no Brasil (O'LEARY et al., 2012; PASCUAL et al., 2001). Vários estudos demonstraram que o óleo essencial dessa espécie contém compostos ricos em carvacrol e timol (SARRAZIN et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2007). Apesar de apresentar inúmeras vantagens na composição de seu óleo essencial, *L. origanoides* Kunth por ser uma espécie nativa não domesticada, ainda não existe estudos sobre sua multiplicação em nível de produção comercial. As sementes dessa espécie são muito pequenas, o que dificulta sua coleta, além de apresentar baixo índice de germinação, inviabilizando a multiplicação por sementeira. Uma das alternativas viáveis para uniformizar o plantio e manter as características da planta mãe é a propagação assexuada que pode ser feita por estaquia.

A propagação vegetativa por meio de estacas é uma das maiores alternativas viáveis economicamente, pois proporciona produção comercial em grande escala com menor custo, além da transferência das características genótípicas de interesses que pode propiciar aumento na produtividade e qualidade do óleo (MENDES et al., 2014). Segundo esse mesmo autor, algumas espécies medicinais nativas podem apresentar resistência no enraizamento de suas estacas, provocados muitas vezes por fatores internos, tais como, a própria fisiologia da planta mãe, potencial genético de enraizamento, balanço hormonal ou fatores externos, como temperatura, luz, umidade e substratos.

A utilização de fitorreguladores vegetais pode ser uma das alternativas para aumentar a eficiência do enraizamento. Os fitorreguladores têm por finalidade induzir o processo rizogênico, aumentar a porcentagem e qualidade das raízes formadas e a uniformidade no enraizamento (MIRANDA et al., 2004). Segundo Tognon e Petry (2012), o uso de reguladores vegetais para indução da formação de raízes varia de acordo com a espécie e o tipo de estacas, tanto em relação à concentração como ao tempo de imersão nessas soluções.

A adição de reguladores de crescimento, tipo as auxinas tem a finalidade de suprir as prováveis deficiências dos teores endógenos de hormônios dos explantes (MELO et al., 2001).

Dentre os reguladores vegetais existentes, o ácido indol butírico (AIB) é uma das auxinas mais eficientes e que melhor promove a indução de enraizamento em estacas. Por ser uma auxina sintética, apresenta características favoráveis, como foto-estabilização, ação localizada, persistente, atóxico e resistente à ação biológica (MIRANDA et al., 2004; PASQUAL et al., 2001). As auxinas sintéticas são usualmente mais efetivas que o AIA por aparentemente não serem destruídas pelo sistema AIA-oxidase, persistindo nas plantas por um período de tempo maior que as auxinas endógenas (ALCANTARA et al., 2010). As auxinas estimulam a proliferação de vários tipos de células, como nos tecidos das folhas, formação de raízes adventícias em estacas, além de sua principal ação que é a iniciação dos primórdios radiciais (LIMA et al., 2008; RAVEN et al., 2001).

O substrato também é um fator externo que influencia consideravelmente o desenvolvimento das estacas, devendo ser poroso, bem drenado, homogêneo, isento de patógeno, ter baixa densidade e viabilidade econômica (MENDES et al., 2014). Esse material deve permitir que a base da estaca obtenha bom suprimento de água e ao mesmo tempo boa aeração, para facilitar a oxigenação, uma vez que a ausência do oxigênio pode paralisar o desenvolvimento das raízes (BITENCOURT et al., 2010).

O estabelecimento de técnicas apropriadas de enraizamento e propagação de *L. origanoides* Kunth pode colaborar com a base de domesticação, assegurando aspectos agronômicos, visando à produtividade de matéria prima suficiente, atendendo assim a demanda da cadeia de produção de óleo e seus derivados, além de evitar o aumento da depredação das plantas ainda existentes na natureza. Tendo em vista a importância de *L. origanoides* Kunth na medicina, no controle de patógenos, na farmacologia e na indústria de perfumes, o investimento na propagação dessa espécie medicinal pode constituir grande avanço para produção de matéria prima e comercialização do seu óleo essencial. No entanto, para produzir matéria prima desta espécie em escala comercial, a qualidade das mudas é fundamental para garantir sua homogeneidade e estabelecimento da produção.

Nesse sentido, a presente pesquisa objetivou-se avaliar o efeito das concentrações de ácido indol butírico na propagação vegetativa de *Lippia origanoides* Kunth em substrato comercial e areia, utilizando estacas de um e dois pares de folhas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Câmpus de Gurupi, Setor de Ecofisiologia Vegetal, localizado a 11°44'46" de latitude sul e 49°03'10" de longitude oeste e altitude média de 277 metros. A temperatura média anual de 2015 na região foi de 26,8 °C com chuvas no verão e seca no inverno, cuja média máxima foi de 34,1 °C e média mínima de 20,9 °C, com umidade média anual de 71,2 %, de acordo com a estação meteorológica da UFT, Câmpus de Gurupi (Figura 1).

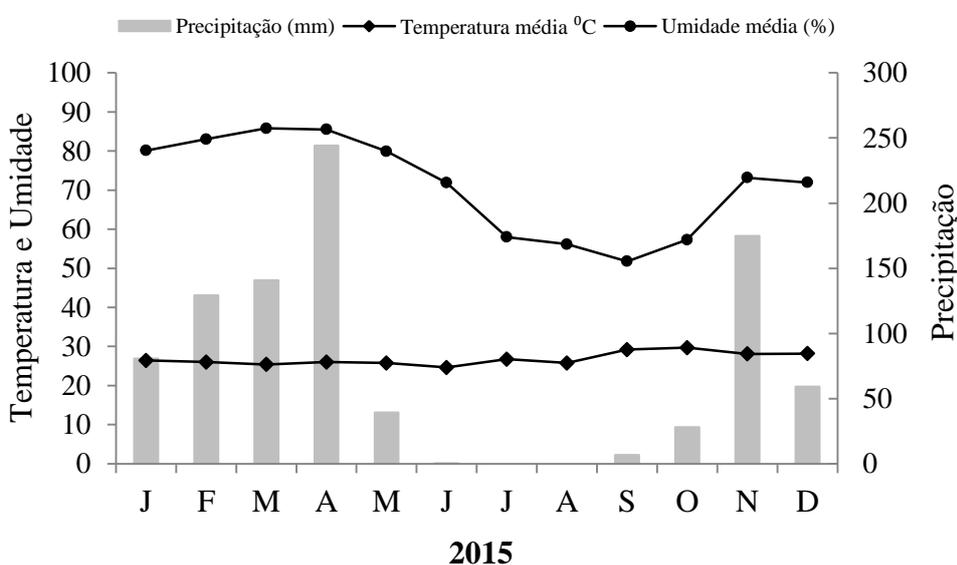


Figura 1. Variáveis climáticas registradas na estação experimental do Câmpus de Gurupi da Universidade Federal do Tocantins (Estação Meteorológica - UFT, 2015).

Estacas de *Lippia origanoides* Kunth foram obtidas a partir de matrizes cultivadas na Estação Experimental de Pesquisa da UFT (Câmpus de Gurupi). O material botânico que constituiu as matrizes foi coletado no município de Gurupá (MA), localizado a 09°50'29" de latitude sul e 45°56'01" de longitude oeste, a qual se encontra depositado no Herbário da Universidade Federal do Tocantins, Câmpus de Porto Nacional, sob registro de número 10713 e identificado botanicamente pela Dra. Fátima Regina S. Salimena, da Universidade Federal de Juiz de Fora (MG).

Foram realizados dois experimentos de propagação: no primeiro deles, utilizaram-se estacas medianas com aproximadamente 10 cm de comprimento e contendo um par de folhas e o segundo experimento com estacas de dois pares de folhas. O delineamento utilizado foi

inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2, consistindo de quatro concentrações de ácido indolbutírico (AIB), cujas doses foram 0, 250, 500 e 1000 (mg L⁻¹) e dois tipos de substratos: substrato comercial Bioflora® e areia lavada. Foram utilizados seis repetições com quatro estacas por parcela em cada tratamento, totalizando 192 estacas por experimentos.

Bioflora® é um substrato comercial utilizado na produção de mudas constituído de casca de pinus/eucalipto, vermiculita, carvão vegetal, rocha calcária, superfosfato simples, nitrato de amônio, esterco bovino, farelos e tortas de origem vegetal com condutibilidade elétrica (mS/cm) = 1,0; pH = 6,0 e umidade máxima de 60%. A densidade na base seca foi de 380 kg m⁻³ e a capacidade de retenção de água (m/m) de 150%.

As estacas tiveram suas bases imersas em solução de AIB de acordo com as respectivas concentrações, obtidas por meio da diluição do ácido indol-3-butírico em solução de álcool etílico p.a (99% de pureza) a 50% (HARTMANN e KESTER, 1990), por cinco minutos (PAULUS et al., 2014). Em seguida, foram plantadas em copos plásticos com capacidade para 0,2 dm⁻³ contendo substrato ou areia lavada, os quais foram mantidos em viveiro com sombrite de 50%, distribuídos em bancadas com grades de arame suspenso. A irrigação foi realizada mediante nebulização alternada e controlada por temporizador digital, com intervalos de 2 horas entre as nebulizações de dois minutos e, após trinta dias a irrigação passou a ser realizada três vezes ao dia.

Aos 90 dias após o tratamento (DAT) foram avaliados os comprimentos dos brotos (com régua), número de brotos e número de folhas em cada repetição, área foliar, percentagem de enraizamento (%), comprimento da raiz, massa fresca dos brotos e das raízes, massa seca dos brotos e das raízes e massa seca total. As raízes e os brotos foram colocados para secar em estufas a 60 °C com circulação de ar forçada por 72 horas e pesada em balança Marca Shimadzu, modelo AUY 220, para obtenção do peso da massa seca.

Os dados obtidos em todas as variáveis foram submetidos a análises de variância e posterior análises de regressão com ajuste dos dados obtidos em função das doses de AIB e teste de média (Tukey). O programa estatístico utilizado foi o Sisvar (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Experimento 1: Estacas medianas com um par de folhas

Para o enraizamento das estacas de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas, observa-se que as concentrações de AIB apresentou uma distribuição linear para o substrato comercial e polinomial quadrático para substrato areia aos 90 dias após o tratamento - DAT (Figura 2).

Houve uma influência positiva da concentração de 250 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB) com 100% de enraizamento das estacas no substrato areia. Por outro lado, quando as doses de AIB foram aumentadas para 500 e 1000 mg L⁻¹ houve diminuição das porcentagens de enraizamento para 83,33 e 70,83 %, respectivamente.

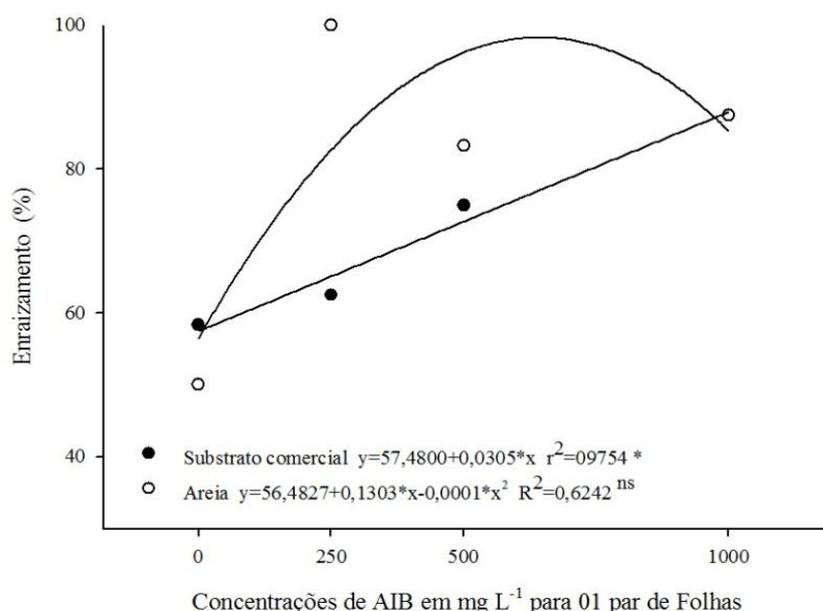


Figura 2. Porcentagens de enraizamento das estacas de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).

Oliveira et al. (2008) ao estudarem estacas de *Lippia sidoides* com um par de folhas expandidas e cultivadas em areia lavada, observaram que a concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB apresentou maior porcentagem de enraizamento e quando aumentou-se as concentrações desse hormônio, houve aparentemente inibição do desenvolvimento das raízes. Por outro lado,

Silva et al. (2015) ao estudar a propagação vegetativa e crescimento inicial de *L. origanoides* verificaram que ocorreu 100% de enraizamento nas estacas em todos os tratamentos com AIB (62,5; 125; 250 e 500 mg L⁻¹), demonstrando alta capacidade de emissão de raízes.

O resultado obtido nessa pesquisa indica a viabilidade de propagação de *L. origanoides* Kunth na dosagem de 250 mg L⁻¹ de AIB em areia lavada. Trabalho realizado por Luz et al. (2007), mostraram que a areia proporcionou os melhores resultados quanto à qualidade das raízes e porcentagem de enraizamento de *Hydrangea macrophylla* (hortênsia).

Algumas espécies vegetais podem apresentar deficiência de auxina endógena em sua fisiologia. Nesse sentido, a utilização de fitoreguladores exógenos pode ter proporcionado melhores condições de enraizamento para as estacas de *L. origanoides* Kunth, incrementando a velocidade de formação de raiz, assim como maior enraizamento nas estacas com um par de folhas.

Segundo Oliveira et al. (2003a), a obtenção de maior porcentagem de estacas vivas enraizadas pelo uso do AIB provavelmente pode estar relacionada à melhoria no balanço hormonal das estacas, e conseqüentemente, acelera o enraizamento. Reguladores de crescimento (ANA e AIA) podem acelerar o metabolismo normal e aumentar o número de primórdios radiculares, mesmo que não aumente a porcentagem de enraizamento (ALCANTARA et al., 2010).

Os maiores enraizamentos das estacas de *L. origanoides* Kunth em areia foram obtidos com as menores doses de AIB, tornando viável e importante para produção de mudas dessa espécie. O substrato exerce um papel fundamental no desenvolvimento da raiz, além da sustentação das estacas, influencia também na disponibilidade de água e oxigênio no meio para enraizamento, exercendo efeito positivo no processo fisiológico do enraizamento (OLIVEIRA et al., 2003b).

Para o substrato comercial, maior porcentagem de enraizamento foi observada na dose de 1000 mg L⁻¹ com 87,5%, sendo o melhor ajuste constituído pelo modelo linear com significância de 5% de probabilidade e coeficiente de regressão de 0,9754 aos 90 DAT (Figura 2).

Resultados parecidos foram obtidos por Alcantara et al. (2010), analisando a porcentagem de estacas enraizadas em *Syzygium cumini* L. (jambolão), verificaram que a dose de 1000 mg L⁻¹ apresentou a melhor concentração para os fitoreguladores AIB e ácidos naftaleno acético (ANA), sendo as porcentagens diminuídas com aumento das concentrações desses dois fitoreguladores.

Para a característica altura (Figura 3 A), as concentrações de AIB apresentaram um ajuste linear crescente com significância de 1 % de probabilidade e coeficiente de regressão igual a 0,9915 no substrato areia, sendo a maior média obtida na concentração de 1000 mg L⁻¹ aos 90 DAT em relação ao substrato comercial.

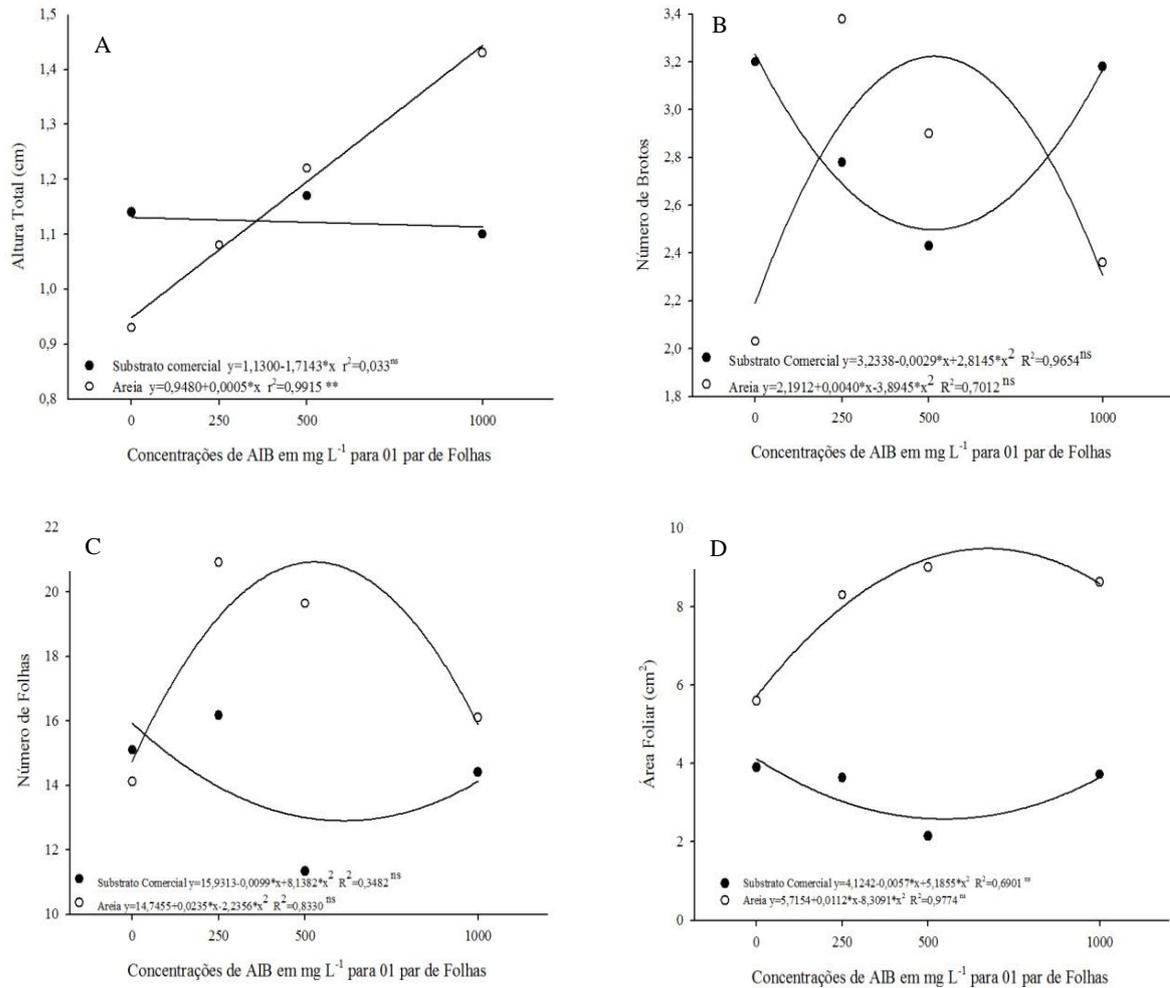


Figura 3. Altura total (A), número de brotos (B), número de folhas (C) e área foliar (D) de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indolbutírico (AIB).

Os resultados das variáveis números de brotos e números de folhas estão distribuídos em um modelo polinomial quadrático não significativo para os substratos comercial e areia (Figura 3 B e C). Comparando o melhor desempenho do AIB entre os substratos, observa-se que os maiores números de brotos e números de folhas foram obtidos no substrato areia com a concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB seguido pela dose de 500 mg L⁻¹, sendo que o aumento da concentração de AIB diminuiu os números de brotos e de folhas. Para o substrato comercial

não houve diferenças entre os tratamentos de AIB, porém maior número de brotos foi observado na testemunha e na concentração de 1000 mg L⁻¹, sendo o maior número de folhas obtido na concentração de 250 mg L⁻¹.

Para a análise de regressão da área foliar (Figura 3 D) em função das concentrações de AIB e entre os substratos avaliados, a areia apresentou melhor ajuste da equação polinomial quadrático, cujo coeficiente de regressão foi de 0,9774. Observa-se que, apesar de não ter apresentado diferenças significativas entre os tratamentos, as estacas tratadas com AIB apresentaram maior área foliar quando cultivadas em areia, variando de 8,30 a 9,0 cm⁻², sendo superiores às médias obtidas no substrato comercial que foi de 2,14 a 3,9 cm⁻².

Maior número de folhas por estacas também foi encontrado por Tognon e Petry (2012) em *Ipomoea cairica* (L.) Sweet, (Ipomeia) na concentração de 250 mg L⁻¹, porém não diferindo estatisticamente das demais concentrações (0, 500 e 750 mg L⁻¹), com exceção de 1000 mg L⁻¹, onde foi observado o menor número de folhas. Oliveira et al. (2008), também observaram maior valor de brotos formados e folhas expandidas ao estudarem estaca apical em *L. sidoides* com um par de folhas e solução à 250 mg L⁻¹ de AIB em substrato areia.

Dameda et al. (2014) encontraram resultados diferentes em *Malva sylvestris* (malva-cheirosa), os quais observaram maiores médias no número de folhas e comprimento de raiz para substrato MecPlant® na concentração de 1,5 g L⁻¹ de AIB. No entanto, as espécies podem responder diferentemente às concentrações de fitohormônio, como ocorrido na presente pesquisa.

De acordo com a regressão polinomial quadrático e linear, não houve diferenças significativas para as características da massa seca dos brotos, massa seca das raízes e massa seca total no substrato areia (Figura 4 A, B e C), porém verificou-se que a concentração que melhor diferenciou o peso seco de *L. origanoides* Kunth foi a de 250 mg L⁻¹ com as maiores médias de 0,09 grama, 0,33 e 0,43 g planta⁻¹, respectivamente. Nota-se que, ao aumentar as concentrações de AIB para 500 e 1000 mg L⁻¹ ocorreu um decréscimo do peso seco.

Para o substrato comercial não foi observado diferenças significativas entre a dose de 1000 mg L⁻¹ de AIB e a testemunha. Por outro lado, as concentrações de 250 e 500 mg L⁻¹ influenciaram negativamente o peso seco dos brotos, das raízes e da massa seca total, uma vez que os mesmos foram inferiores aos valores obtidos na testemunha aos 90 ADT (Figura 4 A, B e C).

Esses resultados mostraram que para a formação de mudas de *L. origanoides* Kunth a utilização de 250 mg L⁻¹ de AIB pode ser uma alternativa para acumulação da massa seca da

parte aérea e das raízes, fator importante para estabilização das mudas no campo, uma vez que aumentando a parte aere e da raízes, conseqüentemente aumentará o desempenho fotossintético para as mudas. Castro e Alvarenga (2001) observaram um aumento na relação MSR/MST em plantas de *Symphytum officinale* L. (confrei), indicando maior eficiência de mobilização de matéria seca das folhas para produção de raízes e rizomas.

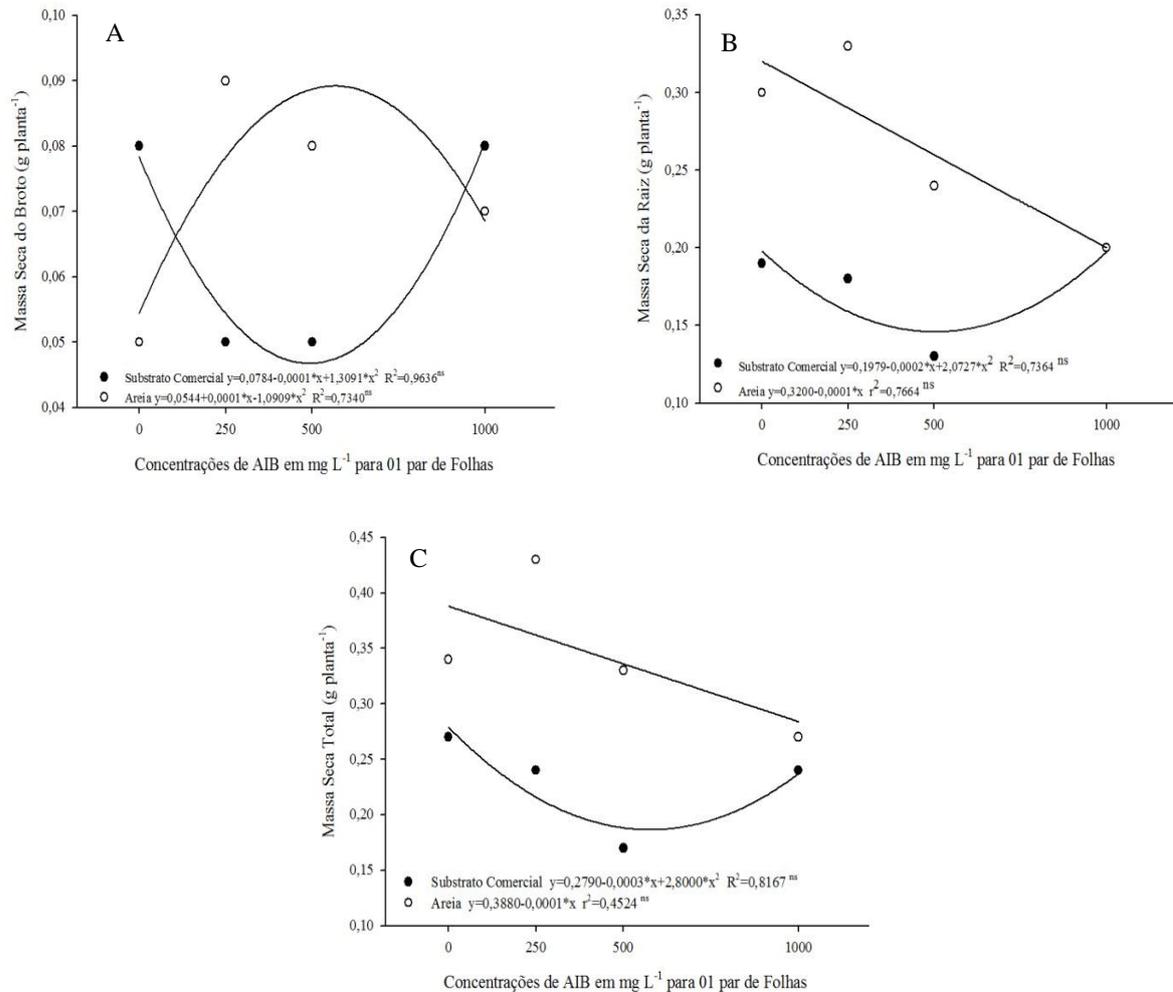


Figura 4. Massa seca do broto (A), massa seca da raiz (B) e massa seca total (C) de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).

Algumas espécies vegetais podem requerer maior ou menor quantidade de hormônio exógeno para desenvolver seu sistema radicular. Dameda et al. (2014) estudando a influência de diferentes substratos e do ácido indolbutírico na propagação vegetativa de *Malva sylvestris* (malva-cheirosa) observaram que as maiores médias para massa seca da raiz, massa fresca e seca da parte aérea foi encontradas nas concentrações de 1,5 g L⁻¹ de AIB com substrato

MecPlant®, assemelhando-se aos resultados encontrados para *L. origanoides* Kunth na presente pesquisa.

Paulus et al. (2014), também observaram que a concentração de 1500 mg L⁻¹ de AIB resultou em maior massa da matéria fresca e seca da parte aérea 0,84 e 0,35 g planta⁻¹, respectivamente, e maior comprimento do sistema radicular (20 cm) em plantas de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton. Por outro lado, o mesmo autor relata que, para massa seca da raiz não ocorreu efeito significativo em função das concentrações avaliadas (500, 1000 e 1500 mg L⁻¹). Na presente pesquisa estacas tratadas com 1000 mg L⁻¹ de AIB apresentou decréscimo na massa seca dos brotos, das raízes e massa seca total quando enraizada no substrato areia, mostrando existência de variações nas respostas às concentrações de hormônio exógeno.

Os resultados obtidos nas mudas cultivadas em substrato comercial na presente pesquisa sugere que a utilização de concentrações acima de 1000 mg L⁻¹ pode ser uma alternativa para aumentar a massa da parte aérea de *L. origanoides* Kunth. No entanto, é válido lembrar que cada espécie possui uma resposta fisiológica própria em função das concentrações de reguladores vegetais. Por outro lado, nem todos os substratos comerciais são compatíveis com utilização de AIB.

3.2 Experimento 2: Estacas medianas com dois pares de folhas

Na Figura 5 encontram-se os resultados das porcentagens de enraizamento das estacas de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas e tratadas com ácido indol butírico (AIB). Nota-se que a equação polinomial quadrático apresentou melhor ajustou com coeficiente de regressão igual a 0,9992 e significância a 5% para o substrato areia. Enquanto que o substrato comercial apresentou uma equação linear decrescente e não significativo.

Não houve diferenças significativas para porcentagem de enraizamento quando se utilizou o regulador vegetal. Porém, a maior média de enraizamento (83,33%) foi observada no substrato areia e sem adição de AIB, em relação ao substrato comercial (75%). Na presença de AIB houve decréscimo nas porcentagens de enraizamento em todos os tratamentos. No substrato comercial também não houve incremento dos tratamentos com AIB, apenas a concentração de 500 mg L⁻¹ respondeu positivamente em relação às demais concentrações, não diferenciando da testemunha.

Resultados semelhantes também foram obtidos por Biase e Costa (2003) em *L. alba*, ao estudarem diferentes tipos de estacas e substratos, os quais não encontraram diferenças

significativas quanto ao enraizamento, com média geral de 98,6% para o efeito das estacas e 89,1% para o efeito substrato, sendo 100% de enraizamento para as estacas medianas com 4 folhas.

Oliveira et al. (2008) estudando diferentes tipos estacas de *L. sidoides* e concentrações de AIB, verificaram que não houve diferença significativa para os tipos de estacas e substratos testados quanto à porcentagem de enraizamento. Entretanto, constataram que essa espécie apresentou dificuldades na formação de raízes, destacando que as estacas com dois pares de folhas obtiveram menores índices de mortalidade em relação às estacas sem folhas.

Pereira et al. (2015) estudando diferentes concentrações de AIB (1000 e 2000 mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹) e forma de aplicação (solução ou talco) em *Tibouchina moricandiana* (quaresmeira) observaram que os mesmos não interferiram no percentual de enraizamento, sendo que o enraizamento não foi influenciado pela presença ou formas da auxina.

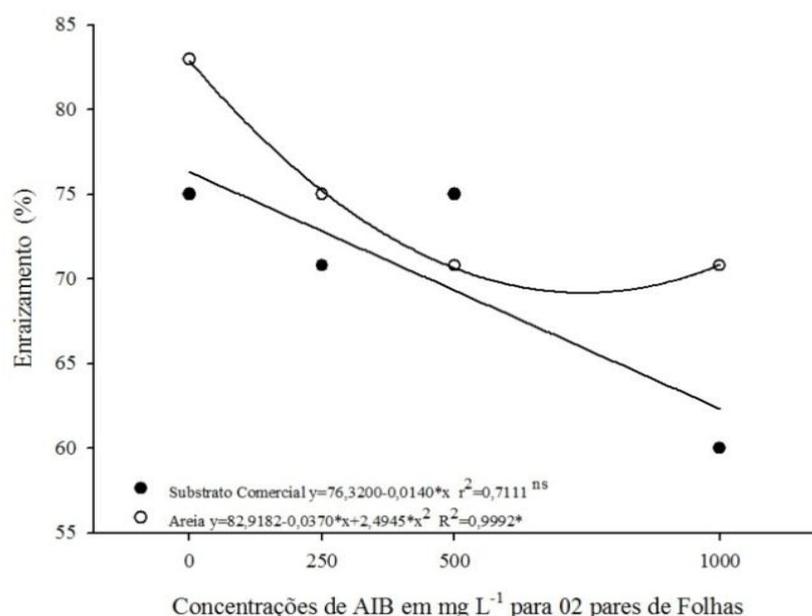


Figura 5. Porcentagens de enraizamento das estacas de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).

Para as estacas de *L. origanoides* Kunth contendo dois pares de folhas não se observou dificuldade de enraizamento, tornando independente da utilização de hormônio exógeno, pois as mesmas demonstraram potencial de enraizamento semelhante nos dois tipos de solo, tendo em vista que, as médias obtidas nos tratamentos testemunha com areia e substrato foram de 83,33 e 75%, respectivamente, consideradas satisfatórias. Resultados semelhantes também

foram observados por Cunha et al. (2015) em estacas de *Piper hispidum* (matico), obtendo maior porcentagem de enraizamento em areia lavada e substrato comercial (81,56% e 81,33%), respectivamente, sem adição de hormônio.

Herreira-Moreno et al. (2013) estudando em acessos de *L. origanoides* e uma *Asteraceae* da espécie *Tagetes zypaquirensis* verificaram que as estacas propagadas na ausência de hormônio exógeno apresentaram percentuais de enraizamento considerados altos (57-83%) em relação às propagadas na presença de hormônio (33 e 53%), sendo que na ausência do hormônio observaram raízes mais longas com maior número de raízes. Isso comprova que algumas espécies vegetais possuem fisiologia de resposta diferenciada na inserção de reguladores exógenos, podendo assim tornar suficiente o hormônio vegetal já existente na própria planta.

Resultados contrários foram obtidos por Pimenta et al. (2007) ao pesquisar o desenvolvimento de várias espécies não domesticadas do gênero de *Lippia*, como *L. filifolia*, *L. glandulosa*, *L. hermannioides*, *L. Rosella*, *L. rotundifolia* e *L. sidoides*, as quais mostraram baixa capacidade de enraizamento, independente da estação do ano e da concentração de auxina quando comparadas com a espécie cultivada *L. alba*.

Durante o experimento foi possível observar que a areia permaneceu sempre úmida na região da raiz, com melhor sustentabilidade no intervalo de irrigação ao longo do dia. Por outro lado, no substrato comercial percebeu-se maior perda de umidade, apresentando aspecto seco, necessitando de irrigação por um período mais frequente.

Vários fatores podem influenciar o potencial de enraizamento das espécies, como a quantidade e qualidade de hormônio endógeno existente na planta, assim como a genética, tipo de solo, temperatura e umidade, dentre outros. De acordo com Paulus et al. (2014), o teor adequado de auxina, para o estímulo do enraizamento, depende da espécie e da concentração de auxina existente no tecido da planta, sendo que o fornecimento exógeno de auxina, em certas quantidades, pode promover alteração hormonal, favorecendo ou não o enraizamento.

Na Figura 6 observam-se os resultados da altura, número de brotos, número de folhas e área foliar de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas e tratadas com doses de AIB aos 90 DAT. Melhor ajuste do substrato comercial ocorreu no modelo polinomial quadrático com significância a 1% de probabilidade e coeficiente de regressão igual a 1,0 para o número de brotos (Figura 6 B), enquanto que para substrato areia houve significância a 5% de probabilidade e coeficiente de regressão igual a 0,9658 para o número de folhas em linear decrescente (Figura 6 C). No substrato areia houve ajuste polinomial quadrático sendo

significativo a 5% de probabilidade e coeficiente de regressão igual a 0,9998 para a variável área foliar (Figura 6 D).

No geral, não houve diferenças significativas entre as concentrações de AIB, uma vez que as estacas tratadas apresentaram decréscimo para as variáveis avaliadas. No entanto, houve um incremento na concentração de 250 mg L⁻¹ para variável altura dos brotos e na concentração 500 mg L⁻¹ para a variável área foliar quando cultivadas no substrato areia (Figura 6 A e D). Já no substrato comercial houve aumento linear crescente com incremento na concentração de 1000 mg L⁻¹ de AIB para altura total dos brotos e número de folhas (Figura 6 A e C). Não houve diferenças na área foliar das estacas tratadas com AIB e cultivadas em substrato comercial (Figura 6 D).

Ao compararmos a eficiência dos substratos, verificou-se que a areia foi significativamente superior para a variável área foliar em todas as concentrações, assim como para o número de folhas na concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB e na testemunha em relação aos tratamentos do substrato comercial.

Trabalhos realizados por Silva et al. (2015) em *L. origanoides* mostraram que maior número de folhas (25/planta) foi obtido na concentração de 125 mg/L de AIB, enquanto que o maior comprimento de raiz foi observado utilizando-se a concentração estimada de 278 mg/L de AIB, ambas cultivadas em substrato composto pela mistura de Biomix e vermiculita.

Menor número de folhas também foi observado por Tognon e Petry, (2012) em *Ipomoea cairica* (corda-de-viola) cultivada com 1000 mg L⁻¹ de AIB em casca de arroz carbonizada. Resultados diferentes foram observados por Alcântara et al. (2008), estudando o efeito do AIB em miniestaca de *Pinus taeda* L. (Pinus), os quais verificaram que as variáveis envolvidas na definição da qualidade da raiz formada (comprimento, número e massa de raízes) apresentam os melhores resultados com a aplicação de 250 mg L⁻¹ de AIB, para todas as épocas do ano.

Estacas apicais com 2 pares de folhas apresentaram índices de mortalidade mais baixos que as estacas sem folhas e não diferiram significativamente na quantidade dos brotos, apesar desta segunda ter obtido uma maior quantidade de folhas expandidas (OLIVEIRA et al., 2008). Pio et al. (2005), ao estudar enraizamento de diferentes tipos de estacas de *Olea europaea* L. (oliveira) utilizando AIB, não verificaram diferenças significativas para o comprimento médio das brotações, porém melhores resultados de comprimento médio das raízes foram observados na maior concentração (3000 mg L⁻¹) de AIB e em estacas com dois pares de folhas. Tognon e Petry (2012) observaram que nas variáveis porcentagens de

enraizamento, número de folhas e número de raízes de *ipomea cairica* (ipomeia), os tratamentos não diferiram estatisticamente, mas as estacas com a presença de folhas apresentaram maiores médias com relação às estacas sem folhas.

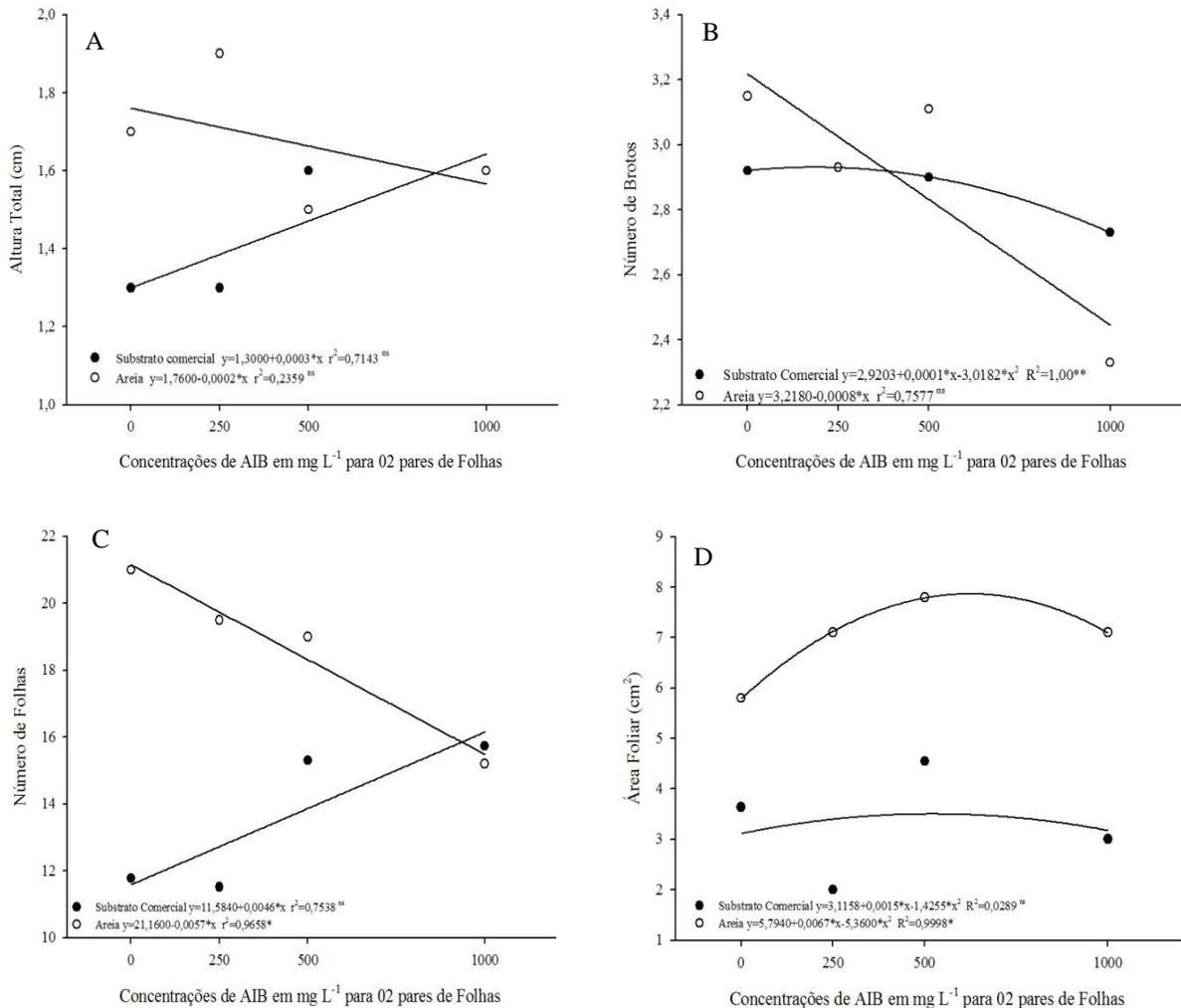


Figura 6. Altura total (A), número de brotos (B), número de folhas (C), área foliar (D) de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e concentrações de ácido indol butírico (AIB).

Yamamoto et al. (2010) ao testarem dois tipos de AIB (solução e talco) e duas concentrações (1000 e 2000 mg L^{-1}) em estacas herbáceas de *Psidium guajava* L. (goiabeira), observaram que a concentração de 2000 mg L^{-1} não só aumentou a percentual, como também o número e o comprimento das raízes, sendo que o tratamento de AIB veiculado em talco foi significativamente superior para a variável comprimento das raízes. Paulus et al. (2014) testando diferentes concentrações de AIB (500 , 1000 e 1500 mg L^{-1}) em *Aloysia triphylla*

(Cidrô), verificaram maior número de brotos e comprimento do sistema radicular na dosagem de 1500 mg L⁻¹ de AIB.

Diante desses resultados verificou-se que as estacas de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas não apresentaram dependência de auxina exógena para constituição e desenvolvimento de seus brotos nas três concentrações (250, 500, 1000 mg L⁻¹) testadas em substrato comercial bioflora® e em areia. Analisando os resultados obtidos para a brotação e desempenho das raízes, pôde-se aferir que as concentrações AIB testadas nessa espécie não surtiram efeito, levando a crer que a auxina endógena presente nas estacas com dois pares de folhas é suficiente para a formação da muda, não necessitando da utilização de AIB para esse caso. Silva et al. (2015) ao observarem 100% de enraizamento em estacas de *L. origanoides* (alecrim-de-tabuleiro), relataram que a produção endógena de auxina, possivelmente, foi suficiente para a promoção da rizogênese nessas estacas, sem a necessidade do uso de biorreguladores vegetais.

A presença de dois pares de folhas pode ter beneficiado as estacas de *L. origanoides* Kunth com maior taxa fotossintética e, conseqüentemente maior produção de carboidrato, favorecendo o seu enraizamento e desenvolvimento dos brotos. Segundo Hartmann et al. (1997), o crescimento das raízes está diretamente relacionado com a continuidade da fotossíntese na estaca pelo efeito das folhas, fornecendo carboidratos, hormônios e outras substâncias necessárias.

Para a massa seca do broto, massa seca da raiz e massa seca total das mudas de *L. origanoides* Kunth observou-se uma distribuição polinomial quadrático e linear. Não houve diferenças significativas entre os substratos avaliados, porém maiores valores de massa seca do broto, massa seca da raiz e massa seca total foi observados no substrato areia. A concentração de 250 mg L⁻¹ AIB foi superior aos demais tratamentos, não diferindo da testemunha. No entanto, houve decréscimo do peso de massa seca de raiz e massa seca total quando se aumentou as concentrações de AIB (Figura 7 A, B e C).

Para o substrato comercial houve um aumento linear crescente, com maior valor de massa seca do broto, massa seca da raiz e massa seca total na concentração de 1000 mg L⁻¹ de AIB, porém inferiores ao substrato areia (Figura 7 A, B e C). De acordo com esse resultado, pode-se aferir que altas concentrações de AIB associada ao substrato comercial pode favorecer o aumento da massa dos brotos e das raízes. No entanto, vale lembrar que cada espécie possui uma resposta diferenciada na utilização da auxina exógena, além da

interferência dos fatores externos, como o clima, temperatura, luminosidade e outros, que podem ter contribuído para obtenção desses resultados.

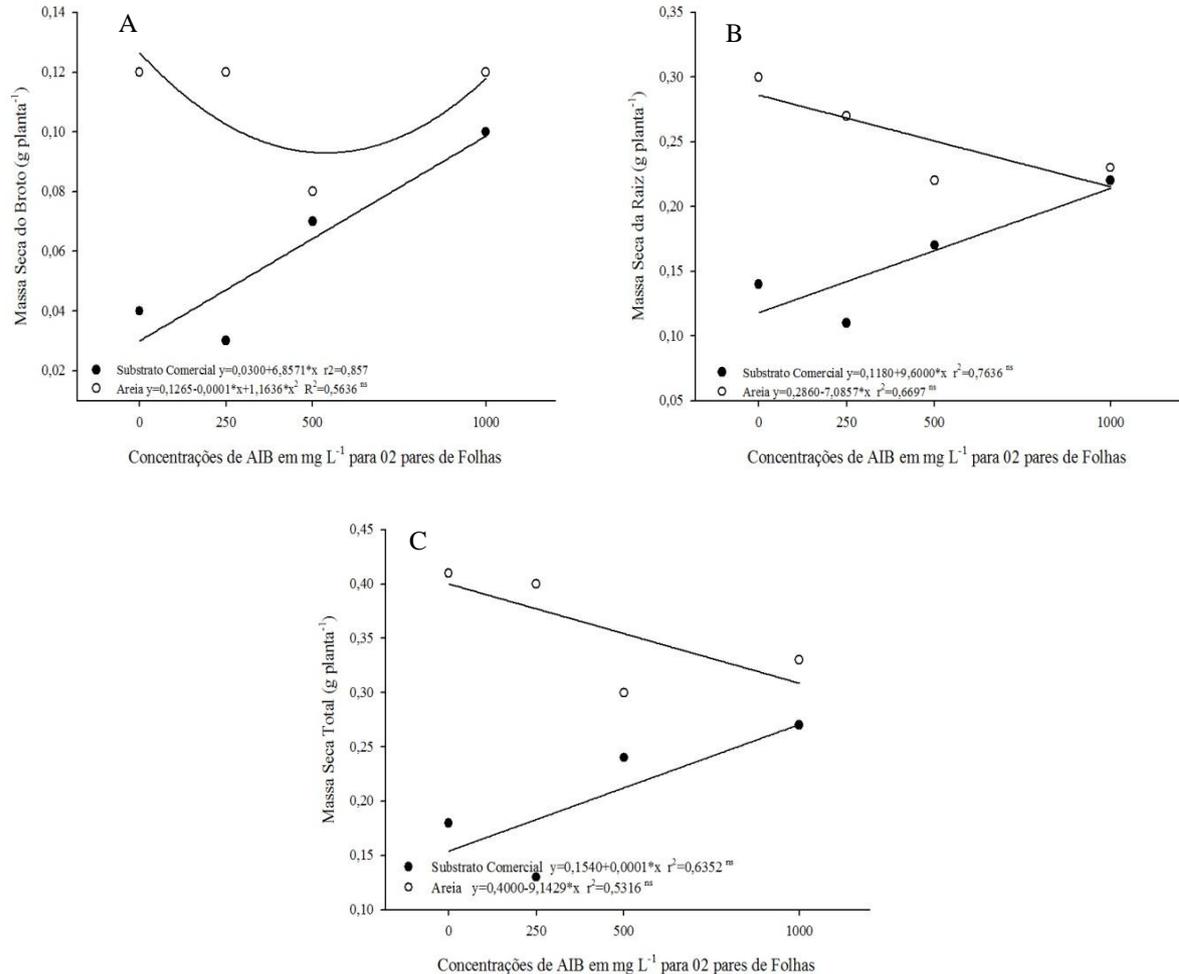


Figura 7. Massa seca do broto (A), massa seca da raiz (B) e massa seca total (C) de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas após 90 dias de propagação em substrato comercial ou areia e de ácido indol butírico (AIB).

Herreira-Moreno et al. (2013) ao estudarem o estabelecimento de métodos de propagação de *L. origanoides* acessos CA-90 e CA-93, *L. alba* CA-300 e uma *Asteraceae* da espécie *Tagetes zypaquirensis* acesso CA-247, observaram que o peso seco da raiz não foi influenciado pelo substrato ou concentração de AIB. Também relataram que o desempenho de *L. origanoides* nos métodos de propagação por estaca avaliados foi relativamente pobre e pode exigir métodos mais complexos e melhorados para obter resultados mais satisfatórios.

De modo geral, o melhor substrato para promover acumulação de massa seca da parte aérea e da raiz de *L. origanoides* Kunth em estacas com dois pares de folhas foi observado na

areia, sendo que a concentração de 250 mg L^{-1} foi mais eficiente na maioria das variáveis avaliadas e em relação ao substrato comercial.

Apesar de não ter obtido diferenças significativas entre os substratos avaliados, Oliveira et al. (2008) concluíram que maior quantidade de brotos formados, folhas expandidas e maior peso da matéria fresca em estacas de *L. sidoides* Cham., foram observados no substrato areia. Nesse sentido, o substrato areia pode ser uma boa opção para formação e desenvolvimento das raízes e da parte aérea dessa espécie estudada.

A areia, além de apresentar densidade adequada para sustentar as estacas é um material constituído de menor compactação que pode favorecer a aeração e conseqüentemente melhorar a oxigenação no enraizamento das estacas. Silva et al. (2015), ressaltam que no cultivo, além do enraizamento e sobrevivência das estacas, é desejável a obtenção de mudas com bom desenvolvimento, tanto do sistema radicular quanto da parte aérea, para a garantia de alta taxa de sobrevivência após o transplante e rápido estabelecimento no campo.

Nessa pesquisa, a areia constituiu o substrato mais adequado para o enraizamento e desenvolvimento das estacas de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas e sem acréscimo de AIB. De acordo com Cunha et al. (2015), a areia por apresentar maior quantidade de macroporos contribui com aeração na base das estacas, facilitando o enraizamento e diminuindo a mortalidade.

Por outro lado, como as estacas foram coletadas antes da incidência de raios solares e da iniciação fotossintética, acredita-se que as mesmas tenham acumulado maior quantidade de hormônio natural no período noturno de forma a transferir para a base de incisão das estacas. A presença de folhas nas estacas de *Ipomoea cairica* (ipomeia) apresentou influência positiva para o comprimento da maior raiz, massa fresca da parte aérea, massa fresca de raiz e massa seca de raiz (TOGNON E PETRY, 2012).

Os resultados obtidos nessa pesquisa evidenciam que não há necessidade da utilização de hormônio exógeno na propagação de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas em substrato areia, uma vez que não se observou nenhuma diferença nos tratamentos com AIB, dessa forma acredita-se que essa espécie possua um balanço endógeno adequado, ou seja, apresenta um equilíbrio entre os hormônios promotores e inibidores nas regiões apicais das raízes e das folhas.

4 CONCLUSÃO

4.1 Experimento 1: Estacas medianas com um par de folhas

Considerando as condições em que foi desenvolvido esse trabalho e a partir dos resultados obtidos, conclui-se que é possível a propagação de *L. origanoides* Kunth por meio do substrato areia e com a utilização de AIB.

A concentração de 250 mg L⁻¹ no substrato areia favorece 100% o enraizamento, aumenta o número de brotos e de folhas, peso seco de brotos e de raízes e massa seca total.

A concentração de 500 mg L⁻¹ favorece a área foliar e a concentração de 1000 mg L⁻¹ favorece a altura total dos brotos em substrato areia.

A areia é o melhor substrato para o enraizamento das estacas e formação de mudas da espécie *L. origanoides* Kunth quando comparado com o substrato comercial.

4.2 Experimento 2: Estacas medianas com dois pares de folhas

A aplicação de AIB não influencia a porcentagem de enraizamento das estacas no substrato comercial e na areia.

A concentração de 250 mg L⁻¹ de AIB favorece a altura total dos brotos e área foliar no substrato areia.

No substrato comercial, maior média de altura, número de brotos, massa seca de brotos, de raízes e massa seca total foi obtido na concentração de 1000 mg L⁻¹ AIB, porém inferior ao substrato areia.

Apesar de não apresentar diferenças significativas nas respostas às concentrações de AIB, conclui-se que a areia e as estacas de dois pares de folhas são suficientes para produzir mudas de *L. origanoides* Kunth.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCANTARA, G. B. DE; RIBAS, L. L. F.; HIGA, A. R.; RIBAS, K. C. Z. Efeitos do ácido indolilbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes estações do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Forestalis**, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.

ALCANTARA, G. B.; OLIVEIRA, Y.; LIMA, D. M.; FOGAÇA, L. A.; PINTO, F.; BIASI, L. A. Efeito dos ácidos naftaleno acético e indolilbutírico no enraizamento de estacas de jambolão [*Syzygium cumini* (L.) Skeels]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinal**, v. 12, n. 3, p. 317-321, 2010.

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

BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Estaquia de *Ginkgo biloba* L. utilizando três substratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 2, p. 135-140, 2010.

CASTRO, A. H. F.; ALVARENGA, A. A. DE. Influência do ácido indol-3-butírico no crescimento inicial de plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 96-101, 2001.

CUNHA, A. L. B.; CHAVES, F. C. M.; BATISTA, A. C.; HIDALGO, A.F. Propagação vegetativa de estacas de *Piper hispidum* Sw. em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinal**, v. 17, n. 4, p. 685-692, 2015.

DAMEDA, M.; FREITAS, E. M. DE; REMPEL, C. Influência de diferentes substratos e do ácido indolbutírico na propagação vegetativa de *Malva sylvestris*. **Caderno Pedagógico, Lajeado**, v. 11, n. 1, p. 42-52, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia. UFLA**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

HARTMANN, H. T; KESTER, D. E. **Propagación de plantas: principios y practicas**. Ciudad del Mexico: Compania. Editora Continental, 1990, 760 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T. **Propagación de plantas: principios y praticas**. 5ª edição. México: Continental, 1997.

HERRERA-MORENO, A. M.; CARRANZA, C. E.; SÁNCHEZ, M. I. C. Establecimiento de métodos de propagación para el cultivo de especies vegetales aromáticas promisorias en Colombia de los géneros *Lippia* (Verbenaceae) y *Tagetes* (Asteraceae). **Agronomía Colombiana**, v. 31, n. 1, p. 27-37, 2013.

LIMA, D. M. DE; SILVA, C. L. DA; RITTER, M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Substratos e auxinas no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 1, p. 85-89, 2008.

LUZ, P. B. DA; PAIVA, P. D. DE O.; LANDGRAF, P. R. C. Influência de diferentes tipos de estacas e substratos na propagação assexuada de hortênsia [*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.]. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 699-703, 2007.

MELO, B. DE; PINTO, J. E. B. P.; LUZ, J. M. Q.; PEIXOTO, J. R.; JULIATTI, F. C. Efeito de ANA e AIB no enraizamento e crescimento da parte aérea da plântula da guarirrobeira [*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.]. **Bioscience Journal**, v. 17, n. 1, p. 49-59, 2001.

MENDES, A. D. R.; LACERDA, T. H. S.; ROCHA, S. M. G.; MARTINS, E.R. Reguladores vegetais e substratos no enraizamento de estacas de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira Plantas Medicinas**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 262-270, 2014.

MIRANDA, C. S.; CHALFUN, N. J.; HOFFMANN, A.; DUTRA, L. F.; COELHO, G. V. A. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro ‘Okinawa’ e umezeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 778-784, 2004.

O’LEARY, N.; DENHAM, S. S.; SALIMENA, F.; MÚLGURA, M. E. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbanaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 170, p. 197-219, 2012.

OLIVEIRA, A. F. DE; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; REGINA, M. DE A.; RINCÓN, C. D. R. Enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira sob efeito de diferentes épocas, substratos e concentrações de ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 1, p. 117-125, 2003b.

OLIVEIRA, A. P. DE; NIENOW, A. A.; CALVETE, E. DE O. Capacidade de enraizamento de estacas semilenhosas e lenhosas de cultivares de pessegueiro tratadas com AIB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 282-285, 2003a.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides*. **Food Chemistry**, 101, p. 236-240, 2007.

OLIVEIRA, G. L.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A. Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham. utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 4, p. 12-17, 2008.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, 76, p. 201-214, 2001.

PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D.; VALE, M. R.; SILVA, C. R. R. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA: FAEPE, 2001, 137 p.

PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; TOFFOLI, E.; PAULUS, E. Propagação vegetativa de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton em função da concentração de AIB e do comprimento das estacas. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 16, n. 1, p. 25-31, 2014.

PEREIRA, M. DE O.; GRABIAS, J.; ZUFFELATTO-RIBAS, K. C. E.; NAVROSKI, M. C. Enraizamento de estacas de *Tibouchina moricandiana* var. *vinacea* em função da forma de aplicação e concentrações de AIB. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 3, p. 210-216, 2015.

PIMENTA, M. R., FERNANDES, L. S., PEREIRA, U. J; GARCIA, L. S.; LEAL, S. R.; LEITÃO, S. G.; SALIMENA, F. R. G.; VICCINI, L. F.; PEIXOTO, P. H. P. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 2, p. 211-220, 2007.

PIO, R.; BASTOS, D. C.; BERTI, A. J.; SCARPARE FILHO, J. A.; MOURÃO FILHO, F. DE A. A.; ENTELMANN, F. A.; ALVES, A. S. R.; BETTIOL NETO, J. E. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) utilizando ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 562-567, 2005.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Editora Guanabara Koogan S.A. Sexta edição, 2001, 879 p.

SARRAZIN, S. L. F.; SILVA, L. A. DA; OLIVEIRA, R. B.; RAPOSO, J. D. A., SILVA, J. K. R. DA; SALIMENA, F. R. G.; MAIA, J. G. S.; MOURÃO, R. H. V. Antibacterial action against food-borne microorganisms and antioxidant activity of carvacrol-rich oil from *Lippia organoides* Kunth. **Lipids in Health and Disease**, 14, p. 145, 2015.

SILVA, G. C.; OLIVEIRA, L. M.; LUCCHESI, A. M.; SILVA, T. R. S.; NASCIMENTO, M. N. Propagação vegetativa e crescimento inicial de *Lippia organoides* (alecrim-de-tabuleiro). **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 236-240, 2015.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. RUÍZ, C. A.; ARIAS, G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **Journal of Separation Science**, 33, p. 93-103, 2010.

TOGNON, G. B.; PETRY, C. Estaquia de *Ipomoea cairica* (L.) Sweet. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 470-475, 2012.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical Composition of the *Lippia organoides* Essential Oils and Their Antigenotoxicity against Bleomycin-Induced DNA Damage. **Fitoterapia**, v. 81, p. 343-349, 2010.

VILLA, F.; PIO, R.; CHALFUN, N. N. J.; GONTIJO, T. C. A.; COELHO, J. H. C.; DUTRA, L. F. Enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira riparia de ‘traviú’ tratadas com auxinas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1426-1431, 2003.

YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, R. DE SÁ; SORACE, M.; RACHID, B. F.; RUAS, J. M. F.; SATO, O.; ASSIS, A. M. DE; ROBERTO, S. R. Enraizamento de estacas de *Psidium guajava* L. ‘Século XXI’ tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco e álcool. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, 2010.

CAPÍTULO II

PRODUÇÃO DE BIOMASSA E DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth EM FUNÇÃO DE DOSES DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA E QUÍMICA

RESUMO: Conhecer as exigências nutricionais das plantas medicinais nativas é um dos fatores essenciais para a implantação de um cultivo promissor e sustentável, contribuindo para diminuição do processo extrativista e coletas indiscriminadas das espécies ainda existentes. Objetivou-se com esse trabalho avaliar o crescimento de plantas de *L. origanoides* Kunth, utilizando adubação orgânica e química para produção de biomassa e óleo essencial. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições, a seguir descritos: 40 kg N ha⁻¹, equivalente 89 kg ha⁻¹ de ureia (T1); 60 kg N ha⁻¹, equivalente 133 kg ha⁻¹ de ureia (T2); 120 kg de N ha⁻¹, equivalente a 267 kg ha⁻¹ de ureia (T3); 60 kg N, P₂O₅ e K₂O ha⁻¹, equivalente, 133 kg ha⁻¹ de ureia, 353 kg ha⁻¹ de superfosfato simples e 100 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio, respectivamente (T4); 3,1 toneladas ha⁻¹ de esterco bovino (EB), equivalente a 40 kg N ha⁻¹ (T5); 4,6 toneladas ha⁻¹ (EB), equivalente a 60 kg N ha⁻¹ (T6); 9,2 toneladas ha⁻¹ (EB), equivalente a 120 kg N ha⁻¹ (T7); Testemunha - sem adubação química e orgânica (T8). Os adubos constituíram de ureia (45% de N), superfosfato simples (17% de P₂O₅) e cloreto de potássio (60% de K₂O). Avaliou-se o crescimento absoluto, diâmetro do caule e de copa a cada 30 dias e área foliar (AF), massa seca da folha, (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST), comprimento de raiz (CR), teor de óleo essencial (OE), macronutrientes e micronutrientes foliares aos 150 dias. A adubação com esterco bovino e adubação com NPK favoreceu o crescimento, diâmetro do caule, diâmetro de copa, área foliar e massa seca total. A adubação com 4,6 t ha⁻¹ de esterco bovino, equivalente a 60 kg N ha⁻¹, apresentou maior crescimento absoluto de *L. origanoides* Kunth aos 150 dias de cultivo. Maior produção de óleo essencial e acúmulo de teor de P e Zn nas folhas foi obtido na dose de 9,2 t ha⁻¹ de esterco bovino, equivalente a 120 kg N ha⁻¹. A adubação com NPK favoreceu o acúmulo de manganês nas folhas. Menor acúmulo dos teores de cálcio e potássio foi observado nos tratamentos adubados apenas com nitrogênio.

Palavras-chave: Plantas medicinais; esterco bovino; nutrição mineral.

CHAPTER II

BIOMASS PRODUCTION AND ESSENTIAL OIL OF *Lippia origanoides* Kunth DUE TO ORGANIC FERTILIZER LEVELS AND CHEMICAL

ABSTRACT: Meeting the nutritional requirements of native medicinal plants is one of the essential factors for the implementation of a promising and sustainable farming, contributing to reduction in the extraction process and indiscriminate collection of remaining species. The aim of this study was to evaluate the growth of plants of *L. origanoides* Kunth using organic fertilizer and chemical for the production of biomass and essential oil. The experimental design was completely randomized, with eight treatments and 10 repetitions, described below: 40 kg N ha⁻¹, equivalent to 89 kg ha⁻¹ of urea (T1); 60 kg N ha⁻¹, equivalent to 133 kg ha⁻¹ of urea (T2); 120 kg N ha⁻¹, equivalent to 267 kg ha⁻¹ of urea (T3); 60 kg N, P₂O₅ and K₂O ha⁻¹, equivalent to 133 kg ha⁻¹ of urea, 353 kg ha⁻¹ of superphosphate and 100 kg ha⁻¹ of potassium chloride, respectively (T4); 3,1 tons ha⁻¹ of cattle manure (EB), equivalent to 40 kg N ha⁻¹ (T5); 4,6 tons ha⁻¹ of cattle manure (EB), equivalent to 60 kg N ha⁻¹ (T6); 9,2 tons ha⁻¹ of cattle manure (EB), equivalent to 120 kg N ha⁻¹ (T7); Witness - without chemical fertilizer and organic (T8). The fertilizer consisted of urea (45% N), superphosphate (17% P₂O₅) and potassium chloride (60% K₂O). We evaluated the absolute growth, stem diameter and crown every 30 days and leaf area (AF), dry weight of leaf (MSF), dry mass of the stem (MSC), root dry mass (MSR), mass dry total (MST), root length (CR), essential oil content (OE), macronutrients and foliar micronutrients to 150 days. The fertilization with manure and NPK fertilization favored growth, stem diameter, crown diameter, leaf area and total dry mass. The fertilization with 4.6 t ha⁻¹ of manure, equivalent to 60 kg N ha⁻¹, showed the highest absolute growth of *L. origanoides* Kunth to 150 days of cultivation. Increased production of essential oil and P content and accumulation of Zn in the leaves was obtained at a dose of 9.2 t ha⁻¹ of manure, equivalent to 120 kg N ha⁻¹. The NPK fertilization favored manganese accumulation in the leaves. Less accumulation of calcium and potassium levels was observed in treatments fertilized only with nitrogen.

Keywords: Medicinal plants; cattle manure; mineral nutrition.

1 INTRODUÇÃO

A procura por plantas medicinais no Brasil e no mundo vem crescendo devido à importância de seus compostos químicos para fabricação de fármacos, cosméticos, perfumaria e, principalmente na medicina. A importância das plantas medicinais para a química e a medicina moderna tem levado a estudos de seus campos específicos e assim, muitas substâncias ativas estão sendo conhecidas e introduzidas na terapêutica como medicamentos (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Os fitoterápicos tendem a desempenhar funções cada vez mais importantes na assistência à saúde da população por apresentar efeitos positivos e preços acessíveis (DAVID et al., 2004).

Lippia origanoides Kunth é um arbusto aromático de até 3 metros de altura, conhecida popularmente como “Salva-de-marajó”, “Alecrim d’ Angola” e “Orégano de Monte” (OLIVEIRA et al., 2007; VICUÑA et al., 2010; STASHENKO et al., 2010), ainda pouco estudada no Brasil. Essa espécie possui grande importância na região de Oriximiná no Pará, Norte do Brasil, onde a população utiliza para o tratamento de dor de estômago, cólica do bebê, indigestão, diarreia, azia, náuseas, flatulências, problemas de garganta, antisséptico geral para boca, febre, inflamação uterina e assepsia de feridas em geral (OLIVEIRA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2007).

Os aromas das espécies *Lippia* estão relacionados aos constituintes químicos (terpenos) predominantes nos óleos essenciais, misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas (CASTRO et al., 2004). Dessa forma, cada planta apresenta um conjunto de substâncias “*bouquet*”, sendo que aquelas com maior proporção relativa no óleo definem o quimiotipo (YAMAMOTO, 2006). Alguns fatores podem influenciar na qualidade e quantidade dos constituintes químicos do óleo essencial. Dentre esses fatores, o adubo é um dos responsáveis pela elevação da produtividade e qualidade dos produtos obtidos (SANTOS et al., 2012).

O conhecimento agrônomico sobre as plantas medicinais encontra-se em estágio inicial, quando comparado às outras culturas, principalmente quanto à sua nutrição mineral, aspecto de elevada importância na obtenção do produto final (SERRA et al., 2011). Adubos orgânicos e biofertilizantes podem propiciar importante crescimento para as plantas medicinais e aromáticas, aumentar a produção, a qualidade e a segurança para os seres humanos, animais e para o ambiente (AL-FRAIHAT et al., 2011). Ao estudar o efeito da adubação mineral na produção de biomassa em capim citronela, Seixas et al. (2013),

verificaram que a maior dose de adubo mineral utilizada, em todas as variáveis estudada propiciou as maiores taxas de crescimento no período avaliado.

A maioria dos estudos com plantas medicinais no Brasil tem sido realizada com plantas exóticas e, quando se trata de plantas nativas, estes trabalhos, além de escassos, têm sido pouco abrangentes (TAVARES et al., 2012). Por outro lado, há poucas informações sobre adubação em plantas medicinais nativas, sobretudo aquelas recém-implantadas no sistema doméstico. Os adubos orgânicos e os minerais quando utilizados racionalmente podem favorecer o desempenho físico, químico e biológico das plantas medicinais, proporcionando maior produção de biomassa e principalmente os seus princípios ativos que é de grande interesse para a pesquisa. *L. organoides* Kunth é uma espécie medicinal selvagem com poucos estudos relacionados ao seu crescimento e desenvolvimento.

Conhecer as exigências nutricionais dessa planta nativa é essencial para a sua produção em maior escala, suprimindo a demanda de matéria prima para o mercado interessado e conseqüentemente, contribuindo para a diminuição do processo extrativista e coletas indiscriminadas de plantas ainda existentes desta espécie na natureza. Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito da adubação orgânica e química em plantas de *Lippia organoides* Kunth, considerando a produção de biomassa e teor de óleo essencial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização desse trabalho coletou-se material vegetal da espécie *L. organoides* Kunth no Vilarejo Castelo, município de Gurupá (MA), localizado a 09°50'29" de latitude sul e 45°56'01" de longitude oeste. Após confecção das exsiccatas, o material foi depositado no Herbário da Universidade Federal do Tocantins, Câmpus de Porto Nacional, encontrando-se registrado sob número 10713. A identificação da espécie foi realizada pela Dra. Fátima Regina S. Salimena, da Universidade Federal de Juiz de Fora (MG).

A pesquisa foi conduzida na Universidade Federal do Tocantins (UFT), Câmpus de Gurupi, situada a 11°44'46" de latitude sul e 49°03'10" longitude oeste, com altitude média de 277 metros. Essa região possui duas estações bem definidas, sendo o período chuvoso no verão (outubro a março) e período seco no inverno (abril a setembro), cuja temperatura média anual de 2014 na região foi de 26,9 °C, sendo a máxima de 33,0 °C e a mínima de 20,9 °C, com umidade média anual de 73,7 % e precipitação de 119,1 (Figura 1).

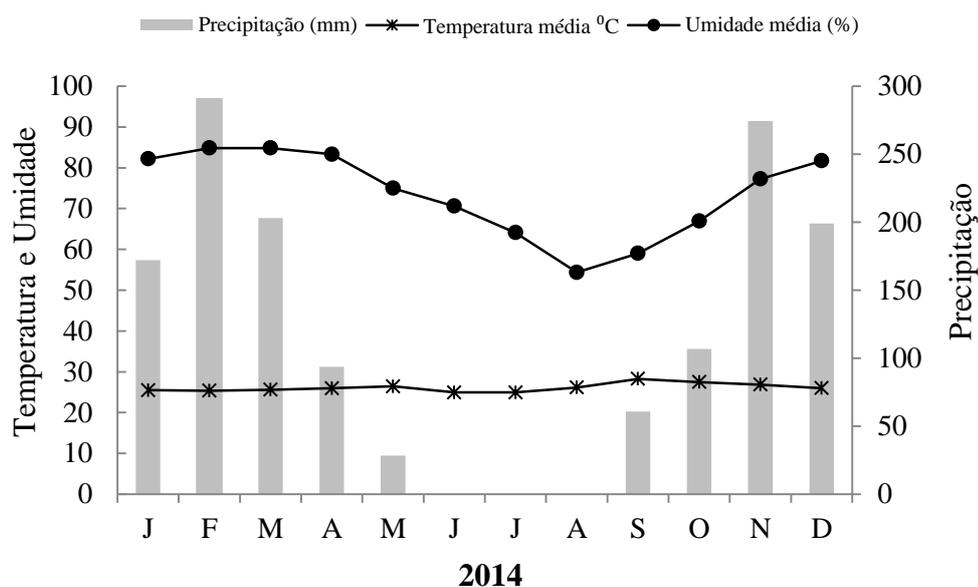


Figura 1. Variáveis climáticas registradas na estação experimental do Câmpus de Gurupi da Universidade Federal do Tocantins (Estação Meteorológica - UFT, 2014).

As mudas de *Lippia origanoides* Kunth foram formadas a partir de estacas de plantas nativas, com 10 cm de comprimento, sem folhas em copos de plástico com capacidade para $0,2 \text{ dm}^3$. As estacas apresentaram um diâmetro semelhante, e foram retiradas da porção inferior da planta. O substrato utilizado foi uma mistura de solo de mata nativa e esterco bovino curtido, na proporção de 3:1 respectivamente. As estacas foram mantidas em viveiro com sombrite de 50%, distribuídos em bancadas com grades de arame suspenso e a irrigação mantida na capacidade de campo.

Aos 90 dias do plantio das estacas, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade para oito dm^3 de solo com adubação química e orgânica. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo e apresentou as seguintes características na análise química (Tabela 1), realizado de acordo com a metodologia da Embrapa (1997) e Mendonça e Matos (2005).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições, contendo uma planta em cada vaso, totalizando 80 plantas de *Lippia origanoides* Kunth. Os tratamentos constaram da formação do substrato dos vasos com diferentes doses de ureia (N), uma mistura de ureia com superfosfato simples e cloreto de potássio, e adubação orgânica (esterco bovino - EB), distribuídos das seguintes formas: **tratamento 1:** 40 kg de N ha^{-1} , equivalente 89 kg ha^{-1} de ureia; **tratamento 2:** 60 kg N ha^{-1} , equivalente 133 kg ha^{-1} de ureia; **tratamento 3:** 120 kg de N ha^{-1} , equivalente a 267 kg ha^{-1} de ureia; **tratamento 4:** 60 kg ha^{-1} de N, P_2O_5 e K_2O , equivalente, 133 kg ha^{-1} de ureia, 353 kg ha^{-1} de superfosfato

simples e 100 kg ha^{-1} de cloreto de potássio, respectivamente; **tratamento 5:** 3,1 toneladas ha^{-1} de esterco bovino (EB), equivalente a 40 kg ha^{-1} de N; **tratamento 6:** 4,6 toneladas ha^{-1} (EB), equivalente a 60 kg ha^{-1} de N; **tratamento 7:** 9,2 toneladas ha^{-1} (EB), equivalente a 120 kg ha^{-1} de N e **tratamento 8:** Testemunha (sem adubação química e sem adubação orgânica).

Tabela 1. Características químicas do solo utilizado como substrato e do esterco bovino (EB) utilizado como adubo orgânico nos vasos para a produção de biomassa e óleo essencial de *L. origanoides* Kunth.

Características	Amostras	
	Solo	Esterco bovino
pH (CaCl ₂)	4,98	7,40
M.O Walkley-Black (dag kg ⁻¹)	3,77	12,2
Ca ⁺² acetato de cálcio (cmol _c dm ⁻³)	4,15	9,10
Mg ⁺² (cmol _c dm ⁻³)	1,40	10,5
Al ⁺³ cloreto de potássio (cmol _c dm ⁻³)	0,03	0,00
H+Al acetato de cálcio (cmol _c dm ⁻³)	2,79	0,90
SB acetato de cálcio (cmol _c dm ⁻³)	5,59	22,63
CTC a pH 7 (T) (cmol _c dm ⁻³)	8,39	-
CTC efetiva (t) (cmol _c dm ⁻³)	5,62	23,53
Saturação por Al - m (%)	0,53	0,00
Saturação por bases - V (%)	66,7	96,0
P Mehlich I (mg dm ⁻³)	2,47	287
K Mehlich I (mg dm ⁻³)	15,03	1184
N (dag kg ⁻¹)	0,28	1,32
Zn (mg dm ⁻³)	0,70	60,0
B (mg dm ⁻³)	0,10	4,80
Mn (mg dm ⁻³)	3,40	10,70
Fe (mg dm ⁻³)	36,0	80,0

Os adubos químicos utilizados foram ureia (45% de N), superfosfato simples (17% de P₂O₅) e cloreto de potássio (60% de K₂O). A quantidade de esterco bovino utilizada foi calculada de acordo com a análise química, considerando as doses de 40, 60 e 120 kg N ha^{-1} e convertidos para o cultivo em vasos. Por não encontrar na literatura recomendações de

adubação para *L. origanoides* Kunth, adotaram-se os parâmetros de adubação para espécies ornamentais arbustivas (RIBEIRO et al., 1999). O solo foi irrigado uma vez ao dia para manter a umidade na capacidade de campo.

As plantas foram medidas com régua graduada a cada 30 dias, do colo até o meristema apical da haste principal. O crescimento absoluto em altura foi determinado a partir das médias coletadas durante um período de 150 dias. O diâmetro do caule foi mensurado em milímetros (mm), por meio de paquímetro, aos cinco centímetros da base do caule da planta. Para o estudo do diâmetro da copa (DC), foram medidos dois raios da copa da planta, conforme orientação norte-sul e leste-oeste, obtendo assim a média do diâmetro da copa (WINK et al., 2012).

Após 150 dias do plantio, as plantas foram colhidas inteiras para avaliação das seguintes variáveis:

- a) Área foliar: utilizou-se integrador de área foliar *Modelo Licor 3100 Area Meter*, com distribuição uniformizada de todas as folhas na prancha, sendo os resultados expressos em centímetro quadrado (cm²).
- b) Massa seca da parte aérea e das raízes: as plantas foram colocadas para secar em estufa com circulação de ar forçada, à temperatura de 36 °C por 72 horas. Optou-se por uma temperatura mais baixa de secagem, a fim de manter a integridade do óleo essencial contido nas folhas da planta. As raízes foram coletadas, cuidadosamente, inteiras, lavadas e medidas com régua graduada, da base do caule até o meristema apical da maior raiz, sendo as medidas expressas em centímetro (cm).

Para as análises dos teores dos macronutrientes (N, P, K, Ca e Mg) e micronutrientes (B, Fe, Mn e Zn) nas folhas, as repetições de cada tratamento foram devidamente homogeneizadas e trituradas em moinho de facas tipo *Willy* de acordo com metodologia de Malavolta et al. (1997) e Miyazawa et al. (2009). Em seguida, três amostras de 0,5 gramas foram digeridas com ácido sulfúrico e diluídas em 50 ml de água destilada. Posteriormente, as alíquotas foram analisadas em aparelho de Absorção Atômica Agilent Technologies – Modelo 240FS e o N analisado em aparelho de Kjeldahl (MENDONÇA e MATOS, 2005).

A obtenção do óleo essencial foi realizada por meio da pesagem de quatro amostras de 50 gramas de folhas secas, as quais foram colocadas em balões de 1 litro com água destilada até cobertura total das folhas. As amostras foram submetidas ao processo de extração por

hidrodestilação, utilizando-se aparelho de Clevenger tipo coluna, por 2 horas. Após esse período, o óleo separado da água foi recolhido em tubos de ensaios, centrifugado e, com auxílio de pipetas de *Pasteur* de vidro, foi transferido para ampolas escuras, pesado e armazenado em geladeira.

O rendimento do óleo essencial foi quantificado por meio da pesagem do óleo em balança analítica. O teor de óleo essencial foi determinado mediante a quantidade de óleo obtido (grama) pela quantidade de matéria seca (grama) utilizado na extração, sendo os resultados transformados em porcentagem (%) de acordo com metodologia descrita por Rocha et al. (2012).

Os resultados obtidos em todas as variáveis foram submetidos a análises de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade com auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2011). Para o crescimento absoluto ajustou-se as equações das médias obtidas em função dos tratamentos com adubação química e orgânica (EB), utilizando o programa Excel.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 2 encontram-se os resultados do crescimento absoluto de *Lippia origanoides* Kunth com ajustes quadráticos, avaliados a cada 30 dias. Os maiores valores de crescimento absoluto foram observados nos tratamentos adubados com esterco bovino (Figura 2 EFG) e no tratamento com adição de NPK (Figura 2 D), variando de 125,25% a 152,65% a mais, do que os tratamentos que receberam apenas adubação nitrogenada ou nenhum tipo de adubação. O maior crescimento absoluto de *L. origanoides* Kunth ocorreu no tratamento com 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, equivalente a 4,6 t ha⁻¹ de esterco bovino aos 150 dias, sendo as médias com intervalo de variação de 29,82 a 23,70 centímetros no início e no final do período de cultivo, respectivamente (Figura 2 F).

Esses resultados indicaram uma tendência de maior velocidade no período inicial, aumentando progressivamente até os 150 dias. Segundo Aumonde et al. (2011), a alta taxa de crescimento no início do ciclo se deve à maior parte da área foliar da planta ser constituída por folhas jovens de elevada capacidade fotossintética e com alta taxa de crescimento. Costa et al. (2011), mostraram que o efeito do esterco bovino também induziu resposta linear crescente na característica de crescimento de *Corymbia citriodora*. Resultados semelhantes também foram observados por Santos et al. (2009), onde maiores concentrações de esterco

bovino e biofertilizante orgânico (vitassolo®) proporcionaram um efeito crescente para altura de *Melissa officinallis*.

L. origanoides é uma espécie selvagem de região de cerrado, ainda pouco estudada e apresentou características de crescimento típico de espécies caducifólias com período de desfolhas. Nesse sentido, a adubação melhorou seu desempenho na adaptação e no processo fotossintético da planta, justificando seu crescimento acelerado no início do ciclo vegetativo, sendo a adubação crucial para esse desenvolvimento, principalmente por se tratar de uma espécie oriunda do Cerrado com solo pouco fértil.

A adubação orgânica além de fornecer suprimento adequado de nutrientes para as plantas contribui para a melhoria da estrutura física e química do solo, aumenta a capacidade de retenção de água, diminui perdas por erosão, melhora as propriedades biológicas e capacidade tampão do solo e, conseqüentemente, contribui para o crescimento da planta (SANTOS et al., 2012 e AL-FRAIHAT et al., 2011). O potencial de utilização do material orgânico como adubo para as plantações é atribuído à sua composição química e sua relação carbono/nitrogênio (ARAÚJO et al., 2011). Segundo Azeez e Averbek, (2010), a mineralização do N oriundo de esterco bovino é liberada gradativamente em forma de amônio (NH_4^+) no solo até aos 20 dias da incubação. Após 120 dias o NH_4^+ é reduzido significativamente a cerca de 50% da quantidade inicial, sendo que o nitrato liberado no solo é imobilizado nos primeiros dias, porém a mineralização é contínua com liberação de nitrato.

Para que o esterco bovino tenha impacto sobre a produção da cultura é necessário a utilização de quantidade suficiente para satisfazer a demanda microbiana e a disponibilidade para a planta. Por outro lado, a utilização de pequenas quantidades de adubos inorgânicos é uma alternativa, não só para equilibrar a composição do esterco, mas também para atender às exigências das plantas (AZEEZ e AVERBEK, 2010).

Os tratamentos que receberam apenas adubação nitrogenada (Figura 2 ABC) ou nenhum tipo de adubação (Figura 2 H) apresentaram os menores índices de crescimento absoluto ao longo dos 150 dias, sendo que as médias mais baixas foram observadas nos primeiros 60 dias (20 cm) em relação às plantas adubadas com esterco bovino e mistura de N, P e K (40 cm).

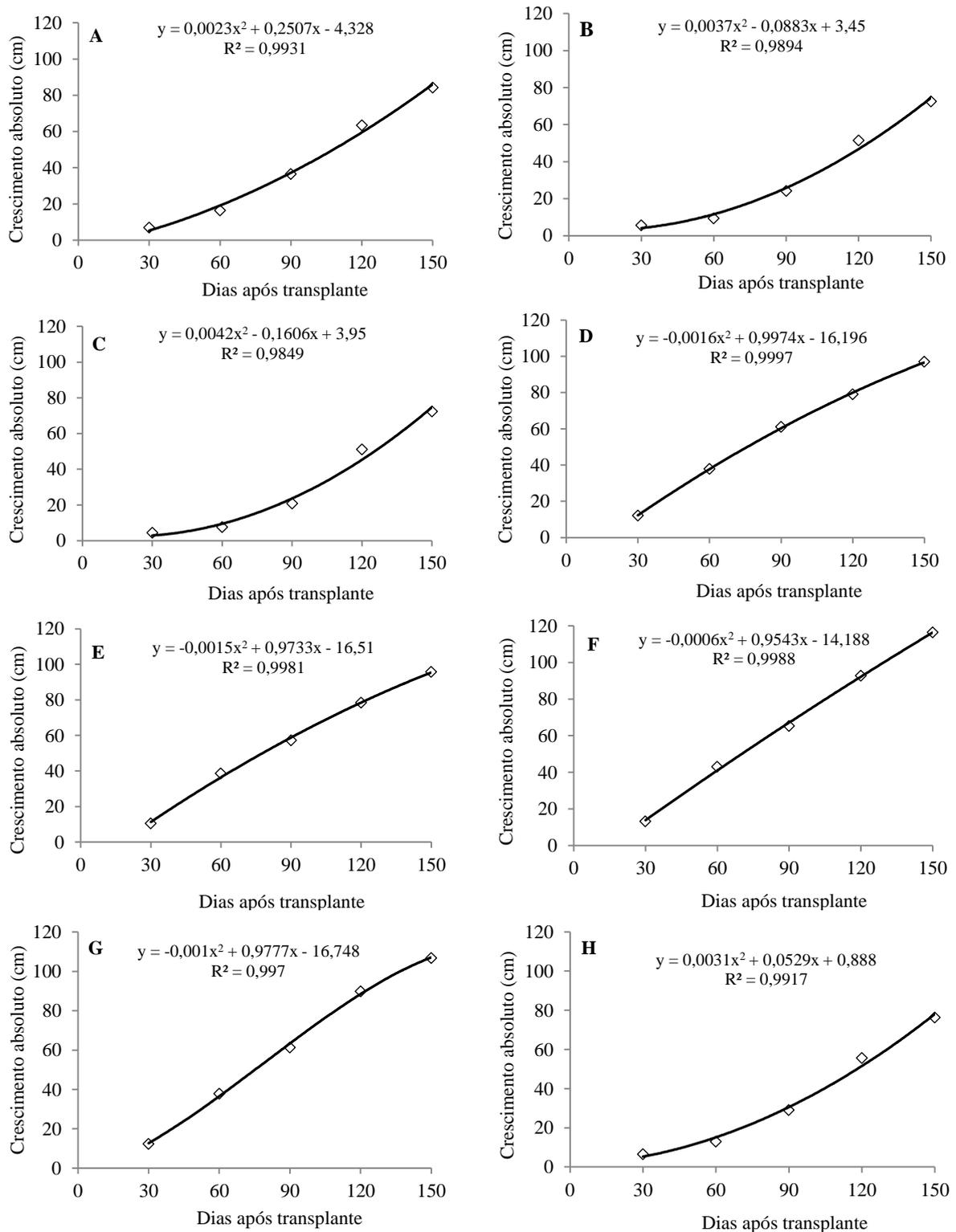


Figura 2. Crescimento absoluto em altura (cm) de *L. origanoides* Kunth avaliado a cada 30 dias em cultivo com adubação de 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (A); 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (B); 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (C); 60 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O (D); 3,1 t ha⁻¹ de esterco - EB, equivalente a 40 kg ha⁻¹ de N (E); 4,6 t ha⁻¹ de EB, equivalente a 60 kg ha⁻¹ de N (F); 9,2 t ha⁻¹ de EB, equivalente a 120 kg ha⁻¹ de N (G) e Testemunha - sem adubação (H).

O esterco bovino contido nos tratamentos utilizado nessa pesquisa, além de fornecer nitrogênio para *L. origanoides* Kunth, também proporcionou o aporte de outros elementos, como P, K, Ca, Mg, Zn, B, Mn e Fe, influenciando no melhor crescimento das plantas. A matéria orgânica existente no esterco bovino (Tabela1), além de proporcionar a disponibilidade de nutrientes para as plantas através da capacidade de troca catiônicas, também aumenta a capacidade de retenção de água no solo. Lembrando que essa espécie foi cultivada em solo sem adição de calagem, uma vez que a análise do solo apresentou um V%=66,71, considerado satisfatório para as arbustivas, de acordo com Alvarez e Ribeiro (1999).

Arthur et al. (2007) ao avaliarem doses de esterco e calcário em mudas de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambèss), mostraram que a menor dose de esterco bovino foi suficiente para elevar o pH, os teores de fósforo, potássio e magnésio a valores muito altos, de acordo com as classes de fertilidade do solo. Costa et al. (2011), ao estudarem *Corymbia citriodora*, verificaram que a aplicação de esterco bovino completou a função da calagem, de elevar a porcentagem (33,8 para 58%) de saturação por bases do solo. Os resultados acima citados corroboram com os resultados obtidos nessa pesquisa.

As plantas adubadas apenas com nitrogênio apresentaram um crescimento semelhante à testemunha até os 60 dias (Figura 2 A, B, C e H). Sodré et al. (2013), ao compararem adubo orgânico com mineral, verificaram que o esterco bovino propiciou diferença significativa na altura da espécie *Melissa officinalis*. Al-Fraihat et al. (2011), observaram que a altura e o número de ramos de manjerona foram significativamente aumentados pela aplicação de adubos orgânicos e biofertilizantes. De acordo com Motta e Serrat (2006), os adubos orgânicos possuem formulações completas associadas a outros macronutrientes e micronutrientes, além do nitrogênio, o fósforo e potássio.

Na Tabela 2, observam-se os resultados das médias do diâmetro do caule (DCA), diâmetro da copa (DCO), Área foliar (AF), Massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) comprimento de raízes (CR) e óleo essencial (OE).

A adubação com esterco bovino e a mistura de NPK (Tabela 2) foi significativamente superior, as quais apresentaram as maiores médias para os parâmetros diâmetro do caule, área foliar e massa seca total em relação a todos os tratamentos nitrogenados e a testemunha. Por outro lado, não houve diferenças significativas entre as doses de nitrogênio e a testemunha. Esses resultados sugerem uma correlação positiva do crescimento vegetativo com a produção

de matéria seca total de *L. origanoides* Kunth, uma vez que os tratamentos adubados com esterco bovino e NPK apresentaram superioridade em relação aos tratamentos nitrogenados e com a testemunha.

Al-Fraihat et al. (2011) concluíram que a influência da adubação orgânica sobre o acúmulo de biomassa seca de plantas medicinais é atribuído ao aumento na altura das plantas, número de ramos por planta e peso fresco da planta proporcionado por essa prática. Com o aumento da área foliar, a *L. origanoides* Kunth foi beneficiada pelo potencial fotossintético e, conseqüentemente aumento de carboidratos refletindo no potencial do seu crescimento.

O N e P também foram importantes para o desenvolvimento da calêndula, aumentando as produções de massas frescas e secas da parte aérea e de capítulos florais (Moreira et al., 2005). A menor disponibilidade de P no solo reduziu a produção de massa seca de todas as partes das plantas de *Physalis angulata* (CRUZ et al., 2015).

Tabela 2. Diâmetro do caule (DCA), Diâmetro da copa (DCO), Área foliar (AF), Massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e comprimento de raízes (CR) e óleo essencial (OE) da espécie *Lippia origanoide* Kunth após 150 dias de cultivado em diferentes doses de adubo químico e adubo orgânico.

TRAT	DCA	DCO	AF*	MSF	MSC	MSR	MST*	CR	OE
kg ha ⁻¹	cm	cm ²	cm ²(%).....			g kg ⁻¹	cm	(%)
40 N	9,0 b	51,4 a	1412 b	35,2 a	43,1 a	21,6 a	50,9 b	52,0 a	1,2 b
60 N	8,2 b	40,1 b	1083, b	38,3 a	36,7 b	25,0 a	35,7 b	42,4 a	0,8 e
120 N	7,4 b	32,3 b	892 b	37,9 a	36,4 b	25,7 a	29,8 b	47,3 a	1,1 c
60 NPK	11,4 a	66,7 a	2260 a	32,8 a	36,8 b	30,5 a	96,4 a	50,1 a	1,0 c
40 EB	10,6 a	55,0 a	2229 a	27,7 b	39,3 b	33,1 a	98,9 a	44,4 a	0,9 d
60 EB	13,0 a	49,0 a	2300 a	26,2 b	45,4 a	28,4 a	117,1 a	28,8 b	0,7 e
120 EB	11,1 a	51,0 a	2400 a	26,9 b	45,3 a	27,8 a	92,7 a	45,7 a	1,4 a
Testemunha	9,2 b	41,5 b	1564 b	32,8 a	44,3 a	23,5 a	60,7 b	47,5 a	1,1 c
CV (%)	19,94	32,53	30,88	21,20	22,62	37,36	25,61	31,22	7,77

- Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade. Nitrogênio (N), nitrogênio, Fósforo e Potássio (NPK), Esterco bovino (EB) e testemunha (sem adubação química e sem esterco bovino).

* Dados transformados – SQRT (Y).

O esterco bovino e o NPK também influenciaram significativamente no diâmetro de copa, quando comparados com as maiores doses de nitrogênio (60 e 120 kg ha⁻¹) e com a testemunha, porém não diferiu da dose de 40 kg ha⁻¹ de N (Tabela 2). Esse resultado sugeriu

que altas doses de adubação nitrogenada podem influenciar na redução do crescimento e no diâmetro do caule de *L. origanoides* Kunth. Ciriello et al. (2014) observaram que a altura e o diâmetro do caule de guanandi apresentou redução com doses acima de 33 mg dm^{-3} em solo corrigido, observando que, a cada 40 mg dm^{-3} de nitrogênio adicionada ocorreu uma redução no diâmetro do caule de 2,9 milímetro.

Maiores porcentagens de massa seca da folha (Tabela 2) foram observados nos tratamentos adubados com nitrogênio e NPK, sendo significativamente superiores aos tratamentos adubados com esterco bovino, porém não diferenciaram da testemunha. Enquanto que para massa seca do caule as maiores porcentagens foram observadas nos tratamentos com 40 kg N ha^{-1} , nos tratamentos com 60 e 120 EB e na testemunha, quando comparados aos demais tratamentos.

Não houve diferenças significativas na porcentagem de massa seca de raiz entre todos os tratamentos avaliados e a testemunha. Por outro lado, menor comprimento de raiz de *L. origanoides* Kunth foi observado no tratamento com 60 kg N ha^{-1} na forma de EB, sendo significativamente inferior entre os demais tratamentos (Tabela 2), mostrando uma não correlação raiz: parte aérea em todos os tratamentos avaliados. Diferentes resultados foram obtidos por Corrêa et al. (2010), onde os esterco influenciaram significativamente na relação raiz: parte aérea de orégano.

Apesar de não ter observado diferenças entre os tratamentos para porcentagens de MSR e CR, houve uma relação do crescimento com a massa seca total de *L. origanoides* Kunth, mostrando que, além da adubação com esterco bovino e adubação com NPK, outros fatores fisiológicos podem influenciar no crescimento e alongamento das plantas, por exemplo, altas concentrações de auxinas. Taiz e Zeiger (2009) relatam que é provável que as raízes necessitem de concentração mínima de auxina para crescer, porém, o crescimento pode ser fortemente inibido por altas concentrações de auxina promotora de alongamento do caule e coleótilos associado ao estímulo da síntese de etileno. Essa informação pode explicar o crescimento

O teor de óleo essencial, com base na massa seca, apresentou médias com grande variação dentro dos tratamentos, porém o tratamento que recebeu maior dose de adubo orgânico ($120 \text{ kg de N ha}^{-1}$ de EB) foi significativamente maior com 1,44%, em relação aos demais tratamentos, sendo 53,4% maior quando comparado com o tratamento adubado com 60 kg N ha^{-1} de esterco bovino, que apresentou a menor porcentagem (0,77%) de óleo essencial (Tabela 2). Por outro lado, dentre os tratamentos com esterco bovino, a dose de 120

kg ha⁻¹ apresentou menor peso de massa seca total, deduzindo que isso possa ter favorecido o aumento do teor de óleo essencial, tendo em vista que, o aumento da massa seca pode causar um efeito de diluição, e conseqüentemente menor quantidade de óleo essencial.

Brant et al. (2010) verificaram que o maior teor de óleo essencial (1,07%) em cidrão (*Aloysia triphylla* (L'Hért) Britton), foi obtido com 9 kg m⁻² de esterco bovino, sendo esse valor diminuído para 0,61% quando aumentou-se a dose para 12 kg m⁻². No entanto, Corrêa et al. (2010) evidenciaram que, para o esterco bovino houve efeito linear das doses, sendo que aumentando as doses elevaram-se também o teor e rendimento de óleo essencial de orégano. O mesmo autor relata que a incorporação de 1 kg m⁻² de esterco bovino proporciona a elevação do teor de óleo em torno de 0,65% e o rendimento eleva-se aproximadamente em 0,14%. Entretanto, vários outros fatores, além da nutrição podem influenciar na produção, no teor e na composição química dos óleos essenciais.

Pesquisa realizada por Souza et al. (2011), mostraram que a colheita em diferentes horários ao longo do dia influenciaram na produção de óleo essencial de *Cordia verbenaceae*, sendo o maior teor obtido às 18 horas em orientação geográfica norte e sul. No presente trabalho não foi adotado padrões quanto aos horários de colheita, nesse sentido, as diferenças ocorridas nas porcentagens do óleo essencial *L. origanoides* Kunth pode ter sofrido interferências do horário, uma vez que as mesmas foram colhidas em diferentes períodos ao longo do dia.

Segundo Oliveira et al. (2012), o teor e a composição química dos óleos essenciais são determinados por caracteres genéticos e alguns fatores pode causar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários, como a idade e o estágio de desenvolvimento das plantas, além de fatores climáticos e ambientais.

Santos e Innecco (2003) em erva cidreira (*L. alba*), concluíram que o rendimento de óleo essencial é numericamente maior na estação seca do que na chuvosa. O mesmo autor relata que os fatores ambientais atuam diretamente em processos primários, como fotossíntese e respiração, e podem influenciar indiretamente a produção de metabólitos secundários, cuja síntese depende de produtos do metabolismo primário.

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os teores de macronutrientes e micronutrientes das folhas de *L. origanoides* Kunth. A adubação com esterco bovino e adubo químico não influenciaram nos teores de nitrogênio nas folhas entre os tratamentos. Essa uma espécie de hábito caducifólia e apresentou grande perda de folhas ao longo dos 150 dias de cultivo em todos os tratamentos, nesse sentido, parte do nitrogênio contido na parte aérea da planta pode

ter sido perdida pela queda das folhas. Por outro lado, outros fatores também podem influenciar na perda do nitrogênio no solo pode ocorrer por lixiviação da água de irrigação e volatilização.

Dotto et al. (2013) encontraram resultados diferentes em folhas de *Lippia alba* cultivadas com efluente de fossa séptica biodigestor, sendo os valores superiores quando comparados com os encontrados nesse trabalho. Valores superiores também foram encontrados por Moreira et al. (2005) em plantas de calêndula, nos quais os teores de N na parte aérea aumentaram quase linearmente, indicando que a adição de maiores doses de N implicou em maior absorção do elemento pelas plantas. Cunha et al. (2012) observaram que o teor de N na parte aérea de capim-limão aumentaram no período seco e chuvoso de acordo com o aumento das doses de adubo orgânico.

Tabela 3. Teores de macronutrientes na massa seca da parte aérea de *L. origanoides* Kunth após 150 dias de cultivo em diferentes doses de adubo químico e adubo orgânico.

Tratamentos kg ha ⁻¹	MACRONUTRIENTES				
	N (g kg ⁻¹)	P	K	Ca	Mg
(mg kg ⁻¹).....				
40 N	12,6 a	1507 d	9,3 c	16,4 b	2,76 a
60 N	14,47 a	1455 d	9,1 c	15,7 b	2,59 b
120 N	14,93 a	1426 d	9,0 c	14,7 b	2,87 a
60 NPK	14,00 a	1667 b	10,2 b	26,2 a	2,07 c
40 EB	15,40 a	1517 d	10,0 b	27,1 a	2,54 b
60 EB	14,00 a	1459 d	10,0 b	25,1 a	2,97 a
120 EB	12,60 a	2352 a	10,5 b	23,5 a	3,30 a
Testemunha	13,07 a	1572 c	11,5 a	23,5 a	2,50 b
CV (%)	8,05	3,27	4,54	8,18	8,65

- Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade. Nitrogênio (N), nitrogênio, Fósforo e Potássio (N, P e K), Esterco bovino (EB) e testemunha (sem adubação química e sem esterco bovino).

A concentração de fósforo (P) nas folhas de *L. origanoides* Kunth foi maior com adubação de esterco bovino (120 kg ha⁻¹ N), apresentando diferenças significativas quando comparados aos demais tratamentos, sendo as menores concentrações nos tratamentos apenas com nitrogênio, indicando que o esterco proporcionou maior incremento desse elemento na parte aérea da planta. Segundo Sousa et al. (2002), os teores de P na solução dos solos do

Cerrado são geralmente baixos, porém uma das opções para ampliar a reciclagem e a eficiência de uso do fósforo pelas plantas é aumentando o teor de matéria orgânica no solo.

De acordo com Kiehl (1985), o esterco bovino é bom fornecedor de nutrientes para as plantas, com rápida disponibilidade de fósforo e potássio, enquanto que o nitrogênio fica na dependência da facilidade de degradação dos compostos de origem. A adição de N aumentou os teores de N na parte aérea e capítulos florais e a adição de P reduziu o teor de N na parte aérea e proporcionou incremento no teor de P nos capítulos de calêndula (MOREIRA et al., 2005). Sugai et al. (2011) observaram os mesmo resultados para N e P em folhas de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan cultivado em solos preservados e antropizados com inoculação de fungos micorrízicos e sem adubação orgânica e química. Segundo Xu et al. (2002) e Viana e Kiehl (2010), o metabolismo do nitrogênio nas plantas requer adequadas quantidades de potássio no citoplasma, sendo importante para a produção de aminoácidos e consequentemente a produtividade das culturas.

Tabela 4. Teores de micronutrientes na massa seca da parte aérea da espécie *Lippia origanoides* Kunth (*Lippia*) após 150 dias de cultivado em diferentes doses de adubo químico e adubo orgânico.

Tratamentos kg.ha ⁻¹	MICRONUTRIENTES			
	Zn	B	Mn	Fe
(mg kg ⁻¹).....			
40 N	144,2 b	61,3 a	72,4 e	240,0 a
60 N	132,6 b	58,0 a	114,4 c	252,0 a
120 N	96,4 c	57,4 a	153,0 b	213,0 b
60 NPK	123,2 b	58,2 a	170,3 a	247,0 a
40 EB	86,5 c	57,2 a	63,2 f	209,4 b
60 EB	99,4 c	56,4 a	83,0 d	278,1 a
120 EB	206,1 a	56,1 a	42,1 g	222,2 b
Testemunha	135,6 b	55,0 b	49,3 g	212,2 b
CV (%)	13,01	2,68	4,74	8,73

- Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade. Nitrogênio (N), nitrogênio, Fósforo e Potássio (NPK), Esterco bovino (EB) e testemunha (sem adubação química e sem esterco bovino).

A presença do potássio foi maior nos tratamentos com esterco bovino e NPK em relação a todos os tratamentos nitrogenados, porém, foi menor que a média da testemunha. Segundo Sousa et al. (2002), as respostas das culturas à adubação potássica, na maioria das

vezes, não tem sido tão expressiva quanto à fosfatada, no entanto o aumento da produtividade pode ser obtido com a correção do solo e da deficiência de outros nutrientes e manutenção da adubação potássica. Vieira et al. (2011), observaram que maiores doses de N e P aumentaram os teores de K na massa seca de guavira (*Campomanesia adamantium*), porém as espécies podem apresentar respostas diferenciadas quanto à sua nutrição.

As plantas cultivadas com esterco bovino apresentaram maiores teores de Ca, sendo significativamente superiores às plantas cultivadas com apenas nitrogênio, não diferenciando da testemunha. Por outro, o teor de Mg nas folhas de *L. origanoides* Kunth apresentou grandes variações entre os tratamentos, sendo que as maiores concentrações observadas foram nos tratamentos que receberam doses esterco bovino (60 e 120 kg ha⁻¹ N), seguido das doses de adubo químico (40 e 120 kg ha⁻¹ de N). Cunha et al. (2012) ao pesquisarem adubo orgânico no desenvolvimento de capim-limão verificaram que o Mg foi um dos elementos que apresentou menores acúmulos nas folhas.

O teor de Zn nas folhas de *L. origanoides* Kunth foi superior nas plantas que receberam esterco bovino (120 kg ha⁻¹ N), proporcionando um aumento 238,22%, quando comparado com a menor dose (40 kg ha⁻¹) de esterco bovino, sendo significativamente maiores aos demais tratamentos, inclusive a testemunha. Os teores de B apresentaram diferenças significativamente somente em relação à testemunha. Por outro lado, o teor de Mn foi significativamente maior nas plantas adubadas com NPK, com aumento de 404,32% em relação à maior dose de esterco bovino (120 kg ha⁻¹ N). Doses de até 60 kg ha⁻¹ de esterco bovino ou adubação química favorecem as concentrações de Fe nas folhas de *L. origanoides* Kunth. Os teores de micronutrientes foram semelhantes aos encontrados por Dotto et al. (2013) em folhas de plantas de *Lippia alba* cultivadas com adubação de efluente de fossa séptica biodigestor.

Assim como o nitrogênio, o fósforo e o potássio também são elementos complementares no crescimento vegetal, sendo importante na absorção de água do solo, na fotossíntese e na difusão dos nutrientes dentro da planta, o qual pode justificar o diferencial observado no tratamento com NPK e esterco bovino que são supridos de elementos suplementares, quando comparados àqueles com apenas adubação nitrogenada. Enquanto que o esterco bovino através dos microrganismos associados à matéria orgânica também exerce importante função biológica na degradação dos compostos orgânicos, proporcionando constante dinâmica no solo, de forma a liberar vários nutrientes para as plantas, mantendo-as nutridas por período contínuo.

Durante esse estudo foi possível observar visualmente que a *L. origanoides* Kunth apresentou características de crescimento típico de caducifólia ao longo do período vegetativo, fator que pode também ter influenciado no processo fotossintético e acúmulo de macro e micronutrientes, uma vez que ao perder as folhas, os elementos nutricionais também são perdidos. Nesse sentido, essa espécie por não ser domesticada é passiva da continuidade de várias investigações, não somente de suas exigências nutricionais, mas também de estudos envolvendo o melhoramento genético que possa aumentar o potencial do uso da adubação e, conseqüentemente aumentar o sucesso da produção de matéria prima para o mercado interessado.

4 CONCLUSÃO

A adubação com esterco bovino e NPK favoreceu o crescimento, diâmetro do caule, diâmetro de copa, área foliar, biomassa total de *L. origanoides* Kunth.

A adubação com 4,6 t ha⁻¹ de esterco bovino, equivalente a 60 kg N ha⁻¹ apresentou maior crescimento absoluto aos 150 dias de cultivo.

Maior produção de óleo essencial e acúmulo de teor de P e Zn nas folhas foi obtido com 9,2 t ha⁻¹ de esterco bovino, equivalente a 120 kg N ha⁻¹.

A adubação com NPK acumulou maior teor de manganês nas folhas de *L. origanoides* Kunth.

Menor acúmulo dos teores de cálcio e potássio foi observado nos tratamentos adubados apenas com nitrogênio.

É possível produzir mudas de *L. origanoides* Kunth a partir de estacas com dois pares de folhas em substrato areia sem a utilização de AIB.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-FRAIHAT, A. H.; AL-DALAIN, S. Y. A.; AL-RAWASHDEH, Z. B.; ABU-DARWISH, M. S.; AL-TABBAL, J. A. Effect of organic and biofertilizers on growth, herb yield and volatile oil of marjoram plant grown in Ajloun region, Jordan. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n.13, p. 2822-2833, 2011.

ALVAREZ V., V. H.; RIBEIRO, A.C. Calagem. In: RIBEIRO, C. A.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação. Viçosa, MG, 1999, p.43-60.

ARAÚJO, A. DOS S.; SILVA, J. E. C. DA; SANTOS, A. C. DOS; SILVA NETO, S. P. DA; DIM, V. P.; ALEXANDRINO, E. Substituição de nitrogênio por esterco bovino na produtividade de forragem e qualidade do solo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v. 12, n. 4, p. 852-866, 2011.

ARTUR, A. G.; CRUZ, M. C. P. DA; FERREIRA; M. E.; BARRETTO, V. C. DE M.; YAGI, R. Esterco bovino e calagem para formação de mudas de guanandi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 843-850, 2007.

AUMONDE, T. Z.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; PEIL, R. M. N.; PEDÓ, T. Análise de Crescimento do híbrido de mini melancia Smile® enxertada e não enxertada. **Interciencia**, Caracas, v. 36, n. 9, p. 677-681, 2011.

AZEEZ, J. O.; AVERBEKE, V. W. Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a Sandy Clay loam soil. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 5645-5651, 2010.

BRANT, R. S.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ALBUQUERQUE, C. J. B. Produção de biomassa e teor do óleo essencial de cidrão em função da adubação orgânica. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 111-114, 2010.

CASTRO, H. G. DE; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. DA; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos secundários**. 2ª edição. Visconde do Rio Branco, Viçosa – MG, 2004, 113p.

CIRIELLO, V.; GUERRINI, I. A.; BACKES, C. Doses de nitrogênio no crescimento inicial e nutrição de plantas de guanandi. **Cerne**, v. 20, n. 4, p. 653-660, 2014.

CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, E. S.; COSTA, L. C. B.; ALVES, P. B.; NICULAN, E. S.; BRANT, R. S. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas,

teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 80-89, 2010.

COSTA, F. G.; VALERI, S. V.; CRUZ, M. C. P. DA; GONZALES, J. L. S. Esterco bovino para o desenvolvimento inicial de plantas provenientes de quatro matrizes de *Corymbia citriodora*. **Scientia Forestalis**. Piracicaba, v. 39, n. 90, p. 161-169, 2011.

CRUZ, J. L.; SOUZA FILHO, L. F. S.; PELACANI, C. R. Influência da adubação fosfatada sobre o crescimento do camapu (*Physalis angulata* L.). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 360-366, 2015.

CUNHA, E. DE S.; MARTINS, D. DA S.; CARVALHO, G. J. A. DE; ESPINDOLA, J. A. A. Adubação orgânica e teores de nutrientes no capim-limão. **Revista da Biologia**, v. 9, n. 1, p.1-5, 2012.

DAVID, J. P. DE L.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. **Infarma**, v. 16, p. 9-10, 2004.

DOTTO, M. C.; ERASMO; E. A. L.; PEREIRA; M. A. B.; COUTINHO, A. B.; BESSA, N. G. F.; BARILLI, J. Crescimento de *Lippia alba* sob doses de efluente de fossa séptica biodigestora em Gurupi, Tocantins. **Revista Brasileira Ciências Agrárias**. Recife, v. 8, n. 4, p. 522-527, 2013.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**, 2ª edição, Rio de Janeiro, 1997, 212p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. UFLA, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1985, 492p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas**. Princípios e Aplicações. Potafos. 2ª edição, São Paulo, 1997, 319 p.

MENDONÇA, E. S.; MATOS, E. S. **Matéria Orgânica do Solo: Métodos de análises**. Viçosa: UFV, MG, 2005, 107 p.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S. DO; MELO, W. J. DE. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. DA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2ª edição revista e ampliada. Brasília, DF, 627, p, 2009.

MOREIRA, P. A.; MARCHETTI, M. E.; VIEIRA, M. C.; NOVELINO, J. O.; GONÇALVES, M. C.; ROBAINA, A. D. Desenvolvimento vegetativo e teor foliar de macronutrientes da calêndula (*Calendula officinalis* L.) adubada com nitrogênio e fósforo. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 18-23, 2005.

MOTTA, A. C. V.; SERRAT, B. M. Princípios de adubação. In: LIMA, M. R.; SIRTOLI, A. E. [et al.]. **Diagnóstico e recomendação de manejo do solo**: aspectos teóricos e metodológicos. Curitiba: UFPR/Setor de Ciências Agrárias, 2006, p.143- 90.

OLIVEIRA, A. R. M. F. DE; JEZLER, C. N.; OLIVEIRA, R. A.; COSTA, L. C. DO B. Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 241-245, 2012.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chemistry**, 101, p. 236-240, 2007.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; FERNANDES, P. D.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological studies of *Lippia organoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 24, p. 206-214, 2014.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; AVAREZ V., V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5ª aproximação, Viçosa, MG, 1999, 359 p.

ROCHA, H. C. R.; ALVARENGA, C. D.; GIUSTOLIN, T. A.; BRANT, R. S.; SOUZA, M. D. C.; SARMENTO, H. G. S.; BARBOSA, M. G. Crescimento, produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de capim citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) em cultivo consorciado com algodoeiro colorido no semiárido mineiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 14, n. especial, p. 183-187, 2012.

SANTOS, M. F.; MENDONÇA, M. C.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; DANTAS, I. B.; SILVA-MANN, R.; BLANK, A. F. Esterco bovino e biofertilizante no cultivo de erva-cidreira-verdadeira (*Melissa officinalis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 355-359, 2009.

SANTOS, M. R. A. DOS; INNECCO, R. Influência de períodos de secagem de folhas no óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo limoneno-carvona). **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 1, p. 5-11, 2003.

SANTOS, R. F.; ISOBE, M. T. C.; LALLA, J. G.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; MING, L. C. Composição química e produtividade dos principais componentes do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.14, n. especial, p. 224-234, 2012.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. G. DE; CARDOSO, D. P.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. DO; BARBOSA, L. C. DE A. 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.

SERRA, A. P.; MARCHETTI, M. E.; VIEIRA, M. C.; SILVA, M. A. G.; ROSA JUNIOR, E. J.; NASCIMENTO, J. M. GUEDES, E. M. S. Produção de biomassa e absorção de N e P pela *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em função de doses de N e P em condições de casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 13, n. 3, p. 265-270, 2011.

SODRÉ, A. C. B; HABER, L. L; LUZ, J. M. Q; MARQUES, M.; RODRIGUES, C. R. Adubação orgânica e mineral em melissa. **Horticultura Brasileira**, n. 31, p. 147-152, 2013.

SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E.; REIN, T.A. Adubação com fósforo. In: SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. **Cerrado: Correção do solo e adubação**. 1ª edição. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002, 416 p.

SOUZA, M. F. DE; MANGANOTTI, S. A.; SOUZA, P. N. S.; MEIRA, M. R.; MATOS, C. DA C. DE; MARTINS, E. R. Influência do horário de coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. **Biotemas**, v. 24, n. 1, p. 9-14, 2011.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. RUÍZ, C. A.; ARIAS, G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **Journal of Separation Science**, 33, p. 93-103, 2010.

SUGAI, M. A. A.; COLLIER, L. S.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo de cerrado. **Bragantia**. Campinas, v. 70, n. 2, p. 416-423, 2011.

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

TAVARES, I. B.; MOMNTÉ, V. G.; BARRETO, H. G.; CASTRO, H. G. DE; SANTOS, G. R. DO; NASCIMENTO, I. R. DO. 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.

VIANA, E. M.; KIEHL, J. DE C. Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p. 975-982, 2010.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical Composition of the *Lippia origanoides* Essential Oils and Their Antigenotoxicity against Bleomycin-Induced DNA Damage. **Fitoterapia**, v. 81, p. 343-349, 2010.

VIEIRA, M. C.; PEREZ, V. B.; HEREDIA, ZÁRATE N. A.; SANTOS, M. C.; PELLOSO, I. A. O.; PESSOA, S. M. Nitrogênio e fósforo no desenvolvimento inicial da guavira [*Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg] cultivada em vasos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, especial, p. 542-549, 2011.

WINK, C.; MONTEIRO, J. S.; REINERT, D. J.; LIBERALESSO, E. Parâmetros da copa e a sua relação com o diâmetro e altura das árvores de eucalipto em diferentes idades. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 93, p. 57-67, 2012.

XU, G.; WOLF, S.; KAFKAFI, U. Ammonium on potassium interaction in sweet pepper. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, p. 719-734, 2002.

YAMAMOTO, P. Y. **Interação genótipo x ambiente na produção e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.** 2006. 71f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) - Pós-Graduação - IAC.

CAPÍTULO III

IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS QUÍMICOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunth EM FUNÇÃO DE DOSES DE ADUBAÇÃO QUÍMICA E ORGÂNICA

RESUMO: Os compostos químicos do óleo essencial do gênero *Lippia* têm apresentado eficiência contra agentes patogênicos causadores de doenças nos seres vivos, enquanto que alguns de seus constituintes já estão sendo utilizados no tratamento do câncer e da AIDS. Objetivou-se com essa pesquisa identificar e quantificar os compostos químicos majoritários presentes no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth cultivada com adubação química e orgânica. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições. Os tratamentos constaram da formação do substrato dos vasos com adubação orgânica e química, distribuídos das seguintes formas: 40 kg de N ha⁻¹, equivalente 89 kg ha⁻¹ de ureia (T1); 60 kg N ha⁻¹, equivalente 133 kg ha⁻¹ de ureia (T2); 120 kg de N ha⁻¹, equivalente a 267 kg ha⁻¹ de ureia (T3); 60 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O, sendo 133 kg ha⁻¹ de ureia, 353 kg ha⁻¹ de superfosfato simples e 100 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio, respectivamente (T4); 3,1 toneladas ha⁻¹ (esterco bovino - EB), equivalente a 40 kg ha⁻¹ de N (T5); 4,6 toneladas ha⁻¹ (EB), equivalente a 60 kg ha⁻¹ de N (T6); 9,2 toneladas ha⁻¹ (EB), equivalente a 120 kg ha⁻¹ de N (T7) e testemunha - sem adubação química e sem adubação orgânica (T8). Após 150 dias de cultivo, as plantas foram colhidas para extração do óleo essencial através de hidrodestilação. A identificação dos compostos químicos do óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram identificados 58 compostos químicos no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth, entre monoterpenos, sesquiterpenos, e diterpeno. Os compostos majoritários do óleo essencial foram, o carvacrol, α -humuleno, acetato geranil geraniol, *bicyclo[3.1.0]hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-*, óxido de humuleno, timol, acetato farnesil 3, eucaliptol e p-cimeno. As menores doses de adubação química e orgânica ou sem adubação proporcionaram as maiores concentrações de carvacrol e α -humuleno, enquanto que a adubação com NPK favoreceu a concentração de acetato geranil geraniol.

Palavras-chaves: Plantas medicinais; esterco bovino; constituinte químico.

CHAPTER III

IDENTIFICATION OF CHEMICALS MAJOR OIL ESSENTIAL *Lippia origanoides* Kunth IN FERTILIZER DOSES FUNCTION CHEMICAL AND ORGANIC

ABSTRACT: The chemical compounds of the essential oil of *Lippia* genus have shown effectiveness against pathogens causing diseases in living beings, while some of its constituents are already being used in the treatment of cancer and AIDS. The objective of this research is to identify and quantify chemical compounds present in the majority of essential oil *L. origanoides* Kunth grown with chemical and organic fertilizer. The experiment design was completely randomized with eight treatments and 10 repetitions. The treatments consisted of the formation of the substrate vessel with organic fertilizer and chemical, distributed in the following forms: 40 kg N ha⁻¹, equivalent 89 kg ha⁻¹ of urea (T1); 60 kg N ha⁻¹, equivalent 133 kg ha⁻¹ of urea (T2); 120 kg N ha⁻¹, equivalent to 267 kg ha⁻¹ of urea (T3); 60 kg ha⁻¹ P₂O₅ and K₂O, equivalent to 133 kg ha⁻¹ of urea, 353 kg ha⁻¹ of superphosphate and 100 kg ha⁻¹ of potassium chloride, respectively (T4); 3.1 t ha⁻¹ (EB), equivalent to 40 kg ha⁻¹ N (T5); 4.6 tons ha⁻¹ (EB), equivalent to 60 kg ha⁻¹ N (T6); 9.2 tons ha⁻¹ (EB), equivalent to 120 kg ha⁻¹ N (T7) and witness - without chemical fertilization and without fertilization (T8). After 150 days of growth, plants were harvested for the extraction of the essential oil by hydrodistillation. The identification of the chemical compounds of the essential oil was carried out by gas chromatography of mass spectrometry. 58 chemical compounds were identified in the essential oil of *L. origanoides* Kunth between monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpene. The major compounds of the essential oil were carvacrol, α -humulene, geranyl acetate, bicyclo [3.1.0] hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-, humulene oxide, thymol, farnesyl acetate 3, eucalyptol and p-cymene. Smaller doses of chemical and organic fertilizer or without fertilizer showed the highest concentrations of carvacrol and α -humuleno, while the fertilization with NPK favored the concentration of geraniol geranyl acetate.

Keywords: Medicinal plants; manure; chemical constituent.

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos é uma tradição milenar presente nas culturas de várias nações e até hoje constitui um recurso alternativo de grande aceitação, não somente nos centros urbanos, mas também nas pequenas comunidades rurais (SANTOS et al., 2008). O surgimento de vários casos de doenças no mundo e a resistência de alguns patógenos aos medicamentos já existentes tem levado os pesquisadores e as autoridades a demandar esforços em busca de novos medicamentos que possam combater e prevenir as doenças de forma eficaz e responsável.

Devido à importância das plantas medicinais para a química e a medicina moderna, estudos permitiram o rápido desenvolvimento de seus campos específicos e muitas substâncias ativas foram conhecidas e introduzidas na terapêutica, permanecendo até hoje como medicamentos (PEREIRA e CARDOSO, 2012). A busca de novos medicamentos oriundos de plantas é, atualmente, a esperança mais concreta para vários pacientes com doenças graves, como o câncer e AIDS (CASTRO et al., 2004). Nos últimos anos, pesquisas têm sido realizadas para desvendar o poder das substâncias químicas contidas nas plantas medicinais, as quais constituem potencialmente, alternativas na cura de várias doenças. Plantas medicinais são fontes de produtos naturais e apresentam constituintes do metabolismo secundário com várias atividades no combate de patógenos relacionados a doenças diversas nos seres vivos.

Lippia origanoides Kunth é uma planta medicinal aromática com aproximadamente 3 metros de altura, pertencente à família *Verbenaceae*, conhecida popularmente como “Salva-de-marajó”, “Alecrim d’ Angola” e “Orégano de Monte” (OLIVEIRA et al., 2007; VICUÑA et al., 2010; STASHENKO et al., 2010). No Brasil, suas folhas e extratos são utilizados no tratamento de dor de estômago, cólica do bebê, indigestão, diarreia, azia e náuseas (OLIVEIRA et al., 2014), principalmente nas regiões mais afastadas dos grandes centros.

Estudos realizados com os constituintes do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth têm mostrado ações positivas nas atividades contra patógenos causadores de doenças no homem, animais e vegetais, tais como, bactérias, fungos, protozoários, assim como ações repelentes e larvicidas (OLIVEIRA et al., 2007; ESCOBAR et al., 2010; QUEIROZ et al., 2014). Castro et al. (2011), demonstraram que o óleo de *L. sidoides* foi eficaz no controle de bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isolada de queijo caseiro. Andrade et al. (2014)

também observaram potencialidade antimicrobiana no óleo essencial de *L. origanoides*, principalmente contra *S. aureus* e *E.coli*.

A atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais é realizada por um grupo de terpenóides e fenóis (CASTRO et al., 2011). Os terpenos, em geral, são substâncias naturais universalmente presentes em pequenas quantidades nos organismos vivos e desempenham numerosas funções vitais na fisiologia das plantas, bem como funções importantes nas membranas celulares (BERGAMASCHI, 2016).

A produção vegetal e dos princípios ativos do óleo essencial de plantas medicinais, aromáticas e condimentares podem depender de vários fatores como, os climáticos, nutricionais, fisiológicos, constituição genética, condições edáficas e manejo cultural (ROSAL et al., 2011; CASTRO et al., 2004; SEIXAS et al., 2013). Dentre os fatores de estresse que podem interferir na composição química das plantas, a nutrição merece destaque, pois a deficiência ou excesso de nutrientes pode interferir na produção de biomassa e na quantidade de princípios ativos (MAPELI et al., 2005). Os macronutrientes N, P₂O₅ e K₂O atuam influenciando vários eventos bioquímicos do metabolismo primário e secundário das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Os fertilizantes orgânicos, por melhorar as condições edáficas do solo, podem contribuir positiva ou negativamente na produção de biomassa e princípios ativos, dependendo da espécie (CORRÊA et al., 2010). Rosal et al. (2011) observaram que, a composição química qualitativa e quantitativa do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* (boldo pequeno) é significativamente alterada conforme o fertilizante utilizado. Seixas et al. (2013) observaram que o teor e a composição do óleo essencial do capim-citronela variam conforme a dose de adubação mineral utilizada.

Segundo Amaral et al. (2008), a aplicação de fertilizantes em plantas aromáticas normalmente afeta a produção de óleos essenciais, havendo, portanto, a necessidade de se avaliar as exigências de cada espécie, bem como, o manejo adequado da adubação. Com intuito de conhecer o efeito da fertilização do solo e outros fatores que possam interferir na produção dos compostos químicos do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth, esse trabalho objetivou identificar e quantificar os compostos químicos majoritários presentes no óleo essencial de plantas de *L. origanoides* Kunth cultivadas com diferentes doses de adubação química e orgânica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na Universidade Federal do Tocantins (UFT), Câmpus de Gurupi, situada a 11°44'46" de latitude sul e 49°03'10" longitude oeste, com altitude média de 277 metros. Essa região possui duas estações bem definidas, sendo o período chuvoso no verão (outubro a março) e período seco no inverno (abril a setembro), cuja temperatura média anual de 2015 na região foi de 26,8 °C, sendo a máxima de 34,1 °C e a mínima de 20,9 °C, com umidade média anual de 71,2 % e precipitação de 75,3 (Figura 1).

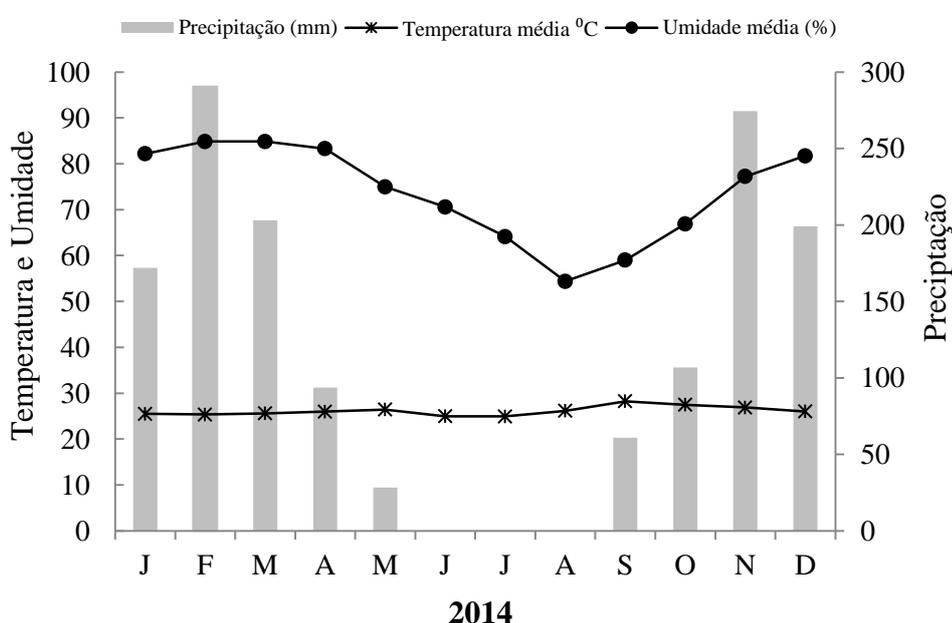


Figura 1. Variáveis climáticas registradas na estação experimental do Câmpus de Gurupi da Universidade Federal do Tocantins (Estação Meteorológica - UFT, 2014).

As mudas de *L. organoides* Kunt foram desenvolvidas em solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo e apresentou as seguintes características na análise química: pH em CaCl_2 = 4,98 e em água = 5,68; matéria orgânica (M.O) = 37,73 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ pelo método de Walkley-Black; SB = 5,59; Ca^{+2} = 4,15; Mg^{+2} = 1,40; $\text{H}^{+} + \text{Al}^{+3}$ = 2,79 $\text{cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ extraídos por acetato de cálcio; Al^{+3} = 0,03 $\text{cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ em cloreto de potássio; N = 0,28 dag kg^{-1} ; P = 2,47 mg dm^{-3} ; K^{+} = 15,03 mg dm^{-3} em Mehlich I, V(%) = 66,71; argila = 21,44 e areia = 70,7 de acordo com a metodologia da Embrapa (1997).

O adubo orgânico (esterco bovino), após analisado, apresentou os seguintes valores: pH em CaCl_2 = 7,25; em água = 7,44; M.O = 122 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ pelo método de Walkley-Black; SB = 22,63; Ca^{+2} = 9,10 $\text{cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$; Mg^{+2} = 10,5 $\text{cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$; $\text{H}^{+} + \text{Al}^{+3}$ = 0,90 $\text{cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ extraídos

por acetato de cálcio; $Al^{+3} = 0,00 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ em cloreto de potássio; $N = 1,32 \text{ dag kg}^{-1}$; $P = 287,8 \text{ mg.dm}^{-3}$; $K^+ = 1184 \text{ mg.dm}^{-3}$ em Mehlich I e $V(\%) = 96$, de acordo com metodologia da Embrapa (1997).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições, contendo uma planta em cada vaso com capacidade para sete quilogramas de solo, totalizando 80 plantas de *Lippia origanoides* Kunth. Os tratamentos constaram da formação do substrato dos vasos com adubação orgânica (esterco bovino - EB), diferentes doses de nitrogênio (N) e uma mistura de nitrogênio, fósforo e potássio (N, P e K), distribuídos das seguintes formas: **tratamento 1:** 40 kg de N ha^{-1} , equivalente 89 kg ha^{-1} de ureia; **tratamento 2:** 60 kg N ha^{-1} , equivalente 133 kg ha^{-1} de ureia; **tratamento 3:** 120 kg de N ha^{-1} , equivalente a 267 kg ha^{-1} de ureia; **tratamento 4:** 60 kg ha^{-1} de N, P_2O_5 e K_2O , equivalente, 133 kg ha^{-1} de ureia, 353 kg ha^{-1} de superfosfato simples e 100 kg ha^{-1} de cloreto de potássio, respectivamente; **tratamento 5:** 3,1 toneladas ha^{-1} (EB), equivalente a 40 kg ha^{-1} de N; **tratamento 6:** 4,6 toneladas ha^{-1} (EB), equivalente a 60 kg ha^{-1} de N; **tratamento 7:** 9,2 toneladas ha^{-1} (EB), equivalente a 120 kg ha^{-1} de N; **tratamento 8:** Testemunha (sem adubação química e sem adubação orgânica). Os adubos químicos eram constituídos de ureia (45%), superfosfato simples (17%) e cloreto de potássio (60%). Por não encontrar na literatura recomendações de adubação para *L. origanoides* Kunth, adotaram-se os parâmetros de adubação para espécies ornamentais arbustivas (RIBEIRO et al., 1999). As mudas foram irrigadas frequentemente para manter a umidade do solo na capacidade de campo.

Após 150 dias do plantio, as folhas foram coletadas e colocadas para secar em estufa com circulação de ar forçada, à temperatura de 36 °C por 72 horas. O óleo essencial foi obtido a partir de amostras de 50 gramas de folhas secas, colocadas em balões de vidro com capacidade para 1 litro, acrescentando-se água destilada até cobertura total das folhas. As amostras foram submetidas ao processo de extração por hidrodestilação, utilizando-se aparelho de Clevenger tipo coluna, por 2 horas. Para obtenção do teor de umidade contido nas folhas secas, pesou-se amostras de 2 gramas e mediu-se em analisador de umidade por infravermelho - 1V 250 GEHAKA, sendo os valores expressos em porcentagem.

A análise do óleo essencial foi realizada no laboratório de Química da Universidade Federal de Lavras, central de Análises e Prospecção - DQI. Utilizou-se aparelho de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas GC-MS QP2010 Plus (Shimadzu, Japan) equipado com injetor automático para líquidos e gases AOC-5000 (Shimadzu, Japan) e coluna SLBTM (5% fenil, 95% dimetilsiloxane) contendo 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm . Para

separação e identificação dos constituintes químicos utilizou-se fluxo de 1,18 mL min⁻¹. A temperatura do injetor foi de 220 °C, com modo de injeção Split 1:100, rampa de aquecimento com temperatura inicial de 60 °C e rampa de 3 °C min⁻¹ até 240 °C; em seguida rampa de 10 °C min⁻¹ até 300 °C.

As temperaturas da fonte de íons e da interface GC-MS foram de 200 °C e 240 °C respectivamente, com corte do solvente a 3 minutos. Modo scan (45-500 m/z), volume de injeção de 1 µL e modo de injeção Split 1:100, sendo a rampa de aquecimento inicial de 60 °C e rampa de 3 °C min⁻¹ até 240 °C, em seguida, rampa de 10 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo por 7 minutos, sendo o tempo total do método de 73 minutos.

Para obtenção dos índices de retenção (IR) utilizou-se uma mistura de padrões de alcanos (C9-C24) que foi preparada através de hexano como solvente (ADAMS, 2001; FRANCO et al., 2004). A identificação dos compostos químicos do óleo essencial foi feita por análise comparativa dos espectros de massas encontrados, com os espectros de massas disponibilizados no banco de dados do equipamento, por meio da literatura (ADAMS, 2001) e pelo índice de retenção (NIST69, 2016), assim como por comparação aproximada de alguns índices de retenção encontrados em outras literaturas (SARRAZIN et al., 2015; SANTOS et al., 2012; THIEM et al., 2011; STASHENKO e MARTÍNEZ, 2010; BABUSHOK e ZENKEVICH, 2009).

Os valores de cada constituinte do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth foram expressos em porcentagens, observando as variações dentro de cada tempo de retenção. As médias das áreas de picos dos compostos majoritários foram calculadas dentro de cada tratamento, sendo expressa também a média geral de todos os tratamentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises cromatográficas do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth realizada nas amostras de cada tratamento estão expostos na Tabela 1. Foi observada uma significativa diversidade de constituintes, totalizando 65 substâncias. Dentre esses, 58 constituintes foram identificados e caracterizados como monoterpenos (m) com média de 45,8%, sesquiterpenos (s) com 33,04%, diterpeno (d) com 9,1% e não identificados 8,16%.

Nos demais elementos foram possíveis identificar os sinônimos e suas estruturas, tais como, *bicyclo[3.1.0] hexane-6-methanol*, *2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-* (C₁₀H₁₈O₂); *2,5-cyclohexadiene-1-carboxylic acid*, *1-methyl-*, *methyl ester* (C₈H₁₀O₂); *2,4,8-nonatrienoic*

acid, 7-hydroxy-3,7-dimethyl-, (z,e)- (C₁₁H₁₆O₂); (2,2,6-trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-methanol (C₁₁H₂₀O); 3,6-diethyl-3,6-dimethyl tricyclo [3.1.0.0~2,4~]hexane (C₁₂H₂₀); 1,3-bis-(2-cyclopropyl,2-methylcyclopropyl)-buten-2,-one-1; e 8-Nitro-12-Tridecanolide (estruturas não encontradas).

Os constituintes do óleo essencial das plantas estão bem distintos em duas classes químicas como os terpenóides e fenilpropanóides, embora os terpenos representem os maiores componentes com mais frequência e abundância, os fenilpropanóides estão presentes e fornecem sabor, sendo indispensável para o odor no óleo essencial (SANGWAN et al., 2001).

Os compostos variaram entre os tratamentos, porém alguns constituintes da classe dos terpenos estiveram presentes em todos os tratamentos (Tabela 1), dentre esses destacaram os monoterpenos como, eucaliptol (6,08) e p-cimeno (5,33%), os sesquiterpenos, α -humuleno (21,15%), óxido de humuleno (13,61%), óxido de cariofileno (2,22%) e β -cariofileno (1,93%).

Outros monoterpenos também apareceram em pelo menos três tratamentos como timol (11,8%), cânfora (3,58%), sendo os demais, α -thujeno, α -pinene, α -terpineno, canfeno, cis-sabineno, β -pineno, mirceno, γ -terpineno, canfora, terpinen-4-ol e naftaleno com médias abaixo de 3,58%. Com exceção do bergamonato, β -bisaboleno e α -copaeno que ocorreram em três tratamentos, os demais sesquiterpenos tiveram predominância no tratamento 6, adubado com 4,6 t ha⁻¹ de esterco bovino.

Os monoterpenos e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais das plantas (CASTRO et al., 2004), sendo que o p-cimeno, carvacrol, timol, α -humuleno, óxido de cariofileno, α -pineno; γ -terpineno, α -felandreno e trans- β -cariofileno tem sido encontrados com maior porcentagens por alguns autores na espécie *L. origanoides* (SARRAZIN et al., 2015; TOZIN et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2012; ESCOBAR et al., 2010; STASHENKO e MARTÍNEZ, 2010).

A frequência dos compostos químicos do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth variou de 22 a 32 elementos por tratamento, sendo que as áreas de picos em porcentagens também variaram entre 0,03 a 36,68% (Tabela 1). No tratamento (1) adubado com 40 kg de N ha⁻¹, foram observados quatro compostos majoritários do óleo essencial de *L. origanoides* Kunth, constituídos por carvacrol (39,84%), p-cimeno (13,39%), α -humuleno (10,1%), *biciclo [3.1.0] hexane-6- metanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-* (7,55%) e óxido de humuleno (7,32%),

Tabela1. Composição química e porcentagem da área de pico encontrada no óleo essencial extraídos das folhas de *L. origanoides* Kunth após 150 dias de cultivado.

N ^o	Compostos	IRc**	Tratamentos* (% Área)								
			1	2	3	4	5	6	7	8	média
1m	α - Thujeno	925	0,31	0,11	0,22	0,12	-	-	0,29	0,20	0,21
2m	α -Pino	933	0,40	0,34	-	-	-	-	0,73	-	0,49
3m	α -Terpineno	933	-	-	-	0,10	0,20	-	-	0,20	0,17
		1018	0,42	0,16	0,23	-	-	-	-	-	0,27
4m	Canfeno	950	0,90	0,41	-	-	0,73	-	-	0,73	0,69
5m	p-Menth-2-ene	972	-	-	-	-	0,20	-	-	0,20	0,20
6m	cis-Sabineno	973	-	0,48	0,70	0,40	-	-	0,32	-	0,48
7m	β -Pino	979	-	0,18	0,12	-	0,21	-	0,51	0,12	0,23
8m	Mirceno	988	0,75	-	-	-	0,07	-	0,52	0,07	0,35
9m	β -mirceno	989	0,1	0,29	0,22	0,11	-	-	-	-	0,18
10m	p-Cimeno	1025	13,4	5,71	8,09	3,46	1,83	0,37	7,98	1,82	5,33
11m	Limoneno	1029	0,51	0,38	-	-	0,21	-	0,47	0,21	0,36
12m	L-Limoneno	1030	-	-	0,23	0,11	-	-	-	-	0,17
13m	Eucaliptol	1033	0,73	5,8	11,2	7,05	4,01	0,45	15,4	4,0	6,08
14m	γ -Terpineno	1058	1,69	0,76	1,29	0,41	0,21	-	1,15	0,20	0,82
15m	Cis-4-turjanol	1074	0,12	-	-	-	-	-	-	-	0,12
16m	Sabineno hid. <Trans>	1074	-	-	-	-	-	-	0,34	-	0,34
		1104	-	-	-	-	-	-	0,24	-	0,24
17m	4-Tujanol,	1075	-	-	0,08	-	-	-	-	-	0,08
18m	Cânfora	1148	3,78	2,42	0,37	-	7,22	0,37	-	7,33	3,58
19m	Alcanfor	1156	-	-	-	0,6	-	-	-	-	0,60
20m	2-Bornanol	1175	0,56	-	-	0,11	-	-	-	-	0,34
21	2-Acet.Furano	1175	-	-	0,14	-	-	-	-	-	0,14
22m	Borneol	1175	-	0,27	-	-	-	-	-	-	0,27
23m	Terpinen-4-ol	1182	0,28	0,16	-	0,07	-	-	0,44	-	0,24
24m	p-Cimeno-2-ol	1284	-	-	1,45	-	-	0,38	-	-	0,92
25m	Timol	1298	-	-	-	-	12,9	-	-	10,7	11,8
26m	Carvacrol	1306	39,84	20,0	20,2	25,1	-	-	21,35	-	25,2

* Adubado com 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (1); 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (2); 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (3); 60 kg ha⁻¹ de N, P e K (4); 3,1 t ha⁻¹ de EB (5); 4,6 t ha⁻¹ de EB (6); 9,2 t ha⁻¹ de EB (7) e Testemunha - sem adubação (8).

** IRc = Índice de retenção calculado; m = monoterpenos, s = sesquiterpenos.

Tabela 1. Continuação.

N ^o	Compostos	IRc**	Tratamentos* (%Área)								média
			1	2	3	4	5	6	7	8	
27s	α -Copaeno	1375	-	-	-	0,10	0,12	-	-	0,12	0,11
28s	δ -Curcumeno	1401	-	-	-	-	-	-	0,15	-	0,15
29s	α -Cedreno	1416	-	-	-	-	-	-	0,44	-	0,44
30s	β -Cariofileno	1419	0,95	2,38	2,17	1,99	2,22	1,68	1,88	2,22	1,94
		1896	-	-	-	-	-	0,37	-	-	0,37
31s	α -Humuleno	1455	10,1	21,5	25,5	21,8	27,3	17,7	18,1	27,2	21,15
32s	α -Selineno	1484	0,65	-	-	0,31	-	-	-	-	0,48
33s	β -Selineno	1489	0,68	-	-	-	-	-	-	-	0,68
34m	Cis-Geranyl acetona	1496	-	-	-	-	-	0,30	-	-	0,30
35s	β -Farneseno	1500	-	-	-	-	-	0,17	-	-	0,17
36s	β -Bisaboleno	1507	0,76	-	-	0,14	-	0,2	1,43	-	0,63
37s	α -Panasinsen	1519	0,66	-	-	-	-	-	-	-	0,66
38s	Cubeneno	1525	-	0,35	-	-	-	-	-	-	0,35
39m	Sesq.sabineno hidratado	1542	-	-	-	-	-	0,35	-	-	0,35
40s	Nerolidol	1548	-	-	-	-	-	0,24	-	-	0,24
41s	Espatulanol	1567	-	-	-	-	-	0,28	-	-	0,28
42s	Óxido de Cariofileno	1583	1,12	2,53	1,74	2,04	2,62	3,22	1,92	2,61	2,23
43	Ftalato de dietila	1584	-	-	-	-	-	0,68	-	-	0,68
44m	Naftaleno	1594	-	-	-	-	-	2,50	0,81	-	1,66
	Naftaleno	1599	0,73	1,50	-	1,83	2,18	-	1,14	2,18	1,59
45s	Bergamoteno	1533	-	0,18	-	-	-	0,08	0,54	-	0,27
46s	Óxido de Humuleno	1611	7,32	13,4	13,4	13,6	16,6	17,08	10,9	16,6	13,61
47s	Patchoulene	1617	-	-	-	-	0,47	-	-	0,47	0,47
48s	Acetato guaiol	1626	-	-	-	-	0,97	-	-	0,97	0,97
49d	Acetato geranyl geraniol	1632	-	-	11,0	23,0	18,5	-	8,94	18,4	15,97

* Adubado com 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (1); 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (2); 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (3); 60 kg ha⁻¹ de N, P e K (4); 3,1 t ha⁻¹ de EB (5); 4,6 t ha⁻¹ de EB (6); 9,2 t ha⁻¹ de EB (7) e Testemunha - sem adubação (8).

** IRc = Índice de retenção calculado; m = monoterpênos, s = sesquiterpênos, d = diterpeno.

Tabela 1. Continuação.

N ^o	Compostos	IRc**	Tratamentos* (% Área)								média
			1	2	3	4	5	6	7	8	
50s	Acetato de Linalilo	1652	-	-	-	-	-	0,24	-	-	0,24
51s	Viridiflorol	1666	0,35	-	-	-	-	-	-	-	0,35
52s	(-)-Óxido de Cariofileno	1670	-	-	-	-	-	0,24	-	-	0,24
53s	α -Cariofileno	1695	-	-	1,22	-	-	-	-	-	1,22
54s	(Z,E)-Farnesol	1709	-	-	-	-	-	2,89	-	-	3,00
55s	Farnesol	1736	-	-	-	-	-	4,38	-	-	4,40
56	Acet. farnesil 2	1828	-	-	-	-	3,01	-	-	3,00	3,00
57	Acet. farnesil 3	1833	5,41	3,98	-	2,89	-	18,36	-	-	7,70
58s	Dióxido de Limoneno 1	1866	-	-	-	-	-	0,52	-	-	0,50
Total identificado (%)			92,5	83,2	99,5	99,7	99,6	73,5	95,5	99,5	

* Adubado com 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio (1); 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (2); 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio (3); 60 kg ha⁻¹ de N, P e K (4); 3,1 t ha⁻¹ de EB (5); 4,6 t ha⁻¹ de EB (6); 9,2 t ha⁻¹ de EB (7) e Testemunha - sem adubação (8).

** IRc = Índice de retenção calculado; m = monoterpenos, S = sesquiterpenos.

totalizando 78,2% da área relativa dos picos. No tratamento (2), com adubação de 60 kg de N ha⁻¹, foram cinco constituintes majoritários: o α -humuleno (21,52%), carvacrol (20,0%), *biciclo [3.1.0] hexane* (16,57%), eucaliptol (5,08%) e p-cimeno (5,71%), totalizando (68,88%). No tratamento (3), com adubação de 120 kg de N ha⁻¹, destacaram-se seis constituintes: o α -humuleno (25,54%), carvacrol (20,21%), óxido de humuleno (13,43%), Acetato geranil geraniol (11,03%), eucaliptol (11,22%) e p-cimeno (8,09%), totalizando (89,52%). Enquanto que no tratamento (4) adubado com 60 kg NPK ha⁻¹, equivalente, 133, 353, 100 de ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio respectivamente, observaram-se quatro constituintes: Acetato geranil geraniol (23,07%), α -humuleno (21,79%), carvacrol (25,23%), óxido de humuleno (13,6%) e eucaliptol (7,05%), totalizando (90,74%).

No tratamento (5), adubado com 3,1 t ha⁻¹(EB) foram observados cinco constituintes majoritários: α -humuleno (27,3%), Acetato geranil geraniol (18,46%), óxido de humuleno (16,64%), timol (12,9%) e canfora (7,52%), totalizando (82,82%). Já o tratamento (6), adubado com 4,6 t ha⁻¹ (EB), também apresentou cinco constituintes: *biciclo [3.1.0] hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-* (19,86%), acetato farnesil (18,36%), α -humuleno (17,7%), óxido de humuleno (17,08%), carvacrol (6,53%) e farnesol (4,38%), totalizando (77,38%). No tratamento (7), adubado com 9,2 t ha⁻¹(EB), também foram encontrados cinco

constituintes: carvacrol (21,35%), α -humuleno (18,17%), eucaliptol (15,42%), óxido de humuleno (10,95%), Acetato geranil geraniol (8,94%) e p-cimeno (7,98%), totalizando (82,83%). Enquanto que na testemunha, tratamento (8) também foram observados cinco constituintes, sendo α -humuleno (27,22%), Acetato geranil geraniol (18,42%), óxido de humuleno (16,6%), timol (10,43%), canfora (7,33%) e eucaliptol (4,0%), totalizando (84,27%) da área de picos.

No geral, o carvacrol (39,84%), α -humuleno, (27,32%), acetato geranil geraniol (23,07%), *bicyclo [3.1.0] hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-* (19,86%), acetato farnesil (18,36%), óxido de humuleno (17,08%), eucaliptol (15,42%), p-cimeno (13,04%), timol (10,7%), foram os constituintes que se destacaram no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth entre todos tratamentos. Vários compostos majoritários encontrados nessa pesquisa mostraram semelhanças aos compostos encontrados por outros autores em espécies de *L. origanoides* (OLIVEIRA et al., 2007; STASHENKO et al., 2010; ESCOBAR et al., 2010; SARRAZIN et al., 2015), assim como em outras espécies de plantas medicinais (THIEM et al., 2011; SANTOS et al., 2012).

O tratamento que recebeu a mistura de 60 kg ha⁻¹ de N, P e K, favoreceu a concentração de acetato geranil geraniol, enquanto a adubação com 4,6 t ha⁻¹, equivalente a 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, favoreceu o composto *bicyclo [3.1.0] hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-*, monoterpene sintetizado a partir do geraniol, pela enzima geraniol-8-hidroxilase.

Observou-se que houve grande variação na qualidade e na quantidade dos compostos químicos em todos os tratamentos, tendo em vista que a menor dose de adubação nitrogenada (40 kg ha⁻¹) mostrou-se favorável à concentração de carvacrol, composto majoritário encontrado nesse trabalho, enquanto que a menor dose de esterco bovino (3,1 t ha⁻¹) ou sem adubação (testemunha) favoreceram a concentração de sesquiterpenos como o α -Humuleno.

Santos et al. (2012) observaram que, dentre os principais sesquiterpenos encontrados em *Baccharis dracunculifolia* DC (alecrim do campo), as substâncias dos sesquiterpenos espatulenol e óxido de cariofileno responderam positivamente ao estresse nutricional com a maior média para a testemunha. De acordo com Rosal et al. (2011) pode-se inferir que as plantas submetidas a estresse nutricional sintetizam mais compostos para sua defesa ou sobrevivência.

De acordo com esses resultados, pode-se deduzir que a menor dose de adubo nitrogenado ou sem adubação pode ter direcionado a planta para um estresse, provocando

assim, mudanças no seu metabolismo e, conseqüentemente aumento na produção dos compostos majoritários, como foi o caso do carvacrol e do α -humuleno.

Sharafzadeh et al. (2011) ao estudar o efeito das fontes e doses de nitrogênio sobre os constituintes do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. (tomilho), verificaram que nas plantas adubadas com ureia houve diminuição do timol (55,65 e 53,70%) e nas plantas adubadas com nitrato de amônio houve o aumento deste constituinte do óleo essencial (63,63 e 62,15%), quando comparado com o controle (59,89%). No entanto, os mesmos autores observaram que a ureia quando aplicada na dose de 100 mg N kg⁻¹ (200 kg N ha⁻¹), aumentou a concentração de p-cimeno, γ -terpineno e carvacrol, porém os valores desses compostos, foram menores quando comparados com o timol. Enquanto que nessa pesquisa a menor dose de ureia (40 kg N ha⁻¹) aumentou o carvacrol e diminuiu o p-cimeno, γ -terpineno e timol no óleo de *L. origanoides* Kunth.

Hornok (1983) ao avaliar a influência da nutrição mineral no rendimento e composição do óleo essencial de plantas medicinais adubadas com diferentes níveis de NPK, verificaram que, ao elevar os níveis de potássio houve um incremento nos teores de mentol na *Mentha piperita* L (menta), e linalol e estragol no *Ocimum basilicum* (manjeriçao).

O tipo e a quantidade de adubo parecem influenciar no aumento da produção de compostos químicos, principalmente dos constituintes de grande interesse nas plantas medicinais. O nitrogênio possui função importante na biossíntese de óleos essenciais (VAKILI e SHARAFZADEH, 2014), tendo em vista que, além de influenciar na fotossíntese e na respiração para produção de esqueleto carbono, também constitui partes de três importantes coenzimas como o ATP, NADPH e CoA com funções importantes na biossíntese de terpenoides (SELL, 2003; RAVEN et al., 2001).

A produção de metabólitos secundários também pode ser influenciada pelo fósforo que possui importante papel no armazenamento de energia através dos componentes de açúcares-fosfato, ácidos nucléicos, coenzimas, fosfolipídios e ácido fítico com reações que envolvem ATP, enquanto que o potássio é requerido como cofator em mais de 40 enzimas, além de ser o principal cátion no estabelecimento da turgidez celular (TAIZ e ZEIGER, 2009; RAVEN et al., 2001). Segundo Charles et al. (1990) a redução no crescimento de *Mentha piperita*, induzida pelo mais baixo potencial osmótico pode ter resultado em novo padrão de partição de reservas, proporcionando esqueletos carbônicos para biossíntese e acumulação de terpenóides.

O decréscimo na produtividade dos principais componentes do óleo essencial pode ser atribuído como resposta ao equilíbrio nutricional, proporcionado pelo composto orgânico ou outro tipo de adubação, com isso, a planta não necessita de maior produção de compostos para sua defesa (SANTOS et al., 2012). Os terpenóides, em especial monoterpenóides e sesquiterpenóides, apresentam diversas funções nos vegetais, sendo que a proteção contra herbívoros, agentes microbianos e atração de polinizadores são as funções mais conhecidas (SANTOS et al., 2012),

Essa defesa que a planta pode desenvolver mediante a produção de compostos químicos pode estar relacionado não somente aos fatores bióticos, mas também aos abióticos. A variação na porcentagem dos compostos químicos presentes no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth em todos os tratamentos pode ter sido influenciada também por vários outros fatores, como temperatura, luminosidade, idade da planta, época de colheita. Corrêa et al. (2010) relatam que a obtenção do composto orgânico de interesse está relacionada à espécie vegetal, tipo e níveis de adubo, além de outras variáveis ambientais como luz, temperatura, fotoperíodo e manejo fitotécnico. A intensidade luminosa é um fator que influencia a concentração bem como a composição química dos óleos essenciais (LUZ et al., 2014).

A constituição genética pode ter sido outro fator contribuinte na variação dos compostos majoritários nessa espécie, principalmente por ter sido coletada em diferentes matrizes na natureza. Segundo Apel et al. (2006), a variação química ocorre com predomínio de diferentes compostos no óleo volátil obtido a partir de uma mesma espécie coletada em locais diferentes, o que é frequente devido à alta complexidade química dos óleos voláteis.

Prakasa Rao et al. (2000) ao avaliarem o efeito de doses de nitrogênio no rendimento e na qualidade do óleo essencial de *Tagetes minuta* L. (cravo de defunto) observaram aumento na porcentagem de cis- β -ocimeno nas plantas mais velhas, em todos os tratamentos, sendo que nos tratamentos sem aplicação de nitrogênio, o aumento foi maior (26%) nas plantas em fase de produção de sementes. Os mesmos autores observaram diferença significativa no composto di-hidrotagetona (33,6%) apenas quando as plantas estavam no início da floração e cultivadas na ausência de nitrogênio.

Na Tabela 2 pode ser observada a média geral dos compostos químicos majoritários encontrados no óleo essencial das folhas de *L. origanoides* Kunth com seus respectivos e índices de retenção em todos os tratamentos. Dentre as médias observadas, o carvacrol, α -humuleno, acetato geranil geraniol e o *bicyclo[3.1.0]hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-*

trimethyl- (C₁₀H₁₈O₂) seguiram a mesmas ordens daqueles individualmente encontrados dentro de cada tratamento. Em seguida, surgiram o óxido de humuleno, timol, acetato farnesil 3, o eucaliptol e o p-cimeno com médias variando entre 5,33 a 13,61% de toda área estudada. Os demais constituintes tiveram suas médias variando de 0,08% a 5,33%. Alguns trabalhos têm demonstrado que o p-cimeno, carvacrol e o timol são constituintes que ocorrem com frequências no óleo essencial de *L. origanoides* (GOVINDARAJAN et al., 2016; SERRAZIN et al., 2015; ANDRADE et al., 2014; VICUÑA et al., 2010; ESCOBAR et al., 2010).

Tabela 2. Médias dos compostos majoritários encontradas no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth após 150 dias do cultivo.

Compostos	IR	Tr(m)	Média (%)
Carvacrol (C ₁₀ H ₁₄ O)	1306	20,60	25,34
α -Humuleno (C ₁₅ H ₂₄)	1455	26,88	21,15
Acetato geranil geraniol (C ₂₂ H ₃₆ O ₂)	1632	33,91	15,97
<i>Bicyclo[3.1.0]hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-</i> (C ₁₀ H ₁₈ O ₂)	1633	33,84	14,77
Óxido de Humuleno (C ₁₅ H ₂₄ O)	1611	33,03	13,61
Timol (C ₁₀ H ₁₄ O)	1298	20,63	11,80
Acetato farnesil 3 (C ₁₇ H ₂₈ O ₂)	1833	41,00	7,66
Eucaliptol (C ₁₀ H ₁₈ O)	1033	9,25	6,08
p-Cimeno (C ₁₀ H ₁₄)	1025	6,15	5,33

Tr= Tempo de retenção. IR= Índice de retenção.

Trabalho realizado por Oliveira et al. (2007) em *Lippia origanoides* H.B.K mostraram que os dois compostos principais entre os monoterpenos encontrados foram o carvacrol (38,6 %) e timol (18,5), seguido do p-cimeno (10,3) e γ -Terpineno (4,1). Segundo esses mesmo autores, o carvacrol é encontrado como o principal componente do óleo essencial de orégano comercial. Estudos realizados por Sarrazin et al. (2015) com óleo essencial de *L. origanoides* Kunth também mostraram que o carvacrol foi o composto que apresentou maior média (47,5%), seguido do Timol (12,8), p-cimeno (9,7) e *p-Methoxythymol* (7,4). Os mesmos autores relatam que o carvacrol e o timol são monoterpenos fenóis biossintetizados de γ -terpineno através de p-cimeno, sendo que estes dois últimos compostos estão sempre presentes no mesmo óleo.

Stashenko et al. (2010) ao estudarem os quimiotipos dos óleos essenciais de *L. origanoides* relataram a abundância em hidrocarbonetos terpênicos, sendo que os monoterpenos e sesquiterpenos hidrocarbonetos foram representados por 45 e 27% da área total das análises cromatográficas, respectivamente, tendo como principal componente o carvacrol (40%) seguido pelo p-cimeno (13%), γ -terpineno (cerca de 11%), e timol (cerca de 11%). O carvacrol, o p-cimeno e o γ -terpineno foram uns dos constituintes frequentes nessa pesquisa, desse modo, os resultados estão em concordância com os autores acima citados.

Dentre os compostos majoritários encontrados na presente pesquisa, o monoterpeno carvacrol, sesquiterpeno α -humuleno e o Acetato geranil geraniol são constituintes de grande ocorrência nos óleos essenciais das espécies vegetais e vêm sendo estudados devido apresentarem potencial no controle de vários agentes patogênicos (Figura 2).

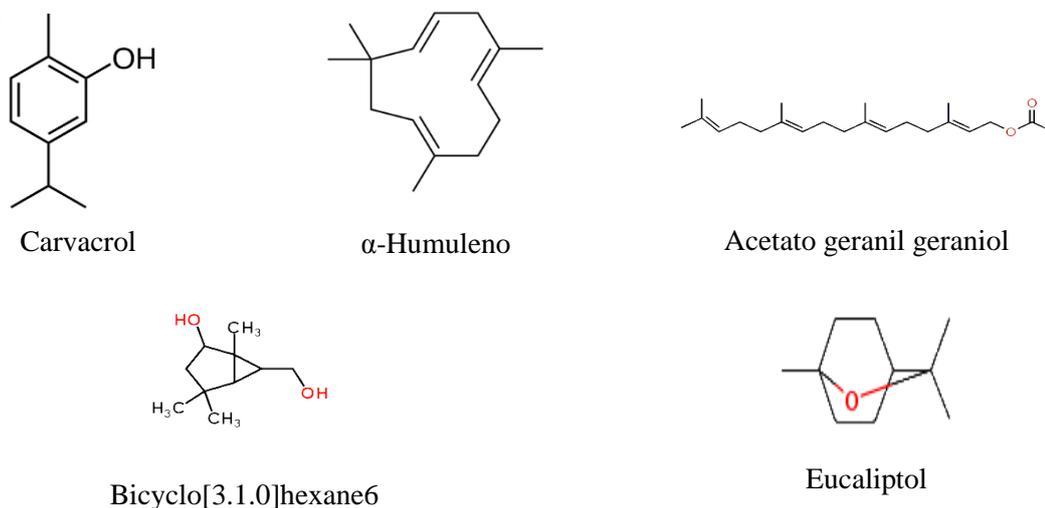


Figura 2. Estrutura química dos compostos majoritários encontrados no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth (GOVINDARAJAN et al., 2016).

Estudo realizado por Govindarajan, et al. (2016), mostraram que o carvacrol e terpinen-4-ol, principais constituintes do óleo de *Origanum vulgare* L, apresentaram potencialidade larvicida contra os mosquitos *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus* vetores da malária, *Culex quinquefasciatus* vetor da filariose e *tritaeniorhynchus Culex*, vetor da encefalite japonesa. Andre et al. (2016) ao investigarem o efeito do carvacrol e do acetato carvacrol (CA) contra nematoides gastrintestinais em ovinos e toxicidade desses compostos em ratos, concluíram que esses compostos apresentaram eficácia contra diferentes fases de

Haemonchus contortus e na adição da acetilação aumentou o efeito do acetato carvacrol na mobilidade dos vermes adultos, sendo menos tóxico em ratos.

Lei et al. (2010) estudando duas espécies de nematoides (*Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum*) observaram que, além da modificação cuticular, o carvacrol é efeito neurotóxico ao nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans*, pois o mesmo interage com a tiramina SER-2. As alterações cuticulares e possíveis neurotoxicidade causada por acetato carvacrol e carvacrol podem interferir com a permeabilidade da cutícula e a motilidade, dificultando a manutenção da homeostase dentro destes parasitas (ANDRE et al., 2016).

O α -humuleno é um dos metabólitos secundários da classe dos sesquiterpenos que também tem sido testado e comprovado com ampla atividade anti-inflamatória, antifúngica e de inibição enzimática (RAHMAN et al., 2010; ABRAHAM, 2001). É um composto químico já existente no mercado como anti-inflamatório e analgésico, atua impedindo a atividade da enzima cicloxigenase 2 (cox-2), responsável pela produção de prostaglandinas e na enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (SERTIÉ et al., 1990; FERNANDES et al., 2007). A ação do α -humuleno como anti-inflamatório foi comprovada tanto nos testes pré-clínicos, em camundongos, como nos clínicos, em humanos (ERENO, 2005). O acetato geranil geraniol atua na defesa química da planta contra ação de predadores e também possui atividade antibactericida comprovada (CASTRO et al., 2010).

O p-cimeno e seus derivados monoterpênicos apresentam atividades antioxidante e anticancerígena, constituindo potencial para preservar e dar sabor aos alimentos (BURT, 2004). O mesmo autor relata que o mecanismo de ação dos óleos essenciais ainda não está bem elucidado, porém os óleos essenciais que apresentam maior atividade contra patógenos alimentares são os que apresentam maiores quantidades de timol, eugenol e carvacrol. Nas plantas, atuam como uma proteção contra herbívoros, agentes microbianos e atração de polinizadores (SANTOS et al., 2012).

4 CONCLUSÃO

Mediante a análise de CG/EM foi possível identificar 58 compostos químicos no óleo essencial de *L. origanoides* Kunth entre monoterpenos (45,8%), sesquiterpenos (33,04%) e diterpeno (9,1%).

O carvacrol, α -humuleno, acetato geranil geraniol, *bicyclo[3.1.0] Hexane-6-methanol*, *2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-*, óxido de humuleno, timol, acetato farnesil 3, eucaliptol e p-cimeno foram os compostos majoritários encontrados em todos os tratamentos.

Os compostos químicos encontrados em todos os tratamentos foram eucaliptol, p-cimeno, α -humuleno, óxido de humuleno, óxido de cariofileno e β -cariofileno.

Maiores quantidades de carvacrol (39,84%), α -humuleno (27,3% e 27,2%), Acetato geranil geraniol foram obtidas com as menores doses de adubação química, orgânica ou sem adubação, respectivamente.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo, verificou-se que a *L. origanoides* Kunth constitui um potencial de resposta positiva à adubação com esterco bovino e com NPK, apresentando um rápido crescimento e produção de biomassa vegetal satisfatória, demonstrou também facilidade no manejo e adaptação às condições experimentais oferecidas. A utilização de 9,2 t ha⁻¹ de esterco bovino é indicada para a produção de óleo essencial, uma vez que se obteve a melhor percentagem nesse tratamento.

A propagação de *L. origanoides* Kunth é recomendada em substrato areia, utilizando estacas de um par de folhas e tratadas com 250 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico. Porém, caso o produtor não se dispõe de hormônio exógeno para o tratamento das mesmas, a utilização de estacas com dois pares de folhas em substrato areia pode ser uma alternativa para produção das mudas.

L. origanoides Kunth apresenta alto potencial de produção de compostos químicos em seu óleo essencial, sendo os monoterpenos e sesquiterpenos de grande frequência, com destaque para os compostos majoritário como, o carvacrol, α -humuleno, acetato geraniol, *Bicyclo[3.1.0]hexane-6-methanol, 2-hydroxy-1,4,4-trimethyl-*, óxido de humuleno, timol, acetato farnesil 3, eucaliptol e p-cimeno. A inserção de baixas concentrações de nutriente químico ou orgânico é indicada para a produção dos compostos majoritários nessa espécie de planta medicinal.

Ao longo dessa pesquisa, observou-se que essa espécie possui capacidade de resistência a ataques de pragas e patógenos, fator que é considerado importante para a produção de plantas medicinais, uma vez que matéria prima deve ser isenta de agrotóxico.

De acordo com os resultados obtidos é possível produzir *L. origanoides* Kunth nas condições do Sul do Tocantins e disponibilizar matéria prima para as empresas interessadas no óleo essencial. No entanto, vale lembrar que essa é uma espécie ainda não domesticada, sugerindo que outros estudos devem ser realizados, visando mais informações sobre o seu cultivo e importância dos compostos majoritários do óleo essencial.

A seleção de materiais geneticamente resistente pode beneficiar a produção e consequentemente incentivar os pequenos e grandes produtores interessados nessa cultura. Além de favorecer a comunidade interessada, a continuidade dos estudos contribuirá também para manutenção e conservação das espécies nativas ainda existentes no ecossistema brasileiro.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, W. R. Bioactive sesquiterpenes produced by fungi: are they useful for humans as well. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 583-606, 2001.

ADAMS, R. P. **Identification of essencial oil componentes by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopia**. Carol Stream, USA, Allured Publishing Corporation, 2001, 456p.

AMARAL, W.; DESCHAMPS, C.; FAVARETTO, N.; KOELER, H. S.; SHEER, A. P.; YAMAMOTO, C.; CÔCCO, C. L. Desenvolvimento, rendimento e composição de óleo essencial de camomila [*Chamomila recutita* (L.) Rauschert] sob adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 1-8, 2008.

ANDRADE, V. A.; ALMEIDA, A. C.; SOUZA, D. S.; COLEN, K. G. F.; MACÊDO, A. A.; MARTINS, E. R.; FONSECA, F. S. A.; SANTOS, R. L. Antimicrobial activity and acute and chronic toxicity of the essencial oil of *Lippia origanoides*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 1153-1161, 2014.

ANDRE, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C.; CAVALCANTE, G. S.; DOS SANTOS, J. M. L., MACEDO, I. T. F.; DE PAULA, H. C. B.; DE FREITAS, R. M.; DE MORAIS, S. M.; DE MELO, J. V.; BEVILAQUA, C. M. L. Comparative efficacy and toxic effects of carvacryl acetate and carvacrol on sheep gastrointestinal nematodes and mice. **Veterinary Parasitology**, 218, p. 52-58, 2016.

APEL, M. A.; SOBRAL, M., HENRIQUES, A. T. Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 402-407, 2006.

BABUSHOK, V. I.; ZENKEVICH, I. G. Retention indices for most frequently reported essential oil compounds in GC. **Chromatographia**, v. 69, n. 3, 257-269, 2009.

BERGAMASCHI, J. M. 2016. Terpenos. Terpenoil Tecnologia Orgânica. Disponível em: <<http://www.terpenoil.com.br/tecnologia/terpenos.pdf>>. Acesso em Abril de 2016.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. **International Journal of Food Microbiology**, 94, p. 223-253, 2004.

CASTRO, C. E.; RIBEIRO, J. M.; DINIZ, T. T.; ALMEIDA, A. C.; FERREIRA, L. C.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides* Cham.

(Verbenaceae) essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n. 3, p. 293-297, 2011.

CASTRO, H. G. DE; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. DA; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos secundários**. 2ª edição. Visconde do Rio Branco, Viçosa – MG, 2004, 113 p.

CASTRO, H. G. DE; PERINI, V. B. DE M.; SANTOS, G. R. DOS; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

CHARLES, D. J; JOLY, R. L; SIMON, J. E. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. **Phytochemistry**, v. 29, n. 9, p. 2837-2840, 1990.

CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, E. S.; COSTA, L. C. B.; ALVES, P. B.; NICULAN, E. S.; BRANT, R. S. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 80-89, 2010.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**, 2ª edição, Rio de Janeiro, 1997, 212p.

ERNO, D. 2005. Medicamentos: Da natureza para farmácia. **Pesquisa Fapesp**, 79. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2005/04/01/da-natureza-para-a-farmacia/>>. Acesso em abril de 2016.

ESCOBAR, P.; LEAL, S. M.; HERRERA, L. V.; MARTINEZ, J. R.; STASHENKO E. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 184-190, 2010.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M. DA; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 569, n. 3, p. 228-236, 2007.

FRANCO, M. R. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANÇAS, F. M. Compostos voláteis de três cultivares de manga (*Mangifera indica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimento** Campinas, v. 24, n. 2, p. 165-169, 2004.

GOVINDARAJAN, M.; RAJESWARY, M.; HOTI, S. L.; BENELLI, G. Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). **Research in Veterinary Science**, 104, p. 77-82, 2016.

HORNOK L. Influence of nutrition on the yield and content of active compounds in some essential oil plants. **Acta Horticulturae**, 132, p. 239-247, 1983.

LEI, J.; LESER, M.; ENAN, E. Nematicidal activity of two monoterpenoids and SER-2 tyramine receptor of *Caenorhabditis elegans*. **Biochemical Pharmacology**, 79, p. 1062-1071, 2010.

LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; HABBER, L. L.; MARQUEZ, M. O. M. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 552-560, 2014.

MAPELI, N. C.; VIEIRA, M. C.; HEREDIA, Z. N. A.; SIQUEIRA, J. M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 32-37, 2005.

NIST - National Institute of Standards and Technology. Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry/form-ser.html>. Acesso em abril de 2016.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; FERNANDES, P. D.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 24, n. 2, p. 206-214, 2014.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. **Food Chemistry**, 101, p. 236-240, 2007.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PRAKASA RAO, E. V. S.; PUTTANNA, K.; RAMESH, S. Effect of nitrogen and harvest stage on the yield and oil quality of *Tagetes minuta* L. in tropical India. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 7, p. 19-24, 2000.

QUEIROZ, M. R. A.; ALMEIDA, A. C.; ANDRADE, V. A.; LIMA, T. S.; MARTINS, E. R.; FIGUEIREDO, L. S.; CARELI, R. T. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v. 16, n. 3, p. 737-743, 2014.

RAHMAN, A.; HOSSAIN, M. A.; KANG, S. C. Control of phytopathogenic fungi by the essential oil and methanolic extracts of *Erigeron ramosus* (Walt.) B.S.P. **European Journal Plant Pathology**, v. 128, n. 2, p. 211-219, 2010.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Editora Guanabara Koogan S.A. Sexta edição, 2001, 879 p.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; AVAREZ V., V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5^a aproximação, Viçosa, MG, 1999, 359 p.

ROSAL, L. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; BRANT, R. DA S.; NICULAU, E. DOS S.; ALVES, P. B.; Produção vegetal e de óleo essencial de boldo pequeno em função de fontes de adubos orgânicos. **Revista Ceres**, v. 58, n. 5, p. 670-678, 2011.

SANTOS, H. S. MESQUITA, F. M. R.; LEMOS, T. L. G.; MONTE, F. J. Q.; BRAZ-FILHO, R. Diterpenos casbanos e acetofenonas de *Croton nepetaefolius* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 601-604, 2008.

SANTOS, R. F.; ISOBE, M. T. C.; LALLA, J. G.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; MING, L. C. Composição química e produtividade dos principais componentes do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinas**, v.14, n. esp., p. 224-234, 2012.

SARRAZIN, S. L. F.; SILVA, L. A. DA; OLIVEIRA, R. B.; RAPOSO, J. D. A., SILVA, J. K. R. DA; SALIMENA, F. R. G.; MAIA, J. G. S.; MOURÃO, R. H. V. Antibacterial action against food-borne microorganisms and antioxidant activity of carvacrol-rich oil from *Lippia origanoides* Kunth. **Lipids in Health and Disease**, v. 14, p. 145, 2015.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. G. DE; CARDOSO, D. P.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. DO; BARBOSA, L. C. DE A. Efeito da adubação mineral na produção de biomassa e no teor e composição do óleo essencial do capim-citronela. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 852-858, 2013.

SELL, C. S. **A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry**. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Milton Road, Cambridge, UK. 2003, 410 p.

SERTIÉ, J. A. A.; BASILE, A. C.; PANIZZA, S.; MATIDA, A. K.; ZELNIK, R. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of Artemetin. **Revista Planta Médica**, 56 (1), p. 36-40, 1990.

SHARAFZADEH, S.; ALIZADEH, O.; VAKILI, M. Effect of Nitrogen Sources and Levels on Essential Oil Components of *Thymus vulgaris* L. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 10, p. 885-889, 2011.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. RUÍZ, C. A.; ARIAS, G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **Journal of Separation Science**, v. 33, p. 93-103, 2010.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 29-47, 2010.

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

THIEM, B.; KIKOWSKA, M.; KUROWSKA, A.; KALEMBA, D. Essential Oil Composition of the Different Parts and *In Vitro* Shoot Culture of *Eryngium planum* L. **Molecules**, v. 16, p. 7115-7124, 2011.

TOZIN, L. R. S.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, T.M. Glandular trichome density and essential oil composition in leaves and inflorescences of *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in the Brazilian Cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 2, n. 87, p. 943-957, 2015.

VAKILI, M.; SHARAFZADEH, S. Growth and volatile oil yield of garden thyme as affected by nitrogen source and level. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**. ISSN: 2231-6345 (Online), v. 4, n. 1, p. 205-208, 2014. Disponível em: <http://www.cibtech.org/jls.htm>. Acesso em maio de 2016.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical Composition of the *Lippia origanoides* Essential Oils and Their Antigenotoxicity against Bleomycin-Induced DNA Damage. **Fitoterapia**, v. 81, n. 5, p. 343-349, 2010.

7 ANEXOS 1



Figura 1. Espécie de *L. origanoides* Kunth cultivada na Universidade Federal do Tocantins, Câmpus Experimental de Gurupi - TO.



Figura 2. Experimento de *L. origanoides* Kunth cultivada com adubação química e esterco bovino na Estação Experimental da Universidade Federal do Tocantins, Câmpus de Gurupi - TO.

8 ANEXOS 2



Figura 3. Propagação de *L. origanoides* Kunth com um par de folhas, tratadas com diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB) em substrato comercial e areia lavada.



Figura 4. Propagação de *L. origanoides* Kunth com dois pares de folhas, tratadas com diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB) em substrato comercial e areia lavada.



Figura 5. Óleo essencial das folhas de *L. origanoides* Kunth cultivadas com adubação química e esterco bovino.