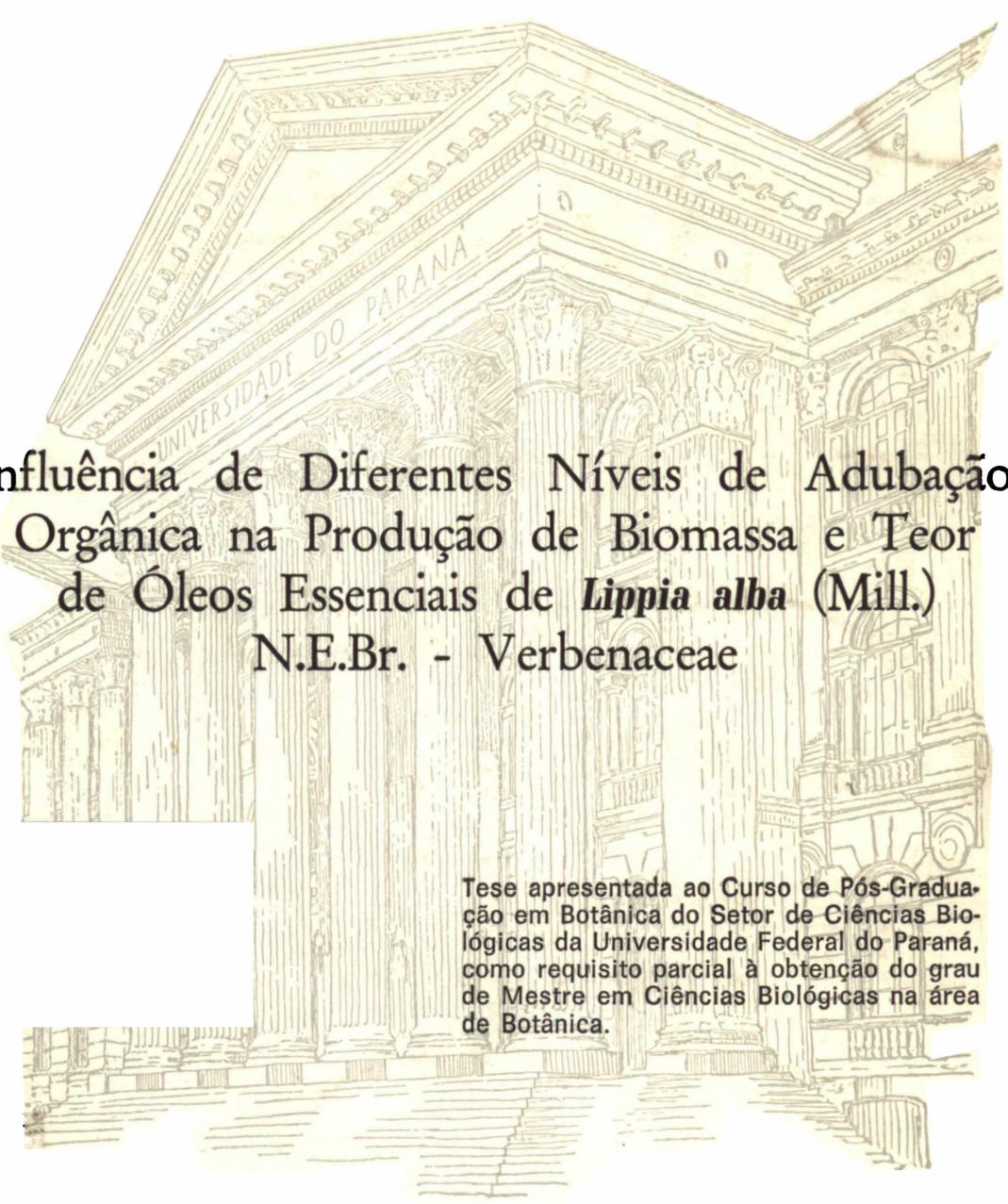


LIN CHAU MING



Influência de Diferentes Níveis de Adubação
Orgânica na Produção de Biomassa e Teor
de Óleos Essenciais de *Lippia alba* (Mill.)
N.E.Br. - Verbenaceae

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas na área de Botânica.

CURITIBA
1992

LIN CHAU MING

Influência de Diferentes Níveis de Adubação
Orgânica na Produção de Biomassa e Teor
de Óleos Essenciais de *Lippia alba* (Mill.)
N.E.Br. - Verbenaceae

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas na área de Botânica.

CURITIBA

1992

À Margarete, ao Rodrigo e
agora também ao Leonardo,
pela compreensão nessa
fase difícil e desculpas
pelas constantes não par-
ticipações no cotidiano
familiar.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Eduardo Augusto Moreira, pela oportuna e paciente orientação deste trabalho, incentivo e apoio.

Ao Professor Abdúlio Miguel pelo auxílio na fase laboratorial do trabalho e pelos palpites acertados.

Ao Professor Henrique Koeler, pelo auxílio na análise estatística dos dados.

Ao Dr. Issac Kayano, da Firmenich do Brasil Ltda, pelo apoio nos padrões dos óleos essenciais.

Ao Professor Valdemiro Grenski, pelo incentivo à pesquisa.

Aos Professores Armando Cervi e Olavo Guimarães pela identificação botânica e incentivo.

Ao professor Yedo Alquini, pelas críticas fundamentais e pelo incentivo.

Ao Orlando "Japonês" Takemura, pela amizade e constante crítica e avaliação do trabalho.

Ao Marcelo Torezan e Marcos Silveira pelas discussões ecológicas com um agrônomo botânico.

Ao Mancel Faiva, pelo incentivo às atividades didáticas comunitárias.

À Cleusa Bona, pelo apoio nas discussões anatômicas.

À Nacir Marquesini pela voz de incentivo.

Ao Gil Felício Fernandes e Maria das Graças Machado de Souza pelas discussões críticas do trabalho.

Ao Cirino Correa Júnior, pelo apoio e incentivo.

À Marianne Scheffer, pelas discussões técnicas e apoio.

À Dra. Marli Perozin, pelo constante apoio e incentivo e crítica sobre o trabalho.

À Ester Paciornik, pela ajuda e incentivo ao gosto pela Botânica.

À Srta. Onélia Dias dos Santos, pela pronta colaboração.

Ao Laboratório de Microscopia da Escola Paulista de Medicina pelas fotografias em microscópio eletrônico de varredura.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico, pela bolsa de mestrado e auxílio integrado de Pesquisa concedidos.

A todos que me aguentaram nesses dois anos e que contribuíram para a realização deste trabalho.

À sabedoria popular, que me permitiu conhecer e estudar esta planta.

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS.....	xi
	LISTA DE FOTOGRAFIAS.....	x
	LISTA DE CROMATOGRAMAS.....	xii
	LISTA DE DESENHOS.....	xiv
	RESUMO.....	xvii
	SUMMARY.....	xix
I	INTRODUÇÃO.....	001
II	OBJETIVOS.....	004
	1. GERAL.....	004
	2. ESPECÍFICOS.....	004

III	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	006
1.	CONSIDERAÇÕES SOBRE PLANTAS MEDICINAIS.....	006
2.	USO POPULAR DE PLANTAS MEDICINAIS NO PARANÁ.....	010
3.	- PROGRAMA DE FITOTERAPIA NO SUS-PR.....	012
4.	ASPECTOS FITOQUÍMICOS.....	021
4.1.	ÓLEOS ESSENCIAIS CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	021
4.2.	ASPECTOS ECOLÓGICOS.....	023
4.3.	CLASSIFICAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	026
	a) Hidrocarbonetos.....	026
	b) Álcoois e ésteres.....	027
	c) Lactonas ou óxidos naturais.....	028
	d) Aldeídos e cetonas.....	028
	e) Fenóis e éteres fenólicos.....	029
4.4.	BIOSSÍNTESE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	033
4.5.	ÓLEOS ESSENCIAIS EM <i>Verbenaceae</i>	043
4.6.	ÓLEOS ESSENCIAIS NO GÊNERO <i>Lippia</i>	044
4.7.	ÓLEOS ESSENCIAIS EM <i>Lippia alba</i>	050
4.8.	ESTRUTURA DOS PRINCIPAIS ÓLEOS ESSENCIAIS EM <i>Lippia alba</i>	054
4.9.	ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS.....	060
5.	ASPECTOS BOTÂNICOS.....	063
5.1.	POSIÇÃO SISTEMÁTICA DA FAMÍLIA <i>Verbenaceae</i>	063
5.2.	CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA <i>Verbenaceae</i>	066

5.3.	RELAÇÃO FILOGENÉTICA DA FAMÍLIA <i>Verbenaceae</i>	069
5.4.	COSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO.....	072
5.5.	ESPÉCIES DE <i>Lippia</i> NO PARANÁ.....	074
5.6.	DESCRIÇÃO BOTÂNICA DE <i>Lippia alba</i>	078
5.7.	SINONÍMIA CIENTÍFICA.....	081
5.8.	SINONÍMIA POPULAR.....	083
5.9.	ASPECTOS ANATÔMICOS.....	084
6.	ASPECTOS AGRONÔMICOS.....	091
6.1.	ALGUNS FATORES QUE INTERFEREM NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL.....	091
	a) Temperatura.....	092
	b) Água.....	092
	c) A adubação orgânica.....	095
	c.1) Composição química do esterco..	097
	c.2) Deficiência nutricional e produção de óleos essenciais.....	100
6.2.	CULTIVO DE OUTRAS ESPÉCIES DE <i>Lippia</i>	102
IV	MATERIAIS E MÉTODOS.....	108
1.	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA.....	108
2.	ETAPA AGRONÔMICA.....	110
2.1.	ANÁLISE QUÍMICA E GRANULOMÉTRICA DO SOLO.....	110
2.2.	ANÁLISE FOLIAR.....	110

2.3.	SELEÇÃO DAS ESTACAS.....	111
2.4.	PREPARO DAS ESTACAS.....	111
2.5.	ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS.....	112
2.6.	PLANTIO DAS ESTACAS.....	112
2.7.	TRATOS CULTURAIS.....	116
2.8.	COLHEITA.....	116
2.9.	SEPARAÇÃO DO MATERIAL.....	117
3.	ETAPA FITOQUÍMICA.....	119
3.1.	PREPARO DO MATERIAL.....	119
3.2.	PESQUISA OLFATIVA.....	119
3.3.	EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL.....	119
3.4.	- PURIFICAÇÃO.....	120
3.5.	ARMAZENAGEM.....	120
3.6.	DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE RELATIVA.....	122
3.7.	DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE REFRAÇÃO.....	123
3.8.	DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE SOLUBILIDADE.....	123
3.9.	DETERMINAÇÃO DO PONTO DE CONGELAMENTO.....	124
3.10.	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.....	124
3.11.	CROMATOGRAFIA GASOSA.....	125
V	RESULTADOS.....	127
1.	ETAPA AGRONÔMICA.....	127
1.1.	ANÁLISE QUÍMICA E GRANULOMÉTRICA DO SOLO.....	127

	1.2.	ANÁLISE FOLIAR.....	128
	1.3.	ÍNDICES DE PRECIPITAÇÃO E TEMPERATURA..	129
	1.4.	BIOMASSA.....	133
	2.	ETAPA FITOQUÍMICA.....	138
	2.1.	- PESQUISA OLFATIVA.....	138
	2.2.	RENDIMENTO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	138
	2.3.	DENSIDADE RELATIVA.....	140
	2.4.	ÍNDICE DE REFRAÇÃO.....	141
	2.5.	ÍNDICE DE SOLUBILIDADE.....	142
	2.6.	PONTO DE CONGELAMENTO.....	143
	2.7.	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.....	143
	2.8.	CROMATOGRAFIA GASOSA.....	146
VI		DISCUSSÃO.....	148
	1.	- ETAPA AGRONÔMICA.....	148
	2.	- ETAPA FITOQUÍMICA.....	159
VII		CONCLUSÕES.....	189
VIII		REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	195

LISTA DE FIGURAS

1. Esquema geral da área cultivada mostrando as 5 repetições (A, B, C, D e E), e os 5 tratamentos (0, 1, 2, 4 e 8), as distâncias entre os canteiros e os blocos e a faixa marginal.....114
2. Esquema de cada canteiro, mostrando distância entre plantas, tamanho do canteiro e plantas colhidas e não colhidas.....115
3. Efeito da adubação orgânica na produção de biomassa foliar e floral de **Lippia alba** (Mill.) N.E.Br. Verbenaceae.....152

4.	Efeito da adubação orgânica sobre o teor de óleo essencial de folhas e flores de <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. Verbenaceae.....	156
----	--	-----

LISTA DE FOTOGRAFIAS

1. Face abaxial, detalhe dos estômatos e 2 tipos de tricomas secretores.....089
2. Face abaxial com tricomas tectores e secretores.....089
3. Face adaxial, com tricoma tector e 2 tipos de tricomas secretores.....089
4. Face abaxial, tricoma secretor; cabeça com 2 células.....089
5. Face abaxial, próximo à nervura central; tricomas tectores e secretores.....090

6.	- Face adaxial, próxima à nervura central; tricomas tectores e secretores.....	090
7.	- Face adaxial, detalhe de estômato.....	090
8.	Face abaxial, mostrando tricomas tectores e secretores e nervura central.....	090
9.	Aspecto da produção de mudas por estacas.....	118
10.	Colheita de ramos floridos e transporte em saco plástico.....	118
11.	Aparelhos Clevenger, montados em série, para extração dos óleos essenciais por hidrodestilação.....	121
12.	Gaveta de freezer com sacos plásticos etiquetados contendo folhas e flores de <i>L. alba</i> moídas.....	121
13.	Tratamento 0 (testemunha) Bloco B.....	135
14.	Tratamento 1 Bloco B.....	135
15.	Tratamento 2 Bloco B.....	136
16.	Tratamento 4 Bloco B.....	136
17.	Tratamento 8 Bloco B.....	137
18.	Aspecto geral da área de plantio, ao lado de milharal. Flaquetas de madeira indicam os canteiros.....	137

LISTA DE CROMATOGRAMAS

1.	A0	164
2.	A1	165
3.	A2	166
4.	A4	167
5.	A8	168
6.	B0	169
7.	B1	170
8.	B2	171
9.	B4	172
10.	B8	173

11.	-	C0	174
12.		C1	175
13.		C2	176
14.		C4	177
15.	-	C8	178
16.		D0	179
17.		D1	180
18.		D2	181
19.		D4	182
20.		D8	183
21.		E0	184
22.		E1	185
23.	-	E2	186
24.		E4	187
25.		E8	188

LISTA DE DESENHOS

1. Estrutura química de alguns óleos essenciais..031
2. Estrutura química de alguns óleos essenciais em
Lippia alba.....059
3. *Lippia alba* (Seg. BURKART, 1979).....060
4. Estruturas anatômicas de *L. alba*.....087

RESUMO

Foi feito um experimento, em delineamento de blocos ao acaso, com 5 repetições e 5 tratamentos (T₀, T₁, T₂, T₄, T₈) com plantio de erva cidreira brasileira, *Lippia alba*, (Mill.) N.E.Br. *Verbenaceae*, em doses diferentes de adubação orgânica. Após a colheita, os resultados, analisados estatisticamente (Tukey, 5%), mostraram que, na biomassa, a resposta à adubação orgânica foi significativa. Com relação ao teor de óleo, a análise estatística (Tukey, 5%) mostrou que, inversamente à biomassa, o acréscimo de adubação orgânica diminuiu o teor de óleos essenciais, comprovando a influência do ambiente sobre a produção de óleos essenciais e uma de suas funções na planta, ou seja, a de servir como meio de defesa contra patógenos, plantas ou animais. Foram também realizados testes fitoquímicos: densidade relativa, índice de refração, índice de solubilidade e ponto de congelamento. As análises cromatográficas realizadas (CD e CG) permitiram determinar alguns dos principais constituintes dos óleos e suas concentrações. De posse desses resultados foi possível estabelecer uma série de dados técnicos que permitirão

subsidiar uma análise mais detalhada em cada situação e/ou local, visando a produção de *Lippia alba*.

SUMMARY

An experiment of cultivation of *Lippia alba* were realized, to aiming at to evaluate the influence of organic adubation levels on the yield of biomass (flowers and leaves) and contents of essentials oils. The yields of organic adubation were four: T₀, T₁, T₂, T₄ and T₈, repited 5 times, in casualty block delineament. The statistic analysis (Tukey, 5%) demonstrated that the response to the organic adubation were significant. In relation to essencial oils contents, the statistic analysis (Tukey, 5%) showed that the increase of organic adubation decrease they contents. Physical-chemical analysis were realized: specific gravity; refractive index, solubility index and freezing index. All the data are according to physical-chemical characteristics limits observed in literature. The cromatography analysis (thin layer and gas) determinated the main constituint of essencial oils, that varied because of enviromental condition changes. In possession of these data, were possible to establish a serial tecnic data that will permit to subsidize a more detailed analysis in specific situation, to have in view the cultivation of *Lippia*

alba, to obtain sufficient quantity of biomass and contents of essential oils in required quality.

I - INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais tem adquirido nova importância. A necessidade de novos princípios ativos, aliada à ocorrência de efeitos colaterais em medicamentos quimiossintetizados revigoram uma prática consagrada em épocas diversas da história humana.

Essa prática, comum em todo o estado do Paraná, tem novo alento, com a implantação do Programa de Fitoterapia do Sistema Único de Saúde, que consiste na utilização, pela rede pública de atendimento primário, de medicamentos obtidos a

partir de plantas medicinais.

Esse projeto, já colocado em prática, pretende estabelecer uma sistemática de ação no trabalho com plantas medicinais, envolvendo etapas diversas com uma equipe multidisciplinar, necessária para a plena consecução do trabalho, conforme esquema proposto por CARLINI (1983), modificado. Uma lista de 16 espécies foi selecionada para ser trabalhada inicialmente.

A planta objeto do primeiro estudo técnico agrônômico do Projeto, é a erva cidreira brasileira, *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br., família Verbenaceae. Com uma relação grande de nomes populares, esta planta encontrada em estado natural e cultivada no Paraná tem sido utilizada pela população por suas atividades antiespasmódicas e sedativas, conforme levantamentos etno-botânicos realizados pela Secretaria Estadual de Saúde do Paraná, pela Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba, e por PACIORNIK (1988). Suas propriedades terapêuticas são atribuídas à ação de seus óleos essenciais, principalmente o β cariofileno e o geranial, conforme CRAVEIRO et alii (1981).

No tocante a aspectos agrônômicos, muito pouco se tem a respeito desta planta; não existem pesquisas e literatura suficientes, havendo pois, necessidade de se estabelecer técnicas apropriadas de produção dessa planta, com o intuito

de se evitar sua depredação e possibilitar a produção de matéria prima vegetal de boa qualidade e em moldes econômicos, abordando aspectos ambientais que interferem na produção de princípios ativos.

II - OBJETIVOS

1. - GERAL

Avaliar a influência de diferentes teores de adubação orgânica na produção de biomassa aérea e teor de óleos essenciais em um cultivo de *Lippia alba*.

2. - ESPECÍFICOS

a) Determinar o rendimento de óleo essencial em cinco tratamentos diferentes de adubação orgânica;

b) Determinar a biomassa aérea (de folhas e caule) nesses cinco tratamentos;

c) Verificar as características físico - químicas dos óleos essenciais obtidos nos tratamentos;

d) Verificar as composições dos óleos essenciais obtidos nos tratamentos;

e) Estabelecer dados técnicos para subsidiar recomendação de adubação orgânica para o cultivo dessa planta.

III - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. - CONSIDERAÇÃO SOBRE PLANTAS MEDICINAIS

O uso de plantas medicinais na terapêutica humana é consagrada há milênios, segundo relatam diversos testemunhos históricos pertencentes a diferentes civilizações e culturas que se sucederam em nosso planeta. (CORREA JR. et alii, 1991)

A fitoterapia tem seu valor porque é um processo histórico, obtido por acúmulo lento de informações, através de experiências dos vários povos, experiências estas que são úteis até hoje. Sua importância torna-se mais evidente quando

é sabido que durante a maior parte da história da medicina, os recursos medicamentosos disponíveis eram, em grande parte, provenientes do reino vegetal, desde as orientações na coleção Hipocrática do século III a.C. e na Matéria Médica de Dioscórides, do início da era cristã, até o início do século XIX. (GRAÇA et alii, 1990)

Até antes do advento da síntese química, no início do século XX, as plantas medicinais constituíram-se nos principais recursos medicamentosos, sendo, porém paulatinamente substituídos por quimioterápicos quando a indústria química descobriu e aperfeiçoou processos de produção sintética dos diversos princípios ativos anteriormente obtidos apenas nas plantas.

Segundo NEVES (1982), "com o transcurso dos anos, porém, constata-se que não só a excessiva quimioterapia atual encontra-se utilizada como elemento de exploração e conseqüente dependência econômica, como, e também, dado o seu "quantum" de agressividade apresenta-se como possível fator de degeneração da espécie humana, já que, grande parte dos medicamentos modernos bloqueiam mecanismos imunitários".

Segundo o mesmo autor, o "mundo retoma as plantas medicinais devida a esta "poluição medicamentosa", conforme dados do Centro Internacional de Comércio, que revela um aumento de 20 milhões de dólares de 1967 a 1971 nas

importações de matéria prima de origem vegetal pela indústria farmacêutica e de cosméticos, revelando uma progressão de sete por cento daí para cá. Atualmente a proporção de plantas medicinais utilizadas no preparo de medicamentos em todo o mundo está em cerca de uma terça parte das substâncias sintéticas". Segundo FARNSWORTH et alii (1986), nos Estados Unidos a tendência também tem sido de aumento, mostrando que de 1959 a 1980, 25% dos medicamentos prescritos comercializados nas farmácias continham extratos de plantas ou princípios ativos preparados a partir de vegetais superiores.

Esse volume tem sido crescente, segundo GRAÇA et alii (1990), pois cerca de 40%, na década de 70, das especialidades farmacêuticas utilizadas na Europa derivaram de produtos naturais (em sua maioria vegetais), baseados em dados apresentados na Jornada Farmacêutica Internacional realizada em Paris em 1976.

Segundo AKERELE (1988), em 1978, na Conferência Internacional sobre Cuidados Primários em Saúde, realizada em Alma-Áta, URSS, a Organização Mundial de Saúde (OMS), estabeleceu importantes diretrizes para estender a cobertura de saúde no ano 2000 a todos os povos da Terra, recomendando que os países em desenvolvimento prestigiem a chamada medicina tradicional.

Em 1981, o Ministério da Saúde, através da Portaria

número 212, de 11/09/81, definiu o estudo de plantas medicinais como uma das prioridades de investigação em saúde.

Em 1982, foi criado o Programa de Plantas Medicinais da CEME, que apresentou como um dos objetivos, "o desenvolvimento de uma terapêutica alternativa e complementar, com embasamento científico, através do estabelecimento de medicamentos originados a partir da determinação do real valor farmacológico de preparações de uso popular à base de plantas ditas medicinais".

Em 1986, a Oitava Conferência Nacional de Saúde, em Brasília, referiu-se sobre a "introdução de práticas alternativas de assistência à saúde no âmbito dos serviços de saúde, possibilitando ao usuário, o direito democrático de escolher a terapêutica preferida".

Em 1988, segundo AKERELE (1988), uma Conferência Internacional sobre Conservação de Plantas Medicinais, foi convocada em Chang Mai, Tailândia, pela OMS em associação com a União Internacional de Conservação da Natureza e Recursos Naturais (IUCN) e pelo Fundo Mundial da Vida Selvagem (WWF) e resultou na adoção da "Declaração de Chang Mai", intitulada de "Salvem as plantas que salvam vidas", que colocou as plantas medicinais na sua devida importância no contexto mundial.

No mesmo ano, aconteceu em Carpina, Pernambuco, o I Encontro Brasileiro de Fitoterapia em Serviço Público, iniciando a organização de um trabalho articulado a nível nacional na área. Em 1990, o II Encontro, realizado em João Pessoa, Paraíba, estabeleceu algumas metas:

a) formular uma política nacional sobre plantas medicinais;

b) promover uma integração interinstitucional e multiprofissional nessa área;

c) incentivar junto às Universidades, o estudo e a pesquisa sobre plantas medicinais, assim como a inclusão da fitoterapia, como matéria curricular, em cursos afins;

d) promover a Vigilância Sanitária sobre a produção e comercialização de produtos fitoterápicos;

e) mobilizar recursos para o desenvolvimento ordenado do trabalho e pesquisa nesse campo;

f) apoiar medidas que viabilizem a produção de medicamentos fitoterápicos no país.

2. - USO POPULAR DE PLANTAS MEDICINAIS NO PARANÁ

O uso de plantas medicinais, pela população é grande.

Os índios, primeiros habitantes do estado já conheciam grande variedade de espécies para diversas enfermidades. Boa parte dessa cultura tem sido perdida, tanto pela dizimação das populações indígenas quanto pela introdução de quimioterápicos nas aldeias remanescentes. Alguns esforços tem sido realizados no sentido de resgatar as informações indígenas sobre plantas medicinais. MARQUESINI (1990), levantou plantas medicinais utilizadas pelos índios do sul do Brasil, e o trabalho terá continuidade.

As Universidade Estaduais de Maringá, Cascavel, Londrina e Ponta Grossa vem desenvolvendo alguns estudos nas áreas de etno-botânica, nas suas regiões.

A Indústria Klabin de Celulose mantém em suas áreas um amplo programa de saúde envolvendo fitoterápicos, com resultados animadores.

CERVI et alii (1989), apresentaram uma lista com 150 espécies utilizadas pela população do município de Curitiba.

Em 1987, a Secretaria Municipal de Cultura de Curitiba realizou a Feira de Plantas Medicinais na Comunidade, onde a população de sete bairros de Curitiba apresentaram as plantas medicinais mais utilizadas (62 espécies).

FACIORNIK (1988), apresentou uma lista de 148 espécies utilizadas por famílias de bairros de Curitiba.

MING (1990), em levantamento feito em Adrianópolis PR, relacionou 47 espécies utilizadas na zona rural daquele município.

No Paraná, em processo contínuo, está se realizando o estudo de plantas medicinais, reforçado agora pelo Programa de Fitoterapia do SUS-PR, que está implantando na rede pública, medicamentos fitoterápicos.

3. - PROGRAMA DE FITOTERAPIA NO SUS-PR

Em 1989, fruto de experiências realizadas em alguns municípios paranaenses, a Secretaria Estadual de Saúde do Paraná implantou o Programa de Fitoterapia do SUS-PR. Plantas Medicinais nos Serviços de Saúde, cujo objetivo principal, é a viabilização do uso dos diversos preparados obtidos a partir das plantas medicinais mais utilizadas pela população e corroborados pelos meios científicos, para as principais causas de demanda na rede primária de atendimento do SUS-PR (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 1989).

A partir do levantamento das principais causas de demanda verificados na rede pública de saúde em 8 distritos sanitários do estado, (lista 1), a equipe multidisciplinar, formada por antropólogos médicos, enfermeiros, botânicos, agrônomos, farmacêuticos, bioquímicos e assistentes sociais,

estabeleceu uma listagem com 16 espécies (lista 2), a partir diversos de critérios técnicos (lista 3).

Essa relação constitui-se nas plantas às quais o Programa irá realizar os trabalhos, visando dotar os postos de saúde com mais medicamentos fitoterápicos.

LISTA 1 - PRINCIPAIS CAUSAS DE DEMANDA NA REDE PRIMÁRIA DE ATENDIMENTO DO ESTADO, LEVANTADOS EM 8 DISTRITOS SANITÁRIOS.

Adultos

1) Hipertensão arterial

2) Infecções respiratórias agudas (gripe, resfriados, amigdalites, sinusites, pneumonias, broncopneumonias e bronquites)

3) Afecções da pele e anexos (sarna, piolho, piodermites, abscessos, impetigo e erisipela)

4) Doenças do aparelho digestivo

5) Doenças mentais

6) Doenças ginecológicas (leucorréias)

7) Lombalgias

(Ainda que doenças sexualmente transmissíveis constem desta lista, foi optado pela não indicação de plantas para estas patologias num primeiro momento.)

Crianças

1) Doenças diarréicas e parasitárias (diarréias, disenterias, verminoses*)

2) Infecções respiratórias agudas (gripes, resfriados, amigdalites, otites médias, agudas, pneumonias, traqueobronquites, broncopneumonias)

3) Doenças infecto-contagiosas (hepatite, coqueluche, etc.)

4) Afecções da pele e anexos (escabiose, pediculose, piodermites, abscessos)

*) Verminoses: ascaridíase, giardíase, amebíase, ancilostomíase, oxiuriase, estrogilodíase, tricocefalíase, himenolepiase, teníase.

LISTA 2 - LISTA DE PLANTAS DEFINIDAS COMO OBJETO DE ESTUDO INTEGRADO E SUA INDICAÇÃO PARA OBSERVAÇÃO CLÍNICA:

- * *Nikania spp.*.....broncodilatador

- * *Mentha spp.*.....vermífugo

- Lippia alba*.....sedativo

- * *Passiflora spp.*.....hipnótico

- Citrus aurantium*.....antitérmico

- * *Aloe spp.*.....cicatrizante

- Symphytum officinale*.....cicatrizante

- Calendula officinalis*.....antisséptico

- Natricaria chamomilla*.....antiespasmódico

- Ageratum conyzoides*.....artrite/artrose

- Naytenus ilicifolia*.....gastrite/úlceras gástricas

- Coleus barbatus*.....dispepsias

- Artemisia absinthium*.....dispepsias

- Achillea millefolium*.....analgésico

- Taraxacum officinale*.....diurético

Phyllanthus niruri.....antilítico/para hepatite

infecciosa

* As plantas cujas espécies não estão ainda definidas, serão estudadas mais profundamente para se saber quais as mais comuns em nossa região e quais as mais eficazes.

**LISTA 3 - CRITÉRIOS PARA SELEÇÃO DE PLANTAS
MEDICINAIS, ENVOLVENDO ASPECTOS ANTROPOLÓGICOS, MÉDICOS,
BIOQUÍMICOS, BOTÂNICOS, AGRONÔMICOS E SOCIAIS.**

Plantas que constem na lista das mais usadas pela população;

Plantas com indicações terapêuticas que se mantenham insistentemente as mesmas;

Não selecionar plantas utilizadas para doenças graves (câncer, cardiopatias, AIDS, etc.), quando há necessidade de um rigoroso controle médico;

Plantas com indicações terapêuticas para as principais causas de demanda na rede primária de atendimento dos serviços de saúde;

Excluir plantas com risco de confusão com as tóxicas;

Plantas com distribuição geográfica estadual ampla;

Plantas disponíveis atualmente ou de fácil cultivo;

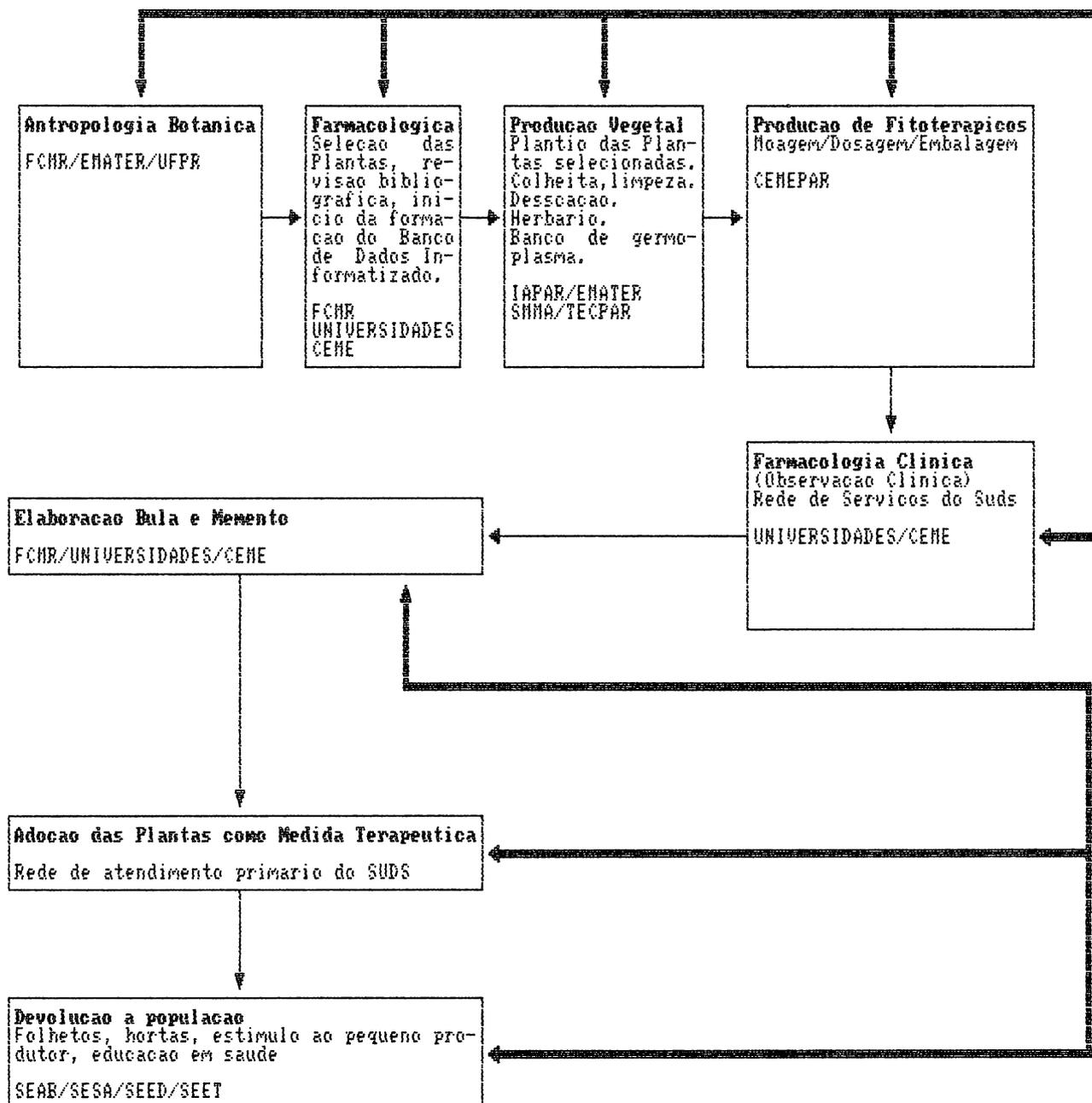
- Evitar plantas da moda;

Não priorizar plantas em extinção (no caso, organizar para manter cultivos);

Plantas cujas partes aéreas sejam utilizadas;

Plantas já estudadas;

O programa de trabalho do SUS-PR organizado através de um esquema proposto por CARLINI (1983), modificado, é apresentado a seguir:



Até o presente momento, estão se fazendo os trabalhos com as seguintes plantas da lista:

- 1) Confrei (*Symphytum officinale*);
- 2) Calêndula (*Calendula officinalis*);
- 3) Guaco (*Mikania glomerata*);
- 4) Erva cidreira brasileira (*Lippia alba*);
- 5) Espinheira santa (*Maitenus ilicifolia*).

O presente trabalho inclui-se na perspectiva das ações planejadas pela Secretaria de Saúde do Paraná.

4. - ASPECTOS FITOQUÍMICOS

4.1. - ÓLEOS ESSENCIAIS - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Óleos essenciais, também chamados óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências, são princípios encontrados em várias partes das plantas e que têm como característica, o cheiro e o sabor, além de serem insolúveis em água e solúvel em solventes orgânicos, apresentando-se sob forma de líquidos oleosos. (CECY, 1989), e são extraídos por arraste de vapor (COSTA, 1986).

Os óleos essenciais são incolores como regra, após

sua obtenção, porém, ao longo do tempo, eles podem se oxidar ou se resinificar, escurecendo sua cor. Para evitar que isso ocorra, é importante seu armazenamento em locais frescos e secos, em recipientes de vidro âmbar bem fechados e cheios.

São encontrados em diversas famílias de plantas, ocorrendo em estruturas que evoluíram de organelas oleíferas, células oleíferas, cavidades e canais esquizógeno a pelos glandulares, conforme GOTTLIER (1984).

Os óleos essenciais também possuem alto índice de refração e a maioria é opticamente ativa, possuem um índice de rotação específica como uma propriedade para diagnose. Essa característica permite, por exemplo, segundo COSTA (1986), distinguir produto natural do sintético. Por exemplo, a cânfora natural é dextro-rotada ao passo que a cânfora sintética é racêmica.

Apesar de os óleos essenciais como regra, serem insolúveis em água, eles são suficientemente solúveis para passar o seu odor à água, segundo COSTA (1986).

Os óleos essenciais são importantes como matéria prima para perfumes, medicamentos e como especiarias. (CECY, 1989; CLAUS, 1961 e COSTA, 1986)

4.2. - ASPECTOS ECOLÓGICOS

Nas plantas, os óleos essenciais desempenham algumas funções. Segundo GERSHENZON (1984), desempenhariam como compostos de defesa. Segundo GOTTLIEB (1985), desempenham alguns papéis ecológicos, nas interações planta-micróbio; planta-planta e planta-animal. Como exemplo da interação planta-micróbio, é citado o caso da inoculação do olmo (*Ulmus glabra*) com o fungo *Ceratocystis ulmi*. Após certo tempo, foi induzida formação de sesquiterpenos antifúngicos do tipo cadinano. Para a interação planta-planta, um exemplo é citado: p-mentano, produzido por *Eucalyptus citriodora* inibe a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de várias plantas superiores, à exceção da própria *E. citriodora*.

MILLER (1966), in ODUM, 1988, citou um caso bastante conhecido da interação planta-planta, ocorrente na vegetação de chaparral da Califórnia, onde as espécies *Salvia leucophylla* e *Artemisia californica* desprenderam toxinas voláteis para a terra, deixando uma faixa próxima delas sem qualquer outra planta a não ser as próprias.

Segundo GOTTLIEB (1985), a interação planta-animal é caracterizada principalmente pela função antiherbivoria que os óleos representam. Há os casos de *Pinus*, que repelem besouros (*Scolytidae*) por ação dos monoterpenos encontrados naquelas plantas e o do manjeiricão (*Ocimum basilicum*) cujos cinenos

possuem ação juvenilizante em larvas de insetos, impedindo-os de realizar seu pleno desenvolvimento morfológico. Para mamíferos, o mesmo autor citou o caso do abeto (*Pseudotsuga menziesii*), que ao ser depredado por cervo (*Odocoileus hemionus*) produz maiores quantidades de monoterpenos, que inibem a atividade bacteriana no rumem do animal, resultando em redução do consumo alimentar.

Essas mesmas funções descritas por GOTTLIEB (1985), foram anteriormente confirmadas por outros autores, como KING & COLEY-SMITH (1968); SCHENCK & STOTZKY (1975); MOLESKY (1976); e LODHI (1978); in ALMEIDA (1988).

A função de reduzir a herbivoria é marcante nos óleos essenciais, existindo mais de 100.000 grupos químicos identificados nos vegetais, segundo HOWE & WESTLEY (1988).

Além disso, segundo ROHAN (1972); in ALMEIDA (1988); os óleos essenciais servem também para as plantas se comunicarem entre si. O conjunto de produtos químicos liberados por um indivíduo constitui um sinal que permite ao receptor reconhecer se o emissor é benéfico ou prejudicial.

Essa "comunicação" pode se dar pela volatilização das substâncias, pela exsudação pelas raízes ou pela lixiviação (entenda-se como a remoção de substâncias químicas das plantas vivas ou mortas por ação da água, seja através da chuva,

orvalho ou neblina), segundo ALMEIDA (1988).

Os estímulos havidos para modificações bioquímicas pelas plantas já eram conhecidos há mais tempo, segundo CRONQUIST (1981).

GOTTLIEB (1985), afirmou, reforçando ROHAN (1972), in ALMEIDA (1988), que os óleos essenciais funcionam como sinais de comunicação química com o reino vegetal e como armas de defesa química contra o reino animal.

A função de defesa já fora sugerida por EVENARI (1949), in RICE (1984), que sugeriu que os monoterpenos e aldeídos aromáticos poderiam ser os maiores responsáveis pela atividade inibitória de germinação de sementes dos óleos essenciais.

GRUNNER (1961), in RICE, 1984, citou que *Artemisia absinthium* produziu 3 sesquiterpenos que inibiram a germinação de sementes, entre os quais o β -cariofileno.

Outros autores atribuem também aos óleos essenciais, a função de reduzir a transpiração, pela indução do fechamento estomatal ou mantendo um escudo de vapor que mantém a temperatura da folha mais baixa (AUDUS & CHEETAAM, 1940 e ROVESTI, 1952 in GERSHENZON, 1984). A mesma consideração foi feita por FLUCK (1955), in YANIV & FALEVITCH (1982).

4.3. - CLASSIFICAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A classificação dos óleos essenciais é dificultada uma vez que constituem uma mistura de diversos constituintes químicos. Diversos autores concordam em classificar os óleos essenciais conforme a função química do principal componente, a que é predominante na planta, dividindo-se nos seguintes grupos:

a) Hidrocarbonetos: os hidrocarbonetos são encontrados em praticamente todos os óleos essenciais, como monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Podem se apresentar em estruturas acíclicas ou em estruturas cíclicas, conforme MATOS & MATOS (1989).

Os hidrocarbonetos encontrados nos óleos essenciais não são tão odoríferos que outros princípios, como os aldeídos, cetonas, álcoois e ésteres, pelo fato de não possuírem moléculas de oxigênio em sua estrutura, necessários para que essa característica se evidencie. (COSTA, 1986 e MATOS & MATOS, 1989)

São levemente solúveis em álcool e fortemente solúveis em solventes orgânicos e se oxidam e se resinificam rapidamente, produzindo um óleo de gosto e odor desagradável. Por isso os hidrocarbonetos usados como flavorizantes, como o óleo de limão, são deterpenizados, através de destilação

fracionada sob baixa pressão, resultando em um óleo que se mantém por mais tempo. (FERGURSON, 1956)

Os principais fármacos com hidrocarbonetos são óleos de laranja e limão, obtidos através da expressão de casca de frutas frescas de *Citrus aurantium* e *Citrus lemon*, que contém limoneno e a terebentina, obtida da destilação de resina de diversas espécies de *Pinus*, cujo constituinte principal é o pineno.

b) Álcoois e Ésteres: os álcoois dos óleos essenciais podem ser classificados em álcoois acíclicos, terpênicos e sesquiterpênicos, conforme sua estrutura molecular.

Segundo FERGURSON (1956), os álcoois acíclicos são solúveis em água e os mais importantes são o linalol, geraniol, e citronelol, encontrados respectivamente em pétalas de *Rosa*, frutos de coentro (*Coriandrum sativum*) e espécies de *Eucalyptus*. Ainda segundo o mesmo autor, entre os álcoois, terpênicos, os mais importantes são o mentol e borneol, encontrados respectivamente em folhas de diversas espécies de *Nentha* e sumidades floridas de *Rosmarinus officinalis*.

Exemplos de álcoois sesquiterpênicos são o santalol e gingerol, encontrados na madeira de sândalo (*Santalum album*) e nos rizomas de gengibre (*Zinziber officinale*). (FERGURSON, 1956 e CLAUS, 1961)

Os ésteres naturais mais comuns são os acetatos de terpineol, de borneol, de geraniol e de linalol, presentes em diversas espécies de *Labiatae* e o isotiocianato de alila, presentes na mostarda (*Brassica nigra*) e o salicilato de metila, encontrados em raízes de algumas *Poligala*, são usados contra contusões. (FERGURSON, 1956; CLAUS, 1961; CECY, 1989)

c) Lactonas ou Óxidos naturais: são ésteres internos de ácidos orgânicos. Aparecem com frequência nas essências, porém em quantidades reduzidas. Os principais fármacos deste grupo são a erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides*), diversas espécies de *Eucalyptus*, de *Melaleuca*, *Apium* e a angélica (*Angelica archangelica*). As principais substâncias encontradas são o cineol (ou eucaliptol), o ascaridol, cumarina e a santonina. (FERGURSON, 1956; CLAUS, 1961; CECY, 1989; TYLER et alii, 1989)

d) Aldeídos e Cetonas: os aldeídos que ocorrem em óleos essenciais podem ser divididos em acíclicos e cíclicos. São os óleos essenciais menos estáveis, oxidando-se com o ar, produzindo o correspondente ácido orgânico. Exemplos: benzaldeído oxida-se, depositando cristais de ácido benzóico. (FERGURSON, 1956; COSTA, 1986)

As principais drogas deste grupo são o cinamomo (diversas espécies de *Cinnamomum*), casca de limão (*Citrus lemon*), frutos de baunilha (diversas espécies de *Vanilla*),

folhas de melissa (*Melissa officinalis*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) e amêndoas de pêssego e ameixa (diversas espécies de *Prunus*). (FERGURSON, 1956; CLAUS, 1961)

Os principais componentes são, de acordo com as drogas mencionadas anteriormente, aldeído cinâmico, citral, vanilina e benzaldeído.

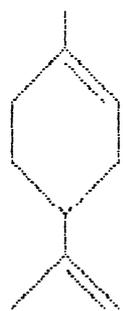
Quanto às cetonas, podem ser terpênicas monocíclicas, terpênicas dicíclicas e não terpênicas. Podem ser encontradas em sumidades floridas de algumas *Mentha*, frutos de *Piper nigra*, tronco e folhas de *Cinnamomum camphora* e folhas de algumas *Thuja* e de *Tanacetum vulgare*. Os componentes principais são: mentona, carvona, piperitona, pulegona, cânfora e tujona. (FERGURSON, 1956)

e) Fenóis e Éteres fenólicos: os óleos essenciais fenólicos são normalmente usados como antisséptico e germicida. São usados também como anestésico local. Eugenol, timol e carvacrol são os mais importantes fenóis encontrados nos óleos essenciais. São encontrados em diversos gêneros de *Myrtaceae*, *Labiatae* e *Verbenaceae*. Exemplos: Eugenol (*Syzygium aromaticum*, *Ocimum gratissimum*, *Eugenia*, *Myrcia*, e *Pimenta*). Timol e carvacrol (*Thymus vulgaris* e *Lippia sidoides*). (FERGURSON, 1956; CLAUS, 1961; TYLER et alii, 1988)

Quanto aos éteres fenólicos, os mais importantes são o

anetol e o safrol, obtidos de anis ou erva doce (*Fimpinella anisum*), funcho (*Foeniculum vulgare*) e sassafráz (*Ocotea pretiosa*).

Desenho 1: Estrutura química de alguns óleos essenciais.



Limoneno



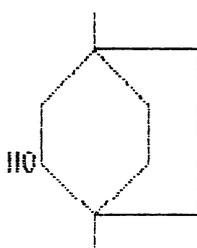
Geraniol



Pinena



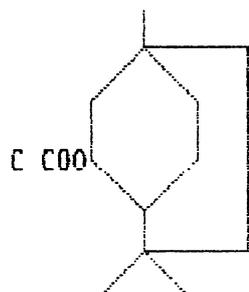
Linalol



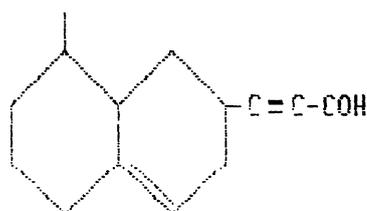
Borneol



Litronelol



Acetato de Borneol



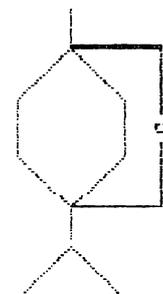
Santalol



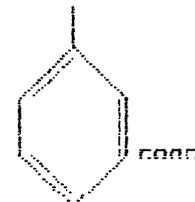
Anacardiol



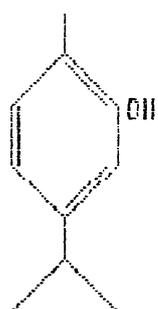
Mentol



Cineol



Salicicato de metila



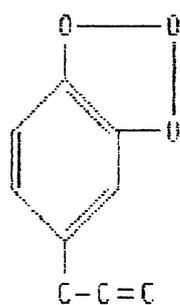
Carvacrol



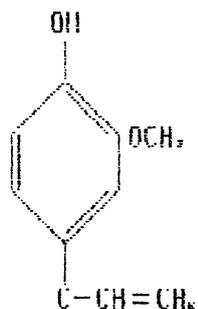
Limol



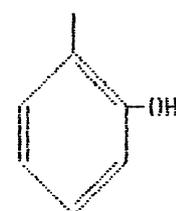
Vanilina



Safrol



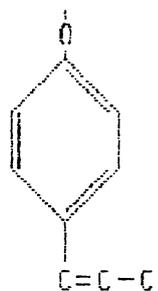
Eugenol



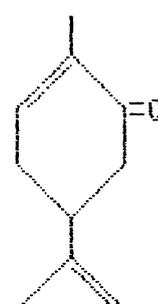
Benzaldeido



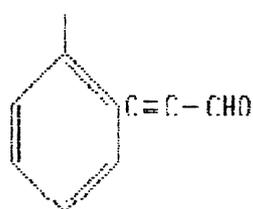
Citral



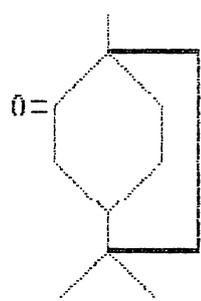
Anetol



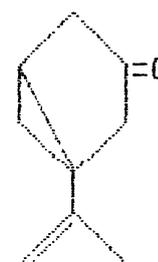
Carvona



Aldeida Cinamico



Canfora



Tujona

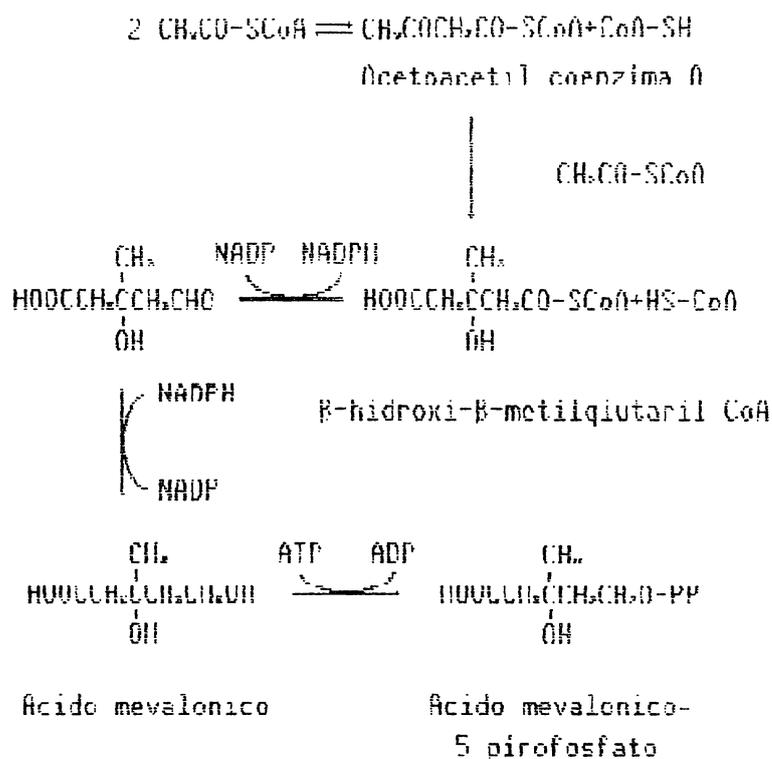
4.4. - BIOCÍNTÉSE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Basicamente, os óleos essenciais são formados por terpenos. Estes por sua vez são definidos como um produto natural cuja estrutura pode ser dividida em "unidades de isoprenos". (GUENTHER, 1948; HARBORNE, 1973; LOBO, 1976; GEISSMAN & CROUT, 1978; TYLER et alii, 1988)

Estas unidades originam-se do acetato, na via do ácido mevalônico e são unidades de 5 carbonos com 2 ligações duplas e 8 unidades de hidrogênio (C_5H_8).

Conforme o número de isoprenos, os terpenos podem ser nominados da seguinte maneira:

C_5H_8	hemiterpenos
$C_{10}H_{16}$	monoterpenos
$C_{15}H_{24}$	sesquiterpenos
$C_{20}H_{32}$	diterpenos
$C_{25}H_{40}$	sesterterpenos
$C_{30}H_{48}$	triterpenos
$(C_5H_8)_8$	tetraterpenos
$(C_5H_8)_n$	politerpenos

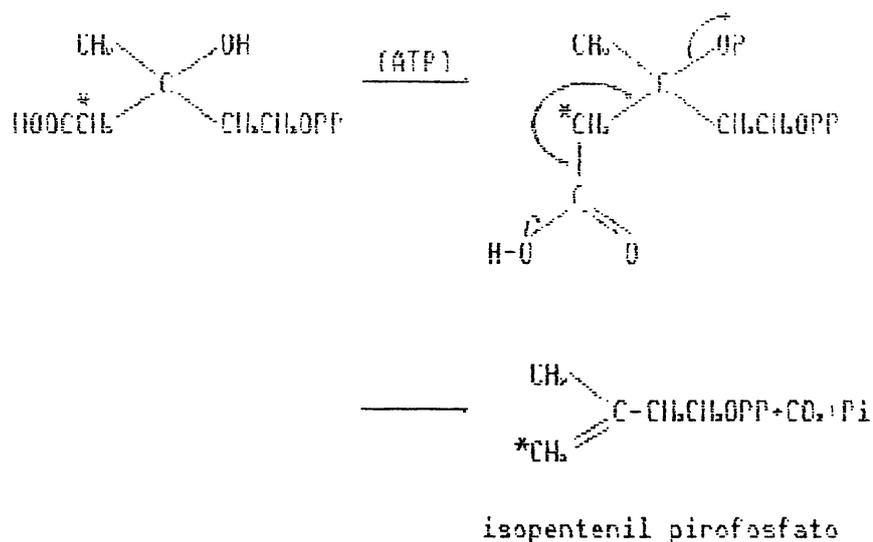


A condensação de 2 moléculas de acetil coenzima A, originando acetoacetil coenzima A é a primeira fase para a formação de derivados de acetatos.

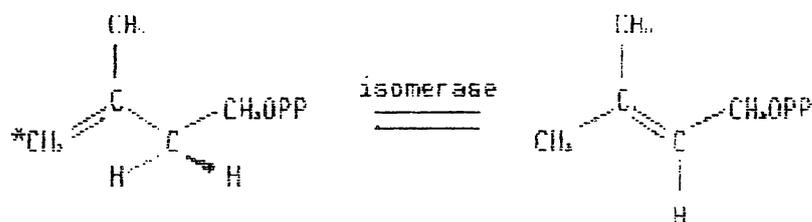
Adicionando-se mais uma molécula de acetil coenzima A, forma-se β-hidroxi-βmetil glutamil COA, que reduzido (+0) forma o ácido mevalênico 5-pirofosfato, que é o precursor imediato dos isoprenos.

Nesse momento, ocorrem duas reações simultâneas para a formação do isopentil pirofosfato:

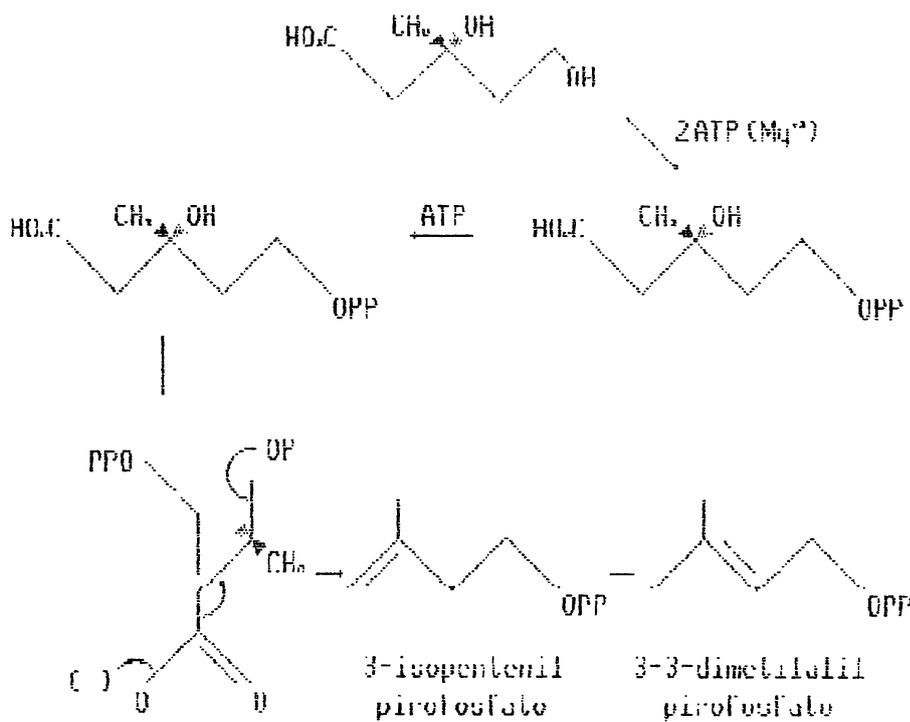
- a) descarboxilação;
- b) fosforilação da hidroxila.



O isopentenil pirofosfato formado é a unidade bioquímica do isopreno. Sua participação na biossíntese depende de uma enzima catalizadora, isomerase, que faz um equilíbrio de compostos entre o isopentenil e dimetil alil.

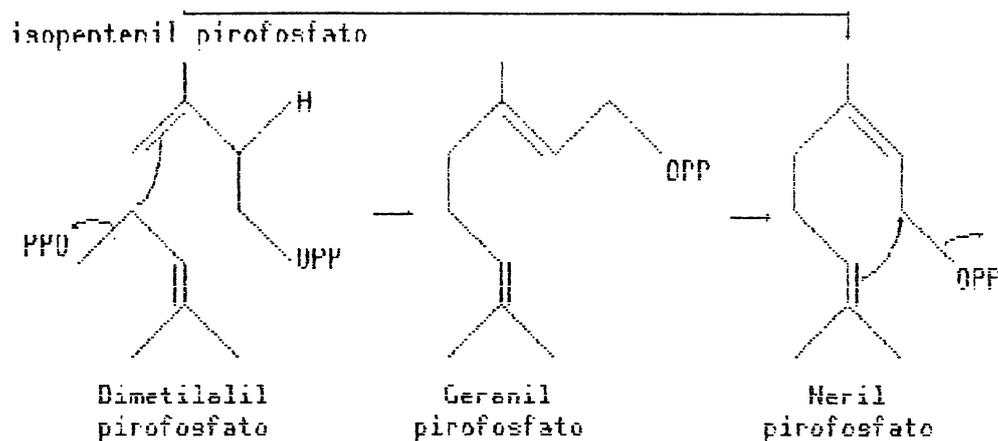


Da mesma forma, LOBO (1976), afirma que o ácido mevalênico, uma vez formado, é a seguir transformado em duas unidades C-5 que, em conjunto, são os precursores diretos de todos os terpenóides.



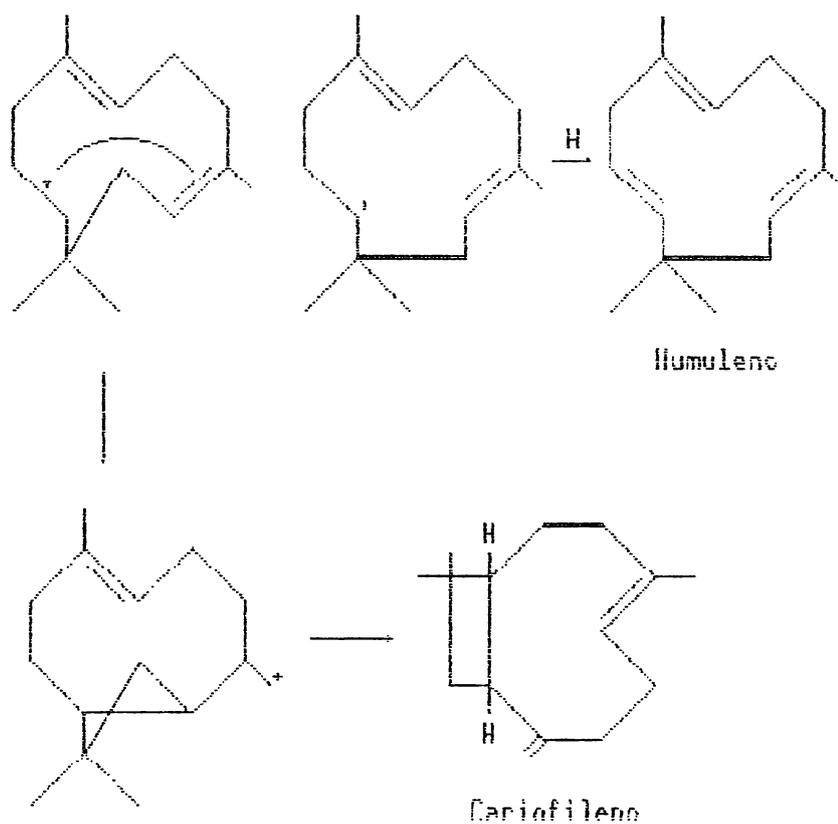
Segundo TYLER et alii (1988), a partir de isopentenil e dimetilalil pirofosfato, uma molécula de cada, em processo de condensação, é formado o geraniil pirofosfato, que supõe-se ser o precursor direto de monoterpenos acíclicos. Contudo, é preciso que ele seja isomerizado para neril pirofosfato, antes de se formar monoterpenos cíclicos, pois o isômero trans não tem a correta estereo química para ciclização.

Outra possibilidade é a formação de neril pirofosfato de isopentenil e dimetilalil, independentemente da formação do geraniil pirofosfato, segundo os mesmos autores:

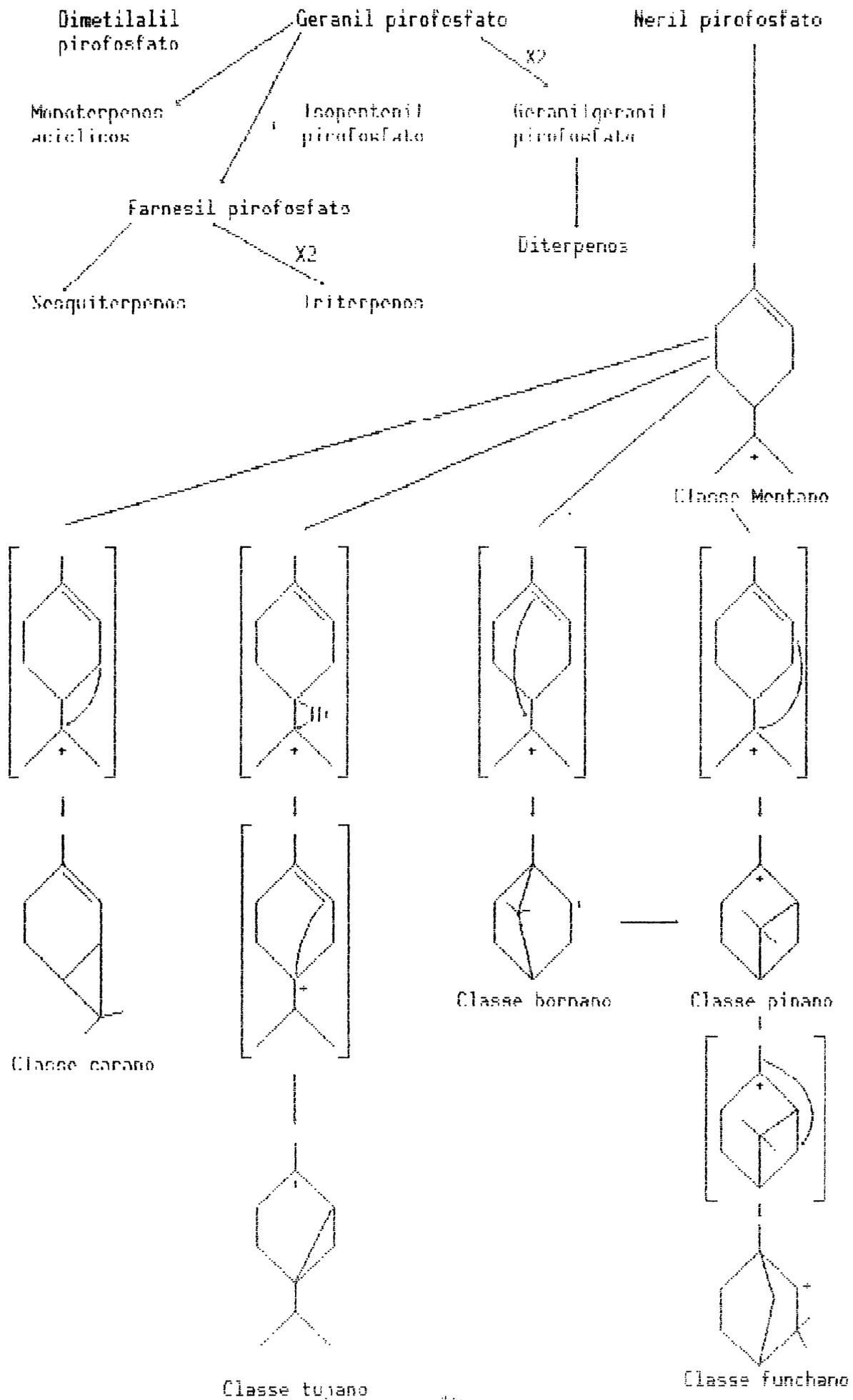


GEISSMANN & CROUT (1978), afirmaram que a partir do geranyl pirofosfato são obtidos os monoterpenos acíclicos. Os monoterpenos também podem vir do neril pirofosfato, porém, são cíclicos, iniciando-se pela classe do mentanos (ou limonenos), que por reações obtêm-se outras classes de monoterpenos cíclicos como os carenos, tujonas, borneno, pineno e fencheno.

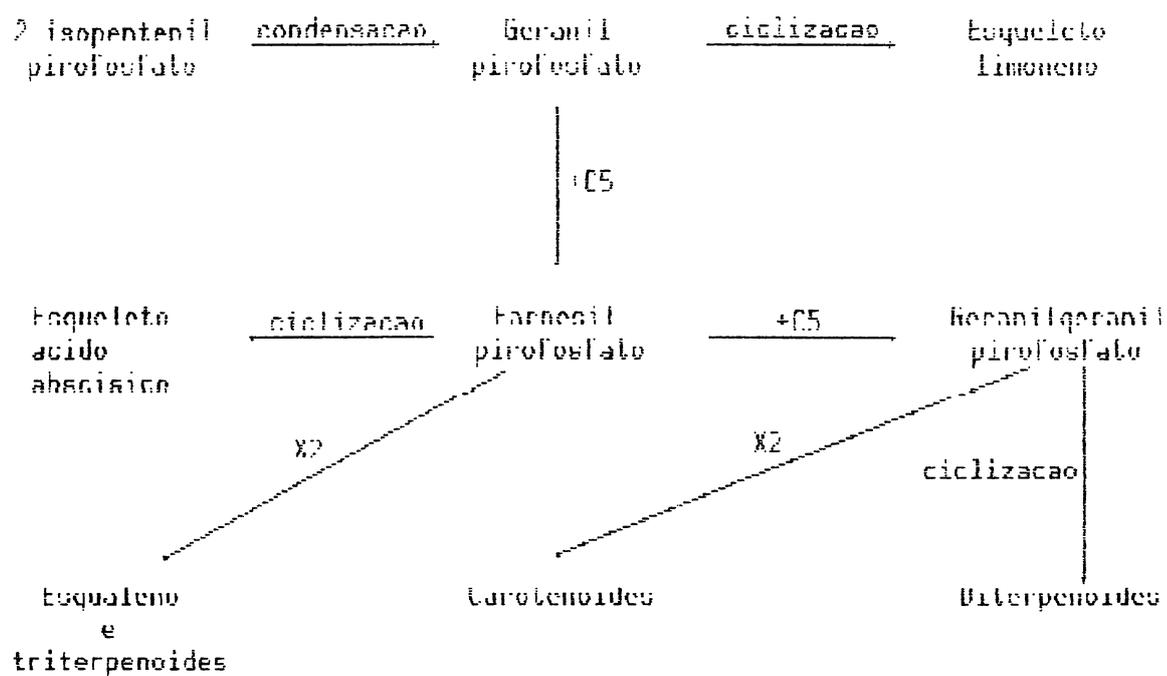
Por sua vez, os sesquiterpenos cíclicos são oriundos do farnesil pirofosfato que se ciclisa, podendo dar origem, através de deprotonação, ao humuleno e ao cariofileno.



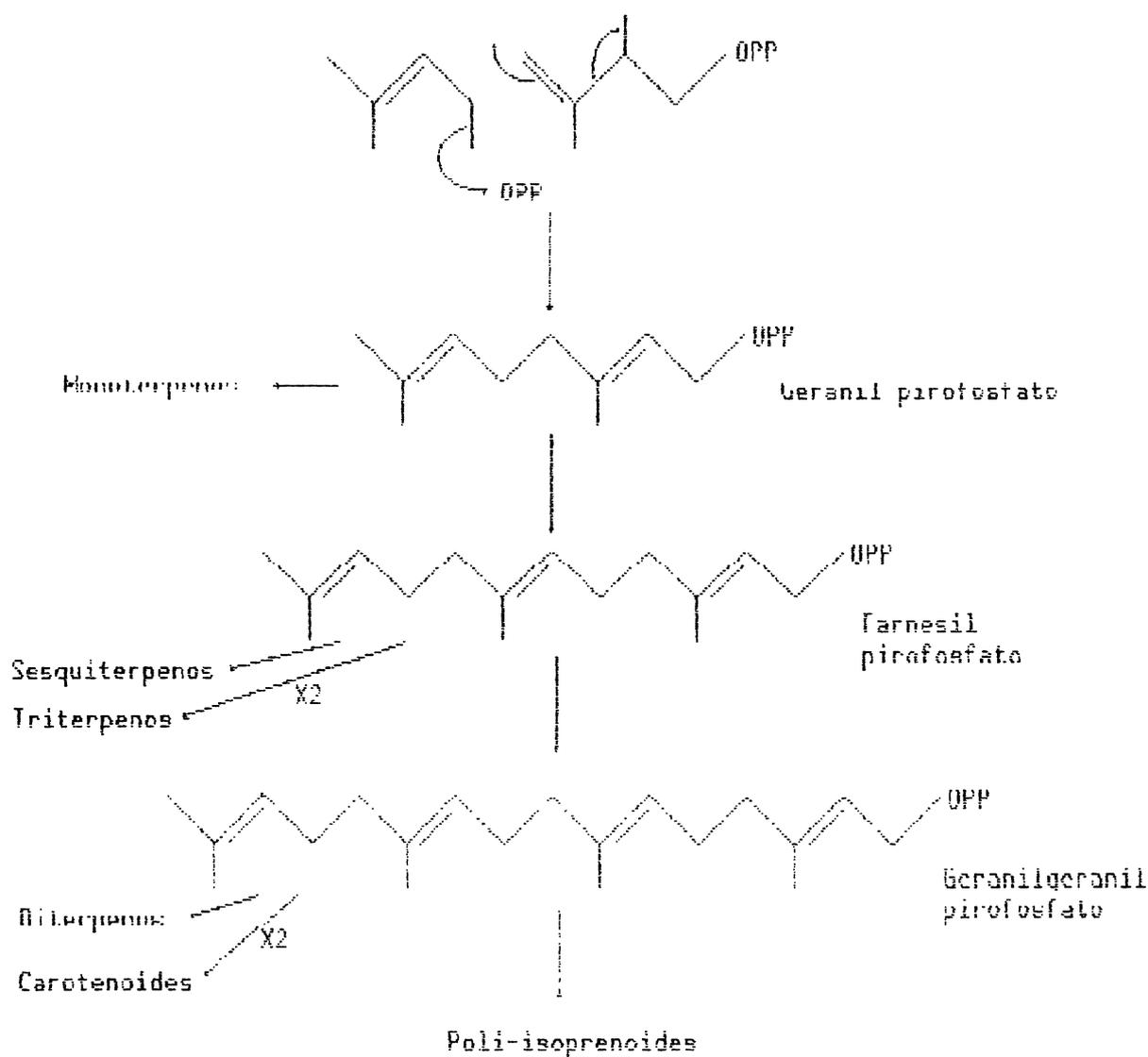
TYLER et alii (1988), confirmaram origem biossintéticas semelhantes. Do geranyl pirofosfato derivam diretamente os monoterpenos acíclicos e são precursores do farnesil pirofosfato (que originam os sesquiterpenos e triterpenos) e do geranyl geranyl pirofosfato (que originam os diterpenos). É partir do nerilpirofosfato é formado a classe dos mentanos (cíclicos), que dá origem às classes dos carenos, tujonas, bornenos, pinenos e fenchenos.



HARBORNE (1973), já havia detectado a rota biossintética dos terpenóides nas plantas, cuja base foi confirmada pelos autores posteriores.



LORO (1976), propôs um esquema geral de formação dos diversos tipos de terpenos, mostrado da seguinte forma, a partir de isopentenil pirofosfato e dimetil alil pirofosfato.



4.5. - ÓLEOS ESSENCIAIS EM VERBENACEAE

Segundo CRAVEIRO et alii (1981), a família compreende 100 gêneros distribuídos nas regiões tropical e subtropical de todo o mundo e alguns são odoríferos. Citam os gêneros mais encontrados no nordeste, com *Lantana*, *Lippia* e *Vitex*.

Na região Sul, além dos gêneros já citados, encontramos outros com óleos essenciais, como *Verbena*, *Stachytarpheta* e *Aloysia*.

A composição química dos óleos essenciais da família é bastante variada. Em *Lantana camara*, CRAVEIRO et alii (1981), encontraram como componentes principais, o β -cariofileno, o α -elemeno e α -cubebeno, além de β -pineno e car-3-eno.

Segundo FREISE (1934), uma espécie de *Verbena*, afim à espécie *V. officinalis*, contém em suas folhas pequena quantidade de um óleo essencial, que faz lembrar o cheiro de óleo de cipreste.

LOPES et alii (1975), em estudo feito com óleo essencial de *Lantana camara*, da região de Araraquara SP, obtiveram óleo essencial com as seguintes características: rendimento: 0,238%; densidade: 0,9104; solubilidade: 2 vol. (etanol 95%); índice de refração: 1,4970 e com a seguinte composição química: cariofileno (1,23%), linalol (1,23%),

geraniol (1,14%), farnesol (9,69%) e cedreno (6,07%). Os autores mostraram ainda que a composição do óleo essencial dessa planta obtida em países diferentes variava.

Mesmo havendo esses exemplos de Verbenaceas com óleo essencial, CRONQUIST (1981), considerava essa família com poucos representantes com óleos essenciais.

4.6. - ÓLEOS ESSENCIAIS NO GÊNERO LIPPIA

CRAVEIRO et alii (1981), citaram diversas espécies de *Lippia* com óleos essenciais. O alecrim de vaqueiro, *L. alnifolia*, apresentou óleo essencial com as seguintes características físico-químicas:

rendimento: 0,13%

peso específico a 25°C: 0,9140

índice de refração a 25°C: 1,500

rotação ótica a 25°C: (-) 5°28'12"

constituíntes químicos (CGL/EM): canfeno, mirceno, p-cimeno, r-terpineno, cânfora, O-metil-timol, timol, E-cariofileno, α-humuleno e r-elemeno, sendo os sublinhados, os que apresentaram maiores concentrações.

O alecrim, *L. aristata*, apresentou as seguintes características:

rendimento: 0,3%

peso específico a 25°C: 0,8905

índice de refração a 25°C: 1,5932

rotação ótica a 25°C: não determinado

constituíntes químicos (CGL/EM): α -pineno, sabineno, limoneno, car-3-eno, linalol, cariofileno, humuleno, γ -cadineno e γ -elemeno.

O alecrim pimenta, *L. siddoides*, apresentou as seguintes características:

rendimento: 2,1%

peso específico a 25°C: 0,9356

índice de refração a 25°C: 1,5044

rotação ótica a 25°C: não determinado

constituíntes químicos (CGL/EM): α -tugeno, mirceno, β -cimeno, γ -terpineno, timol, carvacrol, cariofiteno.

O alecrim do serrote, *L. grata*, apresentou as seguintes características:

rendimento: 4%

peso específico a 25°C: 0,9327

índice de refração a 25°C: 1,5125

rotação ótica a 25°C: (+) 2°02'05"

constituíntes químicos (CGL/EM): α -tujeno, α -pineno, mirceno, p-cimeno, terpineno, metil-timol, timol, carvacrol, acetil-timol, acetil-carvacrol, α -copaeno, cariofileno e alo-aromadendreno.

O alecrim de cheiro-miúdo, *L. thymoides*, apresentou as seguintes características:

rendimento: 2,35%

peso específico a 25°C: 0,9044

índice de refração a 25°C: 1,4975

rotação ótica a 25°C: (-) 1°59'24"

constituíntes químicos (CGL/EM): O-metil-timol, β -cariofileno, α -humuleno, γ -cadineno, γ -eleneno e γ -mururoleno.

CASADORO & RASCIO (1982), citaram a ocorrência de glândulas secretoras na epiderme da folha de *L. triphylla*, sem contudo, indicar a composição do óleo essencial produzido.

COMPADRE et alii (1986), citaram a presença de 14 constituintes no óleo essencial de *L. dulcis*, principalmente mono e sesquiterpenos, e deram destaque à cânfora, que constituiu 53% do óleo obtido.

VIANA et alii (1981), citaram a presença como constituintes principais, o timol e o carvacrol no óleo essencial de *L. grata*.

COMPADRE et alii (1987), citaram a presença de p-cimeno, 1-8-cineol, timol e carvacrol no óleo essencial de *L. growedens*.

NIEDLEN & DALDRUP (1979), citaram como constituinte principal do óleo essencial de *L. americana*, o cadin-4-en-1-ol.

BRIESKORN & POLHLMANN (1976), citaram a presença dos isômeros catalponol e tectoldimetil eter nas raízes de *L. origanoides* H.B.K. Para a mesma espécie, DE MORAIS et alii (1971), já haviam citado a presença de timol como seu principal componente.

COMPADRE et alii (1987), citaram a presença do sesquiterpeno hermandulcina nas folhas de *L. dulcis* Trev.

CHOGO & CRANK (1982), citaram a presença de cânfora (36,5%) e 4-thujanol (18,5%) como constituintes principais de

folhas de *L. ukambensis* Vatke, além de sete outros terpenóides.

ELAKOVICH & OGUNTINEIN (1987), em experimento de extração de óleo essencial de folhas e flores de *L. adoensis*, obtiveram 0,83% de rendimento nas folhas e 0,60% nas flores, com os seguintes compostos mais importantes no óleo essencial: α -pineno, β -pineno, 1,8-cineol, γ -terpineol, linalol, α -terpineol, timol, carvacrol, copaeno, cadineno, nerolidol, sendo que o linalol foi o constituinte mais concentrado, com 81,30% e 94,56% da composição do óleo de folhas e flores respectivamente.

BEZERRA et alii (1981), realizaram uma série de testes para identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de algumas espécies de *Lippia*, tendo chegado aos seguintes resultados:

L. alniifolia: canfeno, cimeno, γ -terpineno, carvacrol, O-metil-timol, timol aloaromadendreno, β -cariofileno e humuleno, sendo os componentes sublinhados os que apresentaram maiores concentrações.

L. aristata: car-3-eno, limoneno, α -pineno, sabineno, α -tujeno, linalol, γ -cadineno, β -cariofileno, γ -elemeno, β -elemeno e α -humuleno.

L. grata: car-3-eno, mirreno, α -pineno, γ -terpineno,

α -tujeno, p-cimeno, terpineol, carvacrol, O-metil timol, timol, acetato de timol, alcaromadendreno, β -cariofileno, α -copaeno e α -muuroleno.

CRAVEIRO (1987), apresentou um quadro com diversas espécies de *Lippia* com os respectivos constituintes químicos de seus óleos essenciais. Para as espécies cujos constituintes encontrados foram maiores que 10%, os resultados apresentados foram:

L. alnifolia: β -cariofileno, carvacrol e p-cimeno.

L. gracilis: carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno e timol.

L. sidoides: β -cariofileno, carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno e timol.

L. microphylla: β -cariofileno, α -terpineol e timol.

L. geminata: geranial, limoneno, neral e γ -terpineno.

DÁ SILVA et alii (1973), apresentaram resultados físico-químicos do óleo de folhas de *L. grandis* Schau, coletado no Amazonas, com rendimento de 2,2%, índice de refração a 20°C de 1,5087 e constituído de p-cimeno (19,6%) linalol (3,5%) e carvacrol (59,5%).

NEIDLEIN & STAHL (1974), em testes com folhas de *L. javanica* Spreng, encontraram os seguintes constituintes em seu

óleo essencial: ocimeno (0,3%), p-cimol (11,7%), linalol (21,0%) e cariofileno (27,0%).

GUENTHER (1972), apresentou algumas características físico-químicas do óleo de *L. citriodora*. O rendimento em folhas frescas variou de 0,072 a 0,195%. O peso específico a 15°C variou de 0,890 a 0,912%. O índice de refração a 20°C variou de 1,482 a 1,488. O poder rotatório de (-) 10°0' a (-) 18°0'. A solubilidade foi de 1 para 6 volumes de álcool 80% e 1 para 2 volumes de álcool 90%. Os principais componentes foram carvona, citral, limoneno, β-cariofileno, borneol, linalol, terpineol, nerol, geraniol, nerolidol e cedrol. O índice de citral variou de 26 a 39%.

4.7. - ÓLEOS ESSENCIAIS EM *Lippia alba*

Diversos estudos visando determinar os principais constituintes do óleo essencial de *L. alba* foram realizados. A influência de fatores ambientais e técnicos fez com que os resultados obtidos por diversos autores não fossem iguais.

FESTER et alii (1958), em ensaios realizados na Argentina, obtiveram óleos essenciais de características físico-químicas diferentes, em virtude de se ter utilizado materiais de diferentes lugares e destilados após diferentes dias da data da coleta. Os rendimentos obtidos das plantas de

Entre-Rios variaram de 05, a 1,4%. Não foi mencionado se o peso foi seco ou não. A cor do óleo variou de amarelento até pardo e incolor. A densidade relativa variou de 0,9196 a 1,0393, conforme a temperatura, o índice de refração variou de 1,4796 a 1,5043 e o poder rotatório, de (+) 3,5° a (+) 100,1°. Os constituintes observados foram o limoneno, lippiona e piperitona.

Nas plantas obtidas de Santa Fé, também os resultados foram diferentes, por motivos semelhantes aos das plantas de Entre-Rios. O rendimento variou de 0,93 a 1,90%. A densidade relativa variou de 0,8430 a 0,9035. O índice de refração variou de 1,4725 a 1,4905. O poder rotatório variou de (-) 6,8° a (-) 14,22°. Os constituintes principais obtidos foram o α -pineno, cânfora e citral.

CRAVEIRO et alii (1981), obtiveram para a *L. alba*, coletada em outubro no Maranhão, os seguintes resultados: rendimento de 0,1%; peso específico a 25°C de 0,8897; índice de refração a 25°C não foi determinado e os constituintes principais de seu óleo essencial (CGL/EM) foram o neral, geranial, α -cubebeno, β -cariofileno e outros não identificados.

ANDRADE (S/D), aponta a presença de limoneno (10-18%), cineol, citronelal e geranial no óleo essencial.

CRAVEIRO et alii (1981), em plantas coletadas no Maranhão em outubro, obtiveram rendimento de 0,1% do óleo essencial, obtido das folhas, com a observação dos seguintes componentes: car-3-eno (0,8%), mirceno (2,5%), γ -terpineno (1,2%), p-cimeno (0,8%), geranial (12,9%), neral (9,6%), γ -cadineno (0,7%), δ -cadineno (2,4%), β -cariofileno (24,3%), α -copaeno (1,8%), β -elemeno (1,5%), γ -muuroleno (0,4%), α -humuleno (2,2%) e 2-undecanona (9,0%), além de outro não identificados.

BEZERRA et alii (1981), em ensaios com diversas espécies de *Lippia*, obtiveram em *L. alba*, coletada no Maranhão, no mês de outubro, rendimento de 1,0% de óleo essencial com a presença dos seguintes componentes: δ -cadineno, γ -cadineno, car-3-eno, cis-cariofileno, β -cariofileno, p-cimeno, α -copaeno, β -elemeno, geranial, humuleno, mirceno, neral, γ -terpineno e undecanona.

CRAVEIRO et alii (1981/82), em ensaios com plantas do Nordeste, obtiveram para folhas de *L. alba*, os seguintes resultados: rendimento de 1,0%; peso específico de 0,889; índice de refração de 1,484 e constituintes químicos principais: mirceno (4,0%), p-cimeno (9,0%), car-3-eno (2,0%), γ -terpineno (7,5%), neral (6,0%), geranial (4,0%), α -copaeno (5,0%), β -elemeno (2,5%), β -cariofileno (27,5%), α -humuleno (2,5%), γ -muuroleno (1,5%), γ -cadineno (2,5%) e δ -cadineno

(5,5%).

CRAVEIRO (1987), em ensaios realizados com folhas de *L. alba*, coletadas no Maranhão em outubro de 1987 e de Fortaleza CE em junho de 1985, obtiveram os seguintes resultados: constituintes químicos da primeira amostra: delta-cadineno (1,7%), τ -cadineno (2,5%), β -cariofileno (1,2%), p-cimeno (8,8%), α -copaeno (5,2%), τ -elemeno (2,5%), geranial (4,1%), α -humuleno (2,7%), mirceno (3,6%), τ -muuroleno (1,6%), neral (6,1%), trans-ocimeno (2,0%), τ -terpineno (7,7%). Para a segunda amostra, os resultados foram os seguintes: delta-cadineno (1,4%), β -cariofileno (8,9%), p-cimeno (4,4%), α -copaeno (7,2%), β -elemeno (4,6%), elemol (6,4%), geranial (13,6%), germacrenol (5,8%), α -humuleno (1,1%), linalol (0,8%), mirceno (24,5%), neral (11,3%), trans-ocimeno (1,7%), sabineno (0,8%), τ -terpineno (7,3%).

CRAVEIRO et alii (1981), MATOS et alii (1986) e CRAVEIRO et alii (1987), in DI STASI (1989), observaram a presença de neral, geranial, α -cubeneno, β -cariofileno, limoneno, citral e carvona como os principais constituintes do óleo essencial de *L. alba*.

GOMES et alii (1990), em investigação fitoquímica das folhas frescas de *L. alba* colhidas em Curitiba - PR, obtiveram os seguintes resultados: rendimento de óleo de 0,24%; índice de refração de 1,4889; densidade relativa de 0,9146 e

principais compostos: β -cariofileno (29,92%) e geranial (26,62%).

DELLA CASSA et alii (1990), encontraram como constituintes principais do óleo de *L. alba*, a cânfora, 1,8-cineol e β -cubeneno.

4.8. - CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS ÓLEOS ESSENCIAIS EM *Lippia alba*

γ -terpineno: $C_{10}H_{16}$ (p-Mentadieno-1,3), peso molecular 136,23, C 88,16% e H 11,84%. Mistura de 3 isômeros: α -terpineno e γ -terpineno, que ocorrem naturalmente e β -terpineno que tem sido preparado sinteticamente. Isolamento de α -terpineno de óleo de cardamomo, óleo de manjerona, óleo de *Mosla japonica* e *Cupressus macrocarpa*. Preparação de β -terpineno a partir do sabineno.

α -terpineno, agradável odor de limão, ponto de ebulição 173,5-174,8°C; densidade relativa (19,6°C) 0,8375; índice de refração (20°C) 1,4784; praticamente insolúvel em água, miscível em álcool e éter.

β -terpineno, ponto de ebulição = 173-174°C, densidade (22°C) = 0,838, índice de refração (22°C) 1,4754.

γ -terpineno, ponto de ebulição 163°C, densidade

(15°C) 0,853 e índice de refração (15,6°C) 1,4754 (INDEX MERCK, 1988).

Citral: composto por 2 isômeros, o geranial (2-trans-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-al) e o neral (2-cis-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-al), de fórmula $C_{10}H_{16}O$, de aparência líquida oleosa amarelada, peso molecular 152,23; ponto de ebulição 103-104°C a 12 mm de Hg, peso específico 0,885-0,891 a 25°C; índice de refração (20°C) 1,4860-1,4900; solúvel em álcool 60 (1:7), praticamente insolúvel em água, solúvel na maior parte dos solventes orgânicos, odor de limão, sintetizado a partir do β -pineno ou isopreno e não possui poder rotatório.

Comercialmente, é mistura dos dois isômeros e é encontrado em óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*). Também é encontrado em outras espécies (*Calyptranthes paniculata*, *Ocimum gratissimum*, *Citrus aurantifolia*) (BEDONKIAN, 1986 e FENAROLIS HANDBOOK OF FLAVOR INGREDIENTS, 1971).

β -cariofileno: $C_{15}H_{24}$, (4,11,11-trimetil-8-metilenebicyclo [7,2,0] undec-4-eno), peso molecular 204,36, C = 88,16%, H 11,84%, ponto de ebulição 254-257°C, densidade específica = 0,909-0,910 a 16°C, índice de refração 1,5004-1,5027, poder rotatório (-)22', solúvel em álcool e insolúvel em água.

Odor de terpeno, entre cravo e terebentina. É isolado do cravo da índia e separado do eugenol tratando o óleo com 7% de solução de carbonato de sódio e extraído com éter.

Três isômeros são encontrados na natureza (α , β e γ). O isômero β é o mais frequente e o mais abundante. Este sesquiterpeno é encontrado naturalmente em cerca de 60 óleos essenciais, principalmente do cravo da índia, da qual foi originariamente isolado (FENAROLIS HANDBOOK OF FLAVOR INGREDIENTS, 1971 e INDEX MERCK, 1988).

β -mirreno: $C_{10}H_{16}$ (7-metil-3-metileno-1,6-octadieno), peso molecular 136,23, C = 88,16%, H 11,84%, ponto de ebulição 65-66°C (a 20 mm de Hg), densidade 0,8013 15°C, índice de refração 1,4650 20°C, praticamente insolúvel em água, solúvel em álcool, clorofórmio e éter e ácido acético glacial de odor agradável.

Sintetizado do linalol. Encontrado naturalmente em *Myrcia acris*, *Cymbopogon sp*, *Citrus sp* e *Abies balsamea*. O α -mirreno é um isômero sintetizado não encontrado na natureza (FENAROLIS HANDBOOK OF FLAVOR INGREDIENTS, 1971 e INDEX MERCK, 1988).

β -cimeno: $C_{10}H_{14}$ (p-isopropiltolueno ou metilisopropilbenzeno), peso molecular 134,21, ponto de ebulição 175-176°C, densidade = 0,857 a 20°C, índice de refração

1,4917 a 20°C.

Solúvel em álcool e eter, insolúvel em água, aparência líquida incolor, tendendo a escurecer com o tempo. Odor forte, com reminiscência do cheiro de cenoura. Obtido sinteticamente da água de lavagem do papel sulfite. Ocorre naturalmente em um grande número de espécies, como *Cupressus sp.*, *Artemisia cina*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cuminum cyminum*, *Coriandrum sativum*, *Cicuta virosa*. Pode também ser produzido pela conversão de terpenos cíclicos. Sua presença em óleo essencial de limão é indicativo de sua idade.

Undecanona: $C_{11}H_{22}O$ (metilnonilcetona), peso molecular 170,30, ponto de ebulição = 105-107°C a 10 mm de Hg, densidade 0,8262 a 20°C, índice de refração 1,4175 a 22°C.

De aparência incolor a amarelo claro, insolúvel em água, solúvel na maioria dos mais comuns solventes orgânicos, solubilidade em álcool 70% 1:3.

Odor de arruda, meio adocicado, com reminiscência de pêssego. Pode ser isolado de óleos naturais por destilação fracionada ou ainda por destilação seca com acetato de cálcio.

Encontrado originalmente em *Ruta graveolens*, depois foi identificado em óleos essenciais de *Citrus limetta*, *Fagara xanthoxiloides*. Também está presente em óleos essenciais de

Pilocarpus, *Cocos* e outras palmeiras. (FENAROLIS HANDBOOK OF FLAVOR INGREDIENTS, 1971 e INDEX MERCK, 1988)

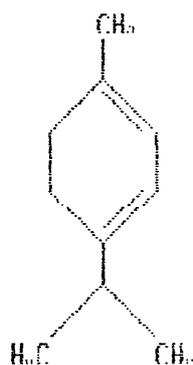
Cadineno: $C_{15}H_{24}$, peso molecular 204,34, ponto de ebulição 120-121°C (em 9 mm de Hg), densidade (a 20°C) 0,9239, índice de refração (a 20°C) 1,5059, poder rotatório (a 20°C) (-) 251°C. Odor levemente agradável. Possui 9 isômeros possíveis. (INDEX MERCK, 1988)

Copaeno: $C_{15}H_{24}$, peso molecular 204,34, ponto de ebulição = 246-250°C, índice de refração (a 20°C) 1,4894, sesquiterpeno tricíclico ocorrente em bálsamo de copaíba africana e *Sindora spua*, *Phyllocladus trichomanoides* e *Cyperus articulatus*. (INDEX MERCK, 1988)

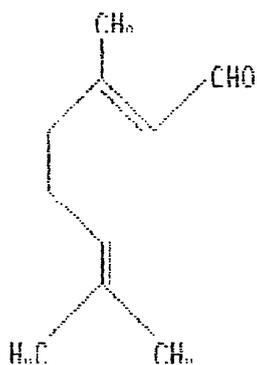
Careno: $C_{10}H_{16}$ (isodipreno), peso molecular 136,23, densidade 0,8668 (a 15°C), ponto de ebulição 168-169°C, índice de refração = 1,4680, poder rotatório (a 20°C) (+) 7,69°. Praticamente insolúvel em água, solúvel em solventes gordurosos e óleos. Líquido oleoso, doce e odor pungente, mais agradável que terebentina. Facilmente oxidado ao contato com o ar. (INDEX MERCK, 1988)

α -humuleno: $C_{15}H_{24}$ (tetrametilcicoundecatrieno, α -ca-riofileno), peso molecular 204,36, ponto de ebulição 106-107°C, índice de refração (a 30°C) 1,5004, densidade (a 25°C) 0,8865. Sesquiterpenóide isômero do cariofileno, ocorrente em muitos óleos essenciais, principalmente de *Humulus lupulus* e *Lindera strychnifolia*. Ocorre naturalmente como mistura com β -humuleno, conversão para β -humuleno por cromatografia em alumínio alcalino. (INDEX MERCK, 1988)

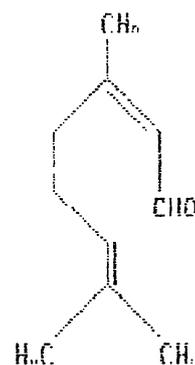
Desenho 2: Estruturas químicas do aroma de *Lippia alba* essenciais em *Lippia alba*.



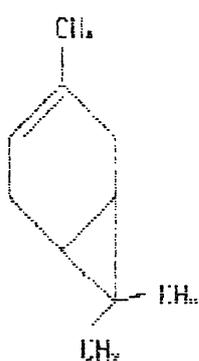
α -terpineno
(mono)



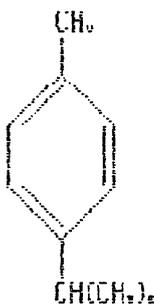
Geranial
(mono)



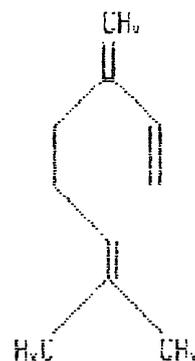
Neral
(mono)



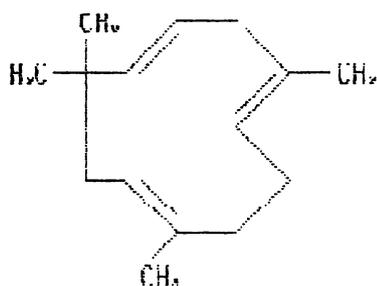
Carena
(mono)



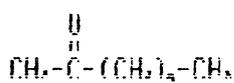
p-cimeno
(mono)



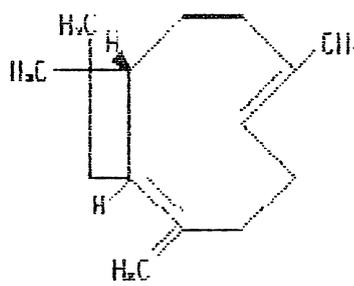
mirreno
(mono)



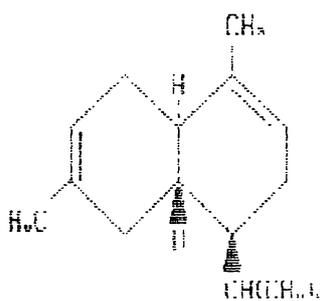
Humuleno
(sesqui)



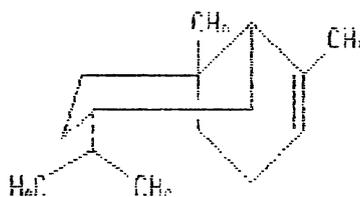
Undecanona
(mono)



β cariofileno
(sesqui)



Cadineno (sesqui)



Copreno (sesqui)

4.9. - ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS

Diversos estudos têm sido feitos para se avaliar o potencial farmacológico de preparados à base de *Lippia*.

Estudos realizados por NOAMESI (1977), indicaram uma diminuição da pressão arterial em três espécies de animais de laboratório quando extrato aquoso de *L. multiflora* foi injetado intravenosamente. NOAMESI et alii (1985), repetiram as experiências e demonstraram que a administração do extrato na concentração de 0,25 a 1,0 g/kg reduziu a atividade motora, com ação músculo relaxante. A concentração 0,5 a 1,0 mg/ml inibiu as contrações do diafragma isolado. O efeito relaxante do músculo foi considerado como a primeira responsável pelo efeito calmante.

Com a mesma espécie, CHANH et alii (1988), verificaram o mesmo efeito em ratos, quando administrado extrato metanólico, mostrando que esse efeito foi devido a compostos fenólicos, cujas estruturas ainda não foram determinadas.

ROUQUAYROL et alii (1980), em ensaios com óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. aristata* encontraram grande atividade molucicida (*Biomphalaria glabrata*), na fase larval, adulta e também em ovos, quando aplicados em baixa concentração (1:100). BEZERRA et alii (1981), em ensaios com diversas espécies do gênero *Lippia*, encontraram grande

atividade molucicida em *L. alnifolia*, *L. sidooides*, *L. aristata*, *L. grata* e *L. thymoides*.

O mesmo efeito molucicida foi encontrado em ensaios conduzidos por ALMEIDA et alii (1985), para *Biomphalaria glabrata*, porém sua ação não foi das maiores quando aplicados extratos aquosos e alcóolicos daquelas mesmas espécies.

Em estudos realizados com extratos de folhas de *L. grata*, VIANA et alii (1981), verificaram ataxia, diminuição do ritmo de atividade motora espontânea e sonolência em ratos, além de contração dos músculos retal e abdominal e aumento da amplitude de contração e descontração do músculo gastronemio-ciático. Além disso, produziram efeito espasmolítico em duodeno de coelhos.

CHOGO & CRANK (1982), em ensaios com extrato etanólico e óleo essencial de *L. ukambensis*, não verificaram atividades inseticida, repelente ou propriedades antimicrobianas significativas.

Segundo GADELHA et alii (1986), in DI STASI et alii (1989), em *L. gracilis* foram observados aumento inotrópico, relaxamento do duodeno e contração do reto abdominal.

Em estudos com óleo essencial de *L. sidooides*, para se avaliar sua toxicidade e alergenicidade, para utilização como

cosméticos, MENDONÇA et alii (1990), observaram que em testes oftálmicos e cutâneos em coelhos, que na concentração 1%, não houve reação positiva, o mesmo ocorrendo em ensaios com seres humanos. Quanto à toxicidade foi demonstrada atividade antimicrobiana significativa, pela ação do timol, principal constituinte de seu óleo essencial.

GRUNDY & STILL (1985), verificaram que a pulegona, isolada de *L. staechadifolia* é neurotóxica em insetos, pela inibição da ação da acetil colenesterase.

Com relação às atividades farmacológicas de *L. alba*, LOPEZ ABRAHAM et alii (1977), verificaram atividade citostática de extratos aquoso, alcóolico e cetônico dessa espécie em ensaios biológicos com *Neurospora crassa*.

BEZERRA et alii (1981), em ensaios sobre atividade molucicida de diversas espécies do gênero *Lippia*, verificaram que *L. alba* não apresentava essa atividade, pela não presença de timol em seu óleo essencial.

VIANA et alii (1980), in CRAVEIRO et alii (1981/82), verificaram ação anti espasmódica na espécie, pela ação do citral.

Em testes realizados com os métodos de contrações abdominais e de imersão de cauda em camundongos fêmeas, DI STASI et alii (1986), verificaram efeito analgésico significativo com sólidos de extratos hidro etanólico (50%) quando administrados via oral (1g/kg).

Estudos farmacológicos realizados por VIANA et alii (1980), in DI STASI (1989), verificaram que a espécie possui pequeno efeito na diminuição do tônus intestinal.

ANGELUCCI et alii (1990), em ensaios com extrato aquoso de folhas secas de *L. alba*, verificaram ação antiespasmódica, quando realizados com duodeno de rato, íleo terminal de cobaia e contração intensa do útero de ratas virgens tratadas com estrogênio. Verificaram também que havia interferência na redução do tempo de indução do sono em 49,3% e no aumento da duração do sono em 70,19%.

5. - ASPECTOS BOTÂNICOS

5.1. - POSIÇÃO SISTEMÁTICA DA FAMÍLIA VERBENACEAE

Com relação a esse tópico, optou-se por abordar apenas os sistemas de ENGLER, (1964), e CRONQUIST, (1988), o primeiro por ser o mais utilizado na maioria dos cursos de Botânica de todo o país e o segundo por ser o sistema que atualmente encontra grande número de adeptos, por ser mais atual.

Segundo ENGLER (1964), in SCHULTZ (1984), a família *Verbenaceae* encontra-se dentro da ordem *Tubiflorae*, que contém

6 subordens e 26 famílias.

A subordem *Verbenineae* contém as famílias *Verbenaceae*, *Callitrichaceae* e *Labiatae* e as características dessa subordem são: flores geralmente actnomorfas; estames 5-2 ou 1; carpelos tipicamente 2, raramente 5-4, concrecidos, com 2 ou às vezes baixo; fruto drupa ou frequentemente formação de clausos.

Pode-se estabelecer a seguinte chave artificial para identificação das famílias dentro da subordem:

- 1 Flores sem perianto, unissexuadas.....*Callitrichaceae*
- 1' Flores com perianto, andróginas.....2
 - Estilete ginobásico.....*Labiatae*
 - 2' Estilete terminal.....*Verbenaceae*

Segundo CRONQUIST (1988), a família *Verbenaceae*, está inserida na ordem *Lamiales*, que ainda inclui as famílias *Lamiaceae*, *Boraginaceae* e *Lennoaceae*.

Essa ordem apresenta as seguintes características: ovário súpero com 2(-4) carpelos biovulados, frutos normalmente com uma semente, em mericarpos.

A chave artificial para a identificação das famílias da ordem, segundo o autor é:

1 folhas normalmente alternas, geralmente inteiras; flores normalmente regulares, com tantos estames quanto os lobos da corola; caule não quadrangular, plantas não aromáticas e sem compostos iridóicos.

planta parasita, sem clorofila e folhas reduzidas.....*Lennoaceae*

2' planta autotrófica, com clorofila e folhas normais.....*Boraginaceae*

1' folhas normalmente opostas, inteiras, às vezes compostas; flores normalmente mais ou menos irregulares, com 2-4 estames; caules novos normalmente quadrangulares, comum presença de iridóides e compostos aromáticos.

3 estilete comumente ginobásico, planta normalmente aromática, fruto de (1-)4 mericarpos.....*Lamiaceae*

3' estilete terminal ou próximo disso; planta raramente aromática, fruto drupáceo ou capsular ou aquênio ou com mericarpos.....*Verbenaceae*

Segundo CRONQUIST (1988), a família *Callitrichaceae*, que está na mesma subordem em ENGLER, 1964, difere da ordem *Lamiales* por apresentar flores muito reduzidas e sem perianto, serem unissexuais e epigíneas, estame 1 ou raramente 2-3 e serem principalmente aquáticas.

Segundo o mesmo autor, a família *Verbenaceae* está subdividida em duas subfamílias: *Verbenoideae* e *Vitticoideae*, diferenciadas pelo tipo de inflorescências, racemosa e cimosa, respectivamente.

5.2. - CARACTERÍSTICA DA FAMÍLIA *Verbenaceae*

Segundo JOLY (1985), a família *Verbenaceae* st. Hill. compreende 100 gêneros distribuídos nas regiões tropicais e sub-tropicais de todo o mundo. São plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas pequenas, de folhas inteiras, de disposição alterna ou oposta (às vezes na mesma planta). Flores em geral pequenas, reunidas em densas inflorescências vistosas. As flores são pentâmeras, diclamídeas, em geral zigomorfas, andróginas. Androceu formado por 5 estames ou então 4, didínamos, sempre alternos com os lobos da corola. Ovário súpero bicarpelar, bilocular (às vezes falsamente tetralocular com estilete ginobásico); com 2 óvulos (ou 1 apenas) por loja. Fruto drupáceo ou seco ou esquizocarpo, ou ainda seco e alado pelo cálice.

Segundo BARROSO (1986), a família *Verbenaceae* contém cerca de 175 gêneros e 2.800 espécies difundidas nos trópicos e subtropicais, nas regiões temperadas do hemisfério sul e poucas nas regiões temperadas do hemisfério norte. São ervas

perenes, com ou sem xilopódio, subarbustos, arbustos, lianas ou árvores, com folhas opostas, verticiladas ou, raramente, alternas, sem estípulas, simples ou compostas de 3 a folíolos. Indumento de pelos simples, glandulíferos, malpigiáceos ou ramificados. Flores andróginas ou unissexuadas por aborto, dispostas em racemos, espigas, glomérulos, panículas, cimeiras simples, tirsos, pseudo-umbelas, às vezes reduzidas a uma única flor.

Brácteas curtas ou longas, foliáceas ou membranosas e coloridas, planas, côncavas, carenadas, ovais ou lanceoladas densamente imbricadas, ocultando as flores, ou laxamente dispostas.

Cálice curto ou longo, tubuloso, campanulado ou cilíndrico, com ou sem estrias, de bordo 5-denteado, com dentes iguais entre si, ou um deles mais curto que os demais, de bordo truncado, bilobado ou com quatro a cinco lobos mais ou menos profundos.

Corola infundibiliforme ou hipocrateriforme, com tubo reto ou curvo, cilíndrico ou mais ou menos dilatado na porção mediana ou alargado na fauce, com limbo dividido em quatro a cinco lobos mais ou menos iguais entre si, de ápice obtuso, arredondado ou emarginado, ou bilabiado, com lábio anterior trilobado e o posterior reduzido, de prefloração imbricada.

Androceu mais frequentemente formado de quatro estames didínamos e mais raramente de cinco ou quatro estames e um modificado em estaminódio, com anteras de lóculos paralelos ou divergentes, com ou sem apêndice do conectivo.

Gineceu constituído de dois carpelos, dos quais um pode ser abortado, mais raramente é formado de quatro carpelos. Na fase jovem, o ovário de todas as *Verbenaceae* tem placentas parietais, que se projetam para o centro, onde se unem completa ou incompletamente, formando-se neste caso, uma fenda mediana no pirênio da drupa. As placentas formam lobos voltados para a esquerda ou para a direita, cada um desses lobos placentários é uniovulado. O ovário tem a tendência de formar falsos septos, que se projetam centriptamente, do meio do carpelo, em direção às placentas, separando seu lobos. A formação de falsos lóculos começa no esboço floral ou mais tarde, podendo ser visível muito tarde ou só se manifestar no fruto.

Externamente, o ovário pode ter superfície lisa ou lobada, correspondendo o número de lobos aos lóculos. Os óvulos são anátropos e podem ter posição basal ou ascendente ou lateral pendente.

O estilete é terminal e pode ser bifido, com um ramo mais alto que o outro, e com as papilas estigmáticas aglomeradas sobre a ramificação mais alta ou se apresentar

profundamente partido em dois ramos subulados ou lobados. Em alguns gêneros, (*Lippia*) o aglomerado das papilas estigmáticas ficam em posição lateral, mais ou menos decorrente.

O fruto pode ser drupa ou um esquizocarpo com cálice persistente. A drupa apresenta exocarpo carnoso e o endocarpo de consistência óssea ou cartilaginosa. O endocarpo pode formar um pirênio (caroço) tetralocular ou bilocular, com ou sem fenda intermédia ou dois a quatro pirênios, uniloculares ou biloculares.

Em cada lóculo aloja-se sempre uma só semente. O fruto esquizocárpico é seco, separando-se em dois a quatro mericarpos monospermicos. Semente sem endosperma, com embrião reto, eixo radícula-hipocótilo cilíndrico e cotilédones mais ou menos carnosos ou crassos, lisos.

5.3. - RELAÇÃO FILOGENÉTICA DA FAMÍLIA *Verbenaceae*

Em que se pese sua importância entre os botânicos, o sistema de ENGLER não pode ser considerado um sistema baseado fundamentalmente na filogenia entre os diversos grupos (MARZUCA, 1985; CRONQUIST, 1988), por isso não foi avaliado neste trabalho.

O sistema de BESSEY, 1915, procurou representar

graficamente as ordens das plantas como uma "árvore genealógica", partindo das *Ranales*, considerada pelo autor, como as fanerógamas mais antigas. Considerando como valor evolutivo a posição das partes florais sobre o eixo floral (epigineas mais evoluído que hipogineas), a soldadura das peças florais (mais evoluídas as gamopétalas) e considerando as monocotiledôneas derivadas das dicotiledôneas, o autor colocou a ordem *Lamiales* como uma das mais evoluídas das dicotiledôneas em sua "árvore", derivada das *Potemoniales*.

TAKHTAJAN (1953), in MARZOCCA (1985), afirma que os vários sistemas propostos nas últimas décadas não representavam sequer uma aproximação progressiva à verdadeira correlação filogenética, pois não se levava em conta a idéia de descontinuidade da evolução, segundo ele, base de toda a filogenia.

O autor em sua genealogia geocronológica das plantas superiores representou as angiospermas derivadas das *Bennettiales*, no início do período cretáceo, da era Mesozóica.

HUTCHINSON (1928), propôs um ordenamento evolutivo que abandonou a divisão entre arqui e metaclamídeas por ser artificial e sugere uma redistribuição seguindo alguns princípios evolutivos, entre os quais se destacam:

hábito: (árvores e arbustos mais primitivos que

ervas).

plantas perenes são mais primitivas que plantas anuais.

plantas terrestres são mais primitivas que as aquáticas.

dicotiledôneas são mais primitivas que monocotiledôneas (ainda que nem todas as monocotiledôneas se originam diretamente daquelas).

filotaxia alterna é mais primitiva que oposta ou verticilada.

folhas simples são mais primitivas que folhas compostas.

flores andróginas são mais primitivas que flores unissexuais.

flores isoladas são mais primitivas que inflorescência.

flores periantadas são mais primitivas que flores nuas.

flores actinomorfas são mais primitivas que flores zigomorfas.

flores hipógineas são mais primitivas que flores

epigineas.

carpelos livres são mais primitivos que carpelos unidos.

flores pluriestaminadas são mais primitivas que flores oligoestaminadas.

estames livres são mais primitivos que estames conatos.

frutos compostos são mais primitivos que frutos simples.

cápsulas são mais primitivas que bagas ou drupas.

No esquema proposto pelo autor, a ordem *Verbenales*, seria originária das *Loganiales* sendo uma das mais evoluídas.

CRONQUIST (1981), propõe um novo sistema filogenético para ordenar as famílias e ordens de dicotiledôneas.

Nesse sistema, baseado em estudos de embriologia, anatomia, palinologia, e composição química dos vegetais, o autor colocou a família *Verbenaceae* na ordem *Lamiales*, que seria originária das *Polemoniales*.

5.4. - CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO

Segundo CABRERA & ZARDINI (1978), o gênero *Lippia* L. possuem cerca de 160 espécies das regiões tropicais e temperadas da América e África.

JÁ BURKART (1979), afirmou que o gênero possui mais de 200 espécies, de regiões tropicais e subtropicais da América com uns poucos representantes na África. Segundo FESTER et alii (1957), in BURKART (1979), existem numerosas espécies medicinais com abundantes óleos essenciais.

Num trabalho mais recente, JANSEN-JACOBS (1988), afirmou que o gênero possui cerca de 250 espécies na América tropical e subtropical, algumas espécies no Paleotrópico e tem como tipo, *L. americana* L., o mesmo citado por BURKART (1979).

O gênero foi descrito por BURKART (1979), como possuindo flores zigomorfas, hermafroditas ou por aborto funcionalmente dióicas, (neste caso dimorfas). Cálice curto, cilíndrico ou subcampanulado, às vezes comprimido, 2-4 denteado, fendido, bi-partido, ou 2-filo, reduzido nas flores masculinas a 2 escamas pequenas, membranáceas. Corola pequena, geralmente bi-labiada, de lábio abaxial 3-lobado, com o lóbulo médio maior e arredondado, lábio adaxial mais reduzido, tubo infundibiliforme. Estames 4, didínamos, insertos na metade superior do tubo corolário, inclusos ou superiores algo exsertos, tecas paralelas.

Ovário unicarpelar e 2-locular, um óvulo por lóculo,

óvulos anatrópicos fixos num ângulo interno da base do lóculo, estilete terminal curto, estigma oblíquo ou recurvo. Fruto esquisocárpico envolto pelo cálice geralmente acrescente, 2 mericarpos espontaneamente separáveis quando maduros ou subcoerentes, com pericarpo delgado e liso, de paredes coriáceas ou sub-coriáceas, sementes albulminadas.

Árbusto ou subarbusto, geralmente muito ramosos, ou ervas perenes, de ramos débeis, ascendentes, comum aromáticos com glândulas resinosas ponteadas nas folhas, brácteas e cálice. Folhas opostas ou ternadas, inteiras ou variadamente denteadas ou serradas, sésseis ou pecioladas.

Inflorescência em espigas contraídas, capituliformes, solitárias ou agregadas nas axilas das folhas ou terminais. Flores pequenas sésseis, bracteadas, brácteas geralmente imbricadas, às vezes conatas e seriadas, côncavas ou planas, mas raramente corolinas, petalóides.

5.5. - ESPÉCIES DE *Lippia* NO PARANÁ

Segundo ANGELY (1965), no Paraná existem 14 espécies e uma variedade de *Lippia*:

1. *L. alba* (Miller) N.E. Brown ex Britton et Wilson
2. *L. angustifolia* Chamisso

3. *L. arechavaletae* Moldenke
4. *L. asperrima* Chamisso
5. *L. asperrima* Chamisso var. *rotundata* Moldenke
6. *L. campestris* Moldenke
7. *L. hirta* Schauer
8. *L. intermedia* Chamisso
9. *L. lasiocalycina* Chamisso
10. *L. lupulina* Chamisso
11. *L. obscura* Briquet
12. *L. pendula* Rusby
13. *L. pumila* Chamisso
14. *L. trachyphylla* Briquet
15. *L. turnerifolia* Chamisso

Em levantamento feito no herbário do Departamento de Botânica da UFFR (UPCB), no herbário Per Karl Dusén de Curitiba (PKDC) e no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM), foram verificadas coletas das seguintes espécies no Paraná:

UPCB

1. *L. alba* (Mill.) N.E.Br.
2. *L. hirta* Cham.
3. *L. obscura* Briq.
4. *L. lupulina* Cham.
5. *L. sidoides* Cham.
6. *L. turnerifolia* Cham.

PKDC

1. *L. alba* (Mill.) N.E.Br.
2. *L. arechavaletae* Mold.
3. *L. asperrima* Cham.
4. *L. hirta* Cham.
5. *L. lupulina* Cham.
6. *L. obscura* Briq.
7. *L. pumila* Cham.
8. *L. sidoides* Cham.
9. *L. trachyphylla* Briq.

10. *L. tuberosa* Spreng.

11. *L. turnerifolia* Cham.

MBM

1. *L. alba* (Mill.) N.E.Br.

2. *L. angustifolia* Mold.

3. *L. arechavaletae* Mold.

4. *L. asperrima* Cham.

5. *L. balansae* Briq.

6. *L. herbacea* Mart.

7. *L. hermannioides* Cham.

8. *L. hirta* Cham.

9. *L. intermedia* Mold.

10. *L. lasiocalycina* Cham.

11. *L. lupulina* Cham.

12. *L. morongii* Kuntze.

13. *L. nana* Schau.

14. *L. obscura* Briq.

15. *L. pumila* Cham.

16. *L. sidoides* Cham.

17. *L. turnerifolia* Cham.

5.6. - DESCRIÇÃO BOTÂNICA DE *L. alba*

a) Descrição morfológica: (segundo BURKART, 1979)
arbusto aromático rizomatoso, de 1-1,50 m de altura, muito ramoso, de ramos delgados, flexíveis, eretos ou arqueados, às vezes decumbentes e arraizantes, de entrenós em geral largos.

Folhas opostas ou ternadas, ovadas ou ovado-oblongas, de 2-6(9)cm de comprimento por 1,2-4,5 cm de largura, cuneadas em pecíolo curto, conspícuas e regularmente serreadas, rugosas, subtriplinérvias, hirta-ásperas na face adaxial, velutino-tomentosas ou vilosas e resinosas-pontuadas na face abaxial, esta reticulada-venosa e com nervuras marcadamente proeminentes.

Inflorescências em capítulos axilares, 1 ou mais raramente 2 por axila, pubescentes, globosos (invólucro de uns 8 mm de diâmetro), cilíndricos até 2,5 cm de comprimento, brevemente pedunculados.

Flores violáceas, com fauce amarela e branca. Brácteas

imbricadas, pluriseriadas, ovadas, de 5-6,5 mm de comprimento, largamente acuminadas, seríceo-pubescentes e ciliadas.

Cálice 2-filo, de 1,5-1,7 mm de comprimento, pubescentes.

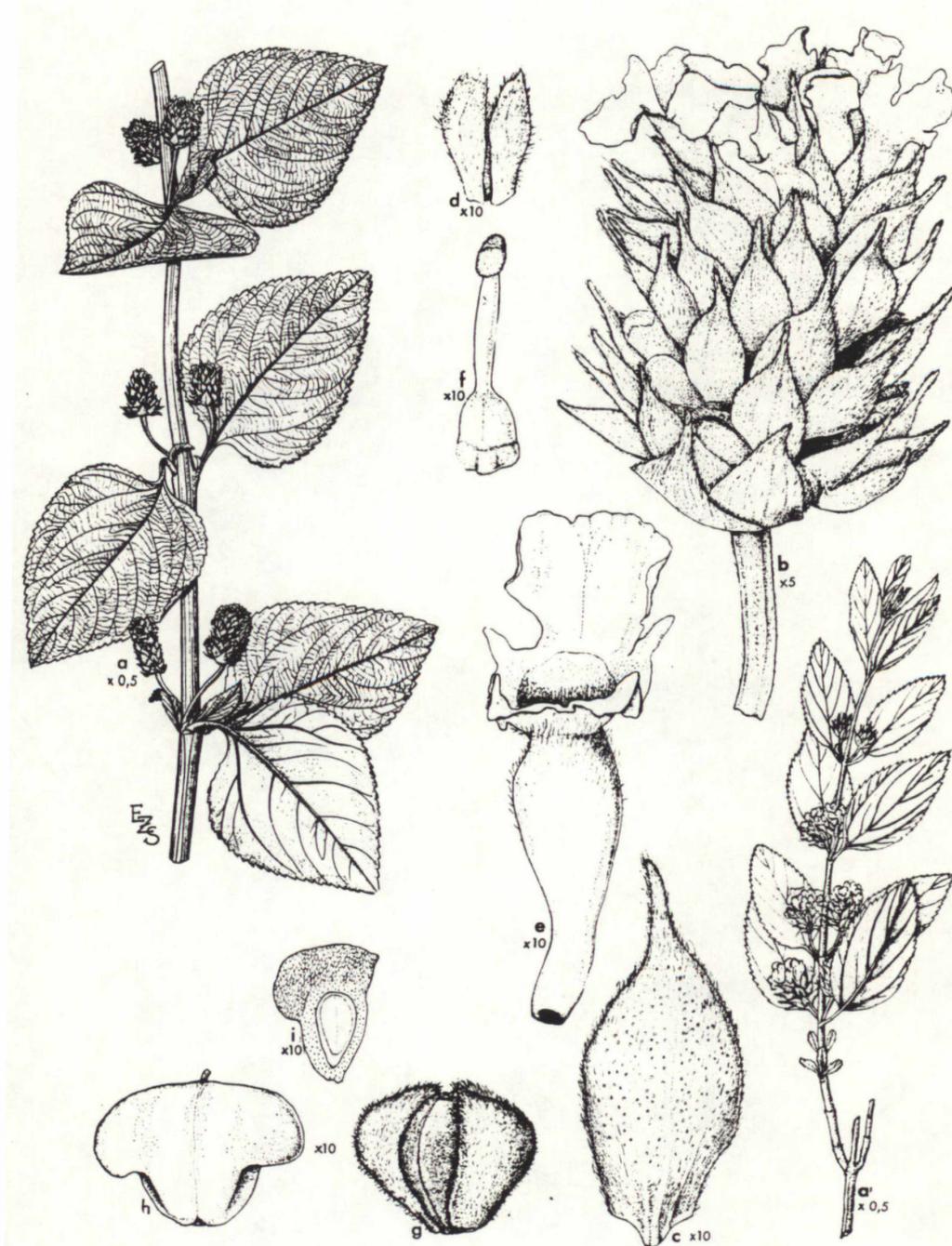
Corola marcadamente zigomorfa, de lábio inferior notavelmente desenvolvido, com o lóbulo médio maior tubo ensanchado na metade superior, pubescente exteriormente.

Estames insertos na metade superior do tubo corolino, inclusos.

Ovário globoso, estilete curto, de 1,8 mm de comprimento, estigma lateral.

Fruto esquizocárpico subgloboso a obovóide, de 2,8-3,0 mm de diâmetro, coberto pelo cálice acrescente; separável espontaneamente em 2 mericarpos hemisféricos de superfície dorsal lisa; pericarpo dilatado e esponjoso na metade superior, ósseo e delgado na zona seminal.

Desenho 3: *Lippia alba* (in BURKART, 1979)



- | | | | |
|--------------|------------------------------------|----------|----------------|
| a, a' | ramos floridos | b | inflorescência |
| c | bráctea | d | cálice |
| e | corola | f | gineceu |
| g | cálice frutífero | h | fruto |
| i | corte longitudinal de um mericarpo | | |

5.7. - SINONÍMIA CIENTÍFICA

Segundo MOLDENKE (1978):

Lippia alba (Mill.), N.E.Br.

Lantana alba (Mill.), Gard. Dict. ed. 8, Lantana, no 8. 1768.

Verbena odorata Hort. Paris. ex Pers., Syn. Fl. 2:140, in syn 1806.

Lippia geminata H.B.K., Nov. Gen. et sp. Fl. ed. folio, 2:214 et 215. 1817 (not. *L. geminata* Mill sp., 1930, nor Schl., 1964).

Verbena odorata (Pers.) Steud., Nom. Bot. Phan., ed. 1, 873 et 898. 1821 (not. *V. odorata* Desf., 1841, nor Meyen, 1834, nor Meyer, 1946).

Lantana sp. n. 5 Hook. f. & Thompson ex C.B. Clarke in Hook. f., Fl. Brit. India 4:564, in syn. 1885.

Lantana canescens Hort. ex C.B. Clarke in Hook. f., Fl. Brit. India 4:564, in syn. 1885 (not. *L. canescens* Benth., 1959, nor Fedde, 1932, nor H.B.K., 1817, nor Kunth, 1825, nor L., 1885).

Verbena odorata Pers. apud. Jacks. in Hook. f. & Jacks., Ind. Kew., imp. 1, 2:95, in syn. 1894.

Lippia geminata Kuth apud Goyena, Fl. Nicarag.,
1:560, 1911.

Lippia geminata microphylla Griseb. ex Fedde &
Schust. in Just, Bo. Jahresber. 58(2):329, in syn. 1938.

Lippia alba "(Mill.), N.E.Br. ex. Britton & Wilson",
apud. Santa pav & Wagh, Bull. Bot. Surv. India. 5:107, 1963.

Lantana cuneatifolia Klotzsch ex Moldenke, Résumé
Suppl. 10:5, in syn. 1964.

Lippia alba "(Mill.), N.E.Br. ex. Britton & Wilson",
apud. Malick, Bull. Bot. Surv. India. 8:55, sphalm. 1966.

Lippia alba (N.E.Br.) Morton, Econ. Bot. 22:97,
sphalm. 1968.

Lippia asperifolia Amico, Erbar. Trop. Firenze.
Publ. 11:34, 1968.

Lippia alba "(Mill.), Brown ex Moldenke, Fifth Summ.
2:550, in syn 1971.

Lippia alba "(Mill.), N.E.Briq. ex. Moldenke,
Phytologia 23:432, in syn 1972.

Lantana alba (Mill.), N.E.Br., in herb. (not *L. alba*
Brandis, 1906, nor L., 1947, nor Link, 1947, nor Mill. &
Benth., 1968, nor Mill. ex Link, 1967, nor Schall., 1885, nor
Vent., 1971).

5.8. - SINONÍMIA POPULAR

A espécie *L. alba* (Mill.) N.E.Br. Verbenaceae recebe, em regiões diferentes do Brasil, nomes populares específicos. PEROZIN & FRANCISCO (1990), levantaram 33 nomes populares, em todo o país, que são os seguintes: alecrim, alecrim do campo, alecrim do mato, camará, capitão do mato, chá da febre, chá de estrada, chá de frade, chá de pedestre, chá de tabuleiro, chá do rio grande do sul, cidrão, cidreira, cidreira brava, cidreira capim, cidreira crespa, cidreira falsa, cidreira melissa, cidrila, cidró, erva cidreira, erva cidreira falsa, falsa melissa, erva cidreira do campo, salsa brava, salsa, salsa do brasil, salsa limão, sálvia e sálvia da gripe.

Um exame mais acurado desses nomes populares pode indicar uma confusão generalizada com outras plantas também com o cheiro de limão (citral), como o *Cymbopogon citratus* e a *Melissa officinalis*.

5.9. - ASPECTOS ANATÔMICOS

Segundo GOMES et alii (1990), a lâmina foliar é anfihipostomática e pilosa. Em vista frontal, as células epidérmicas da área internervural de ambas as faces são irregulares e de paredes anticlinais levemente espessadas. Estas paredes, na face adaxial são curvas, enquanto que na face abaxial são sinuosas.

Em corte transversal, as células da epiderme adaxial são maiores do que as da face abaxial.

Os estômatos circundados por duas ou três células epidérmicas, caracterizam morfológicamente complexos estomáticos paracíticos, diacíticos e anomocíticos.

Observou-se 4 tipos de tricomas tectores que apresentam número de células do pedicelo diferente, com cutícula ornamentada, bem como tricomas secretores capitados estão presentes. Nos tricomas secretores, verificou-se a presença de gotas de óleo. Observou-se 4 tipos de tricomas secretores, que variam conforme o número de células do pedicelo e da cabeça, em ambas as faces da lâmina foliar.

A cutícula e estratos cuticulares apresentam-se mais espessos na epiderme adaxial do que na abaxial. Estrias espicuticulares são visíveis em ambas as epidermes, mais nítidas na face abaxial.

O mesófilo é representado pelo parênquima paliçádico e lacunoso. Em ambos verificou-se a presença de gotas de óleo.

Os feixes vasculares de pequeno porte são envolvidos por uma bainha parenquimática desprovida de cloroplastídeos.

Na região do bordo, estômatos e tricomas estão ausentes, em posição sub-epidérmicas nota-se a presença de parênquima clorofilano e nas proximidades ocorrem feixes vasculares de pequeno porte.

A nervura central em corte transversal é proeminente em ambas as faces. O sistema vascular colateral, apresenta-se na forma de um arco central com feixes vasculares menores voltados à face adaxial. Uma bainha de esclerênquima interrompida, por sobre o floema, acompanha o sistema vascular. Tricomas tectores e secretores estão presentes.

O padrão de venação foliar enquadra-se no tipo caspedódroma simples. (seg. HICKEY, 1974)

Existem semelhanças em alguns aspectos anatômicos no gênero. CASADORO & RASCIO (1982), em estudos com *L. triphylla*, revelaram a presença de 3 tipos de tricomas glandulares na epiderme.

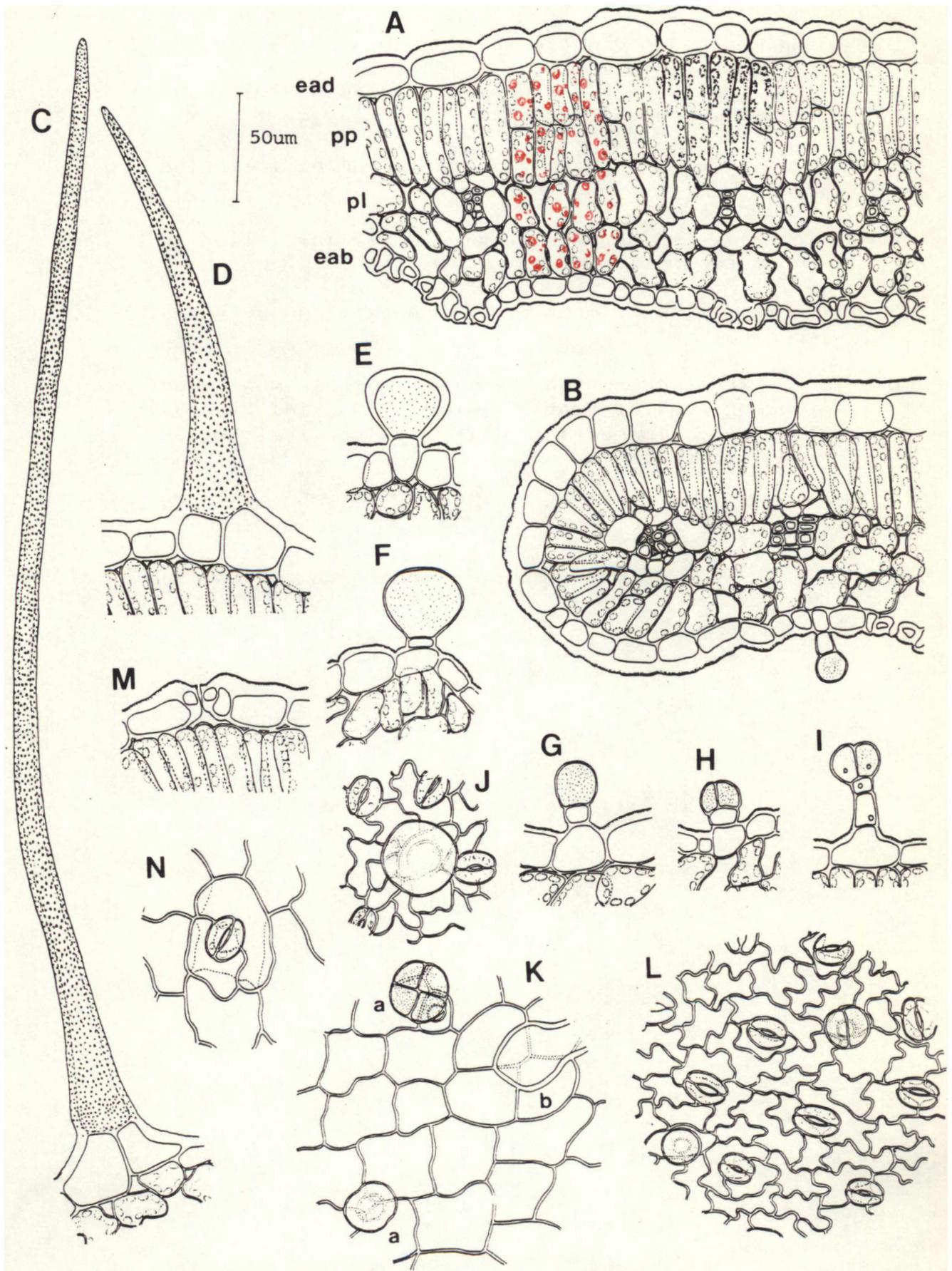
Em estudos anatômicos com *L. nodiflora*, KAUSHAL TRIPATHI (1984), observaram que suas células epidérmicas são

de paredes anticlinais sinuosas. Estômatos são mais frequentes na epiderme abaxial e predominantemente anomocítico ou diacítico, raramente anisocítico. Tricomas glandulares e tectores são observados tanto nas folhas quanto nas flores. Tricomas tectores são cônicos, normalmente ponteados, compreendendo de 1 a 15 células. Sua superfície é normalmente lisa; mas algumas são verrugosas. Tricomas glandulares com um pequeno a longo pedicelo, com número variável de células (1 a 5) e uma cabeça globular compreendendo 1 a 4 células.

A estrutura anatômica pode mudar, conforme o ambiente em que se encontra. RAHMAN & SHAMSUL (1982), verificaram diferenças no número de tricomas e no comprimento do entre nó de *L. nodiflora* quando em ambiente seco e ensolarado ou sombreado e úmido.

- A** - corte transversal da lâmina foliar, mostrando gotas de óleo no mesofilo (avermelhadas)
ead = epiderme adaxial; **eab** = epiderme abaxial;
pp=parênquima paliçádico; **pl**=parênquima lacunoso.
- B** - corte transversal do bordo da lâmina foliar.
- C** - tricoma tector unicelular da face abaxial da lâmina foliar.
- D** - tricoma tector unicelular da face adaxial da lâmina foliar.
- E** - tricoma secretor da face abaxial da lâmina foliar, com cutícula espessada.
- F** - tricoma secretor da face abaxial da lâmina foliar, com cutícula delgada.
- G** - tricoma secretor da face abaxial da lâmina foliar com cabeça e pedicelo unicelulares.
- H** - tricoma secretor da face abaxial da lâmina foliar com pedicelo unicelular e cabeça bicelular.
- I** - tricoma secretor da face adaxial da lâmina foliar com pedicelo e cabeça bicelulares.
- J** - epiderme da face abaxial da lâmina foliar com tricoma secretor, em vista frontal.
- K** - epiderme da face adaxial, em vista frontal, com tricomas secretores diferentes (**a**) e base de tricoma tector (**b**).
- L** - epiderme da face abaxial em vista frontal.
- M** - corte transversal do estômato.
- N** - estômato em vista frontal.

Desenho 4: Estruturas anatômicas de *L. alba*.



- Q** - folha mostrando venação caspedródoma.
- P** - tricoma tector da face abaxial da lâmina foliar na região intranerval.
- Q** - tricoma tector da face abaxial da lâmina foliar na nervura central.
- R** - tricoma tector da face abaxial da lâmina foliar na nervura central.
- S, T** - tricomas secretores da face abaxial na nervura central.
- U** - corte transversal da nervura central mostrando epiderme abaxial (**eab**); epiderma adaxial (**ead**); xilema (**x**); floema (**f**); parênquima cortical (**pc**) e colênquima (**c**).

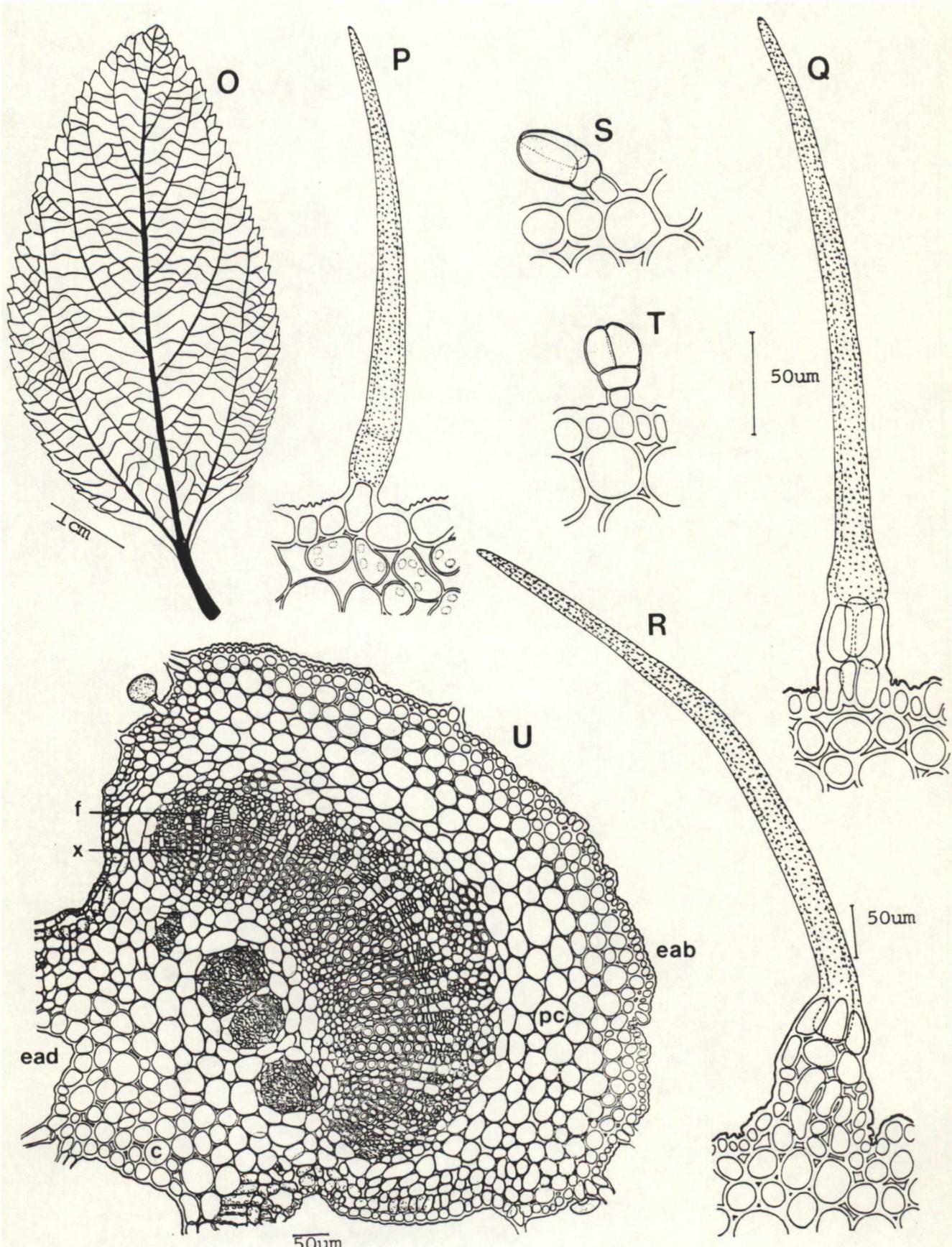




Foto 1: Face abaxial, detalhe dos estômatos e 2 tipos de tricomas secretores. Presença de estrias epicuticulares nas células epidérmicas.

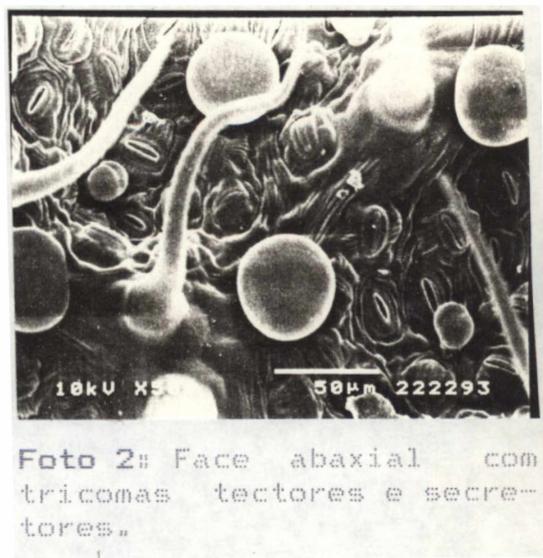


Foto 2: Face abaxial com tricomas tectores e secretores.

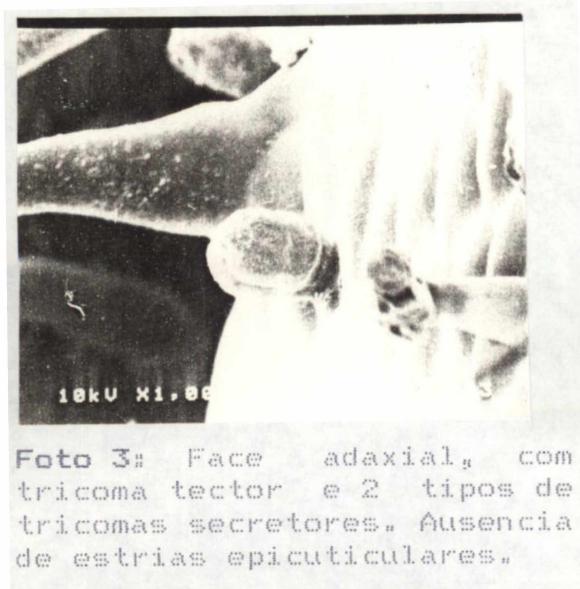


Foto 3: Face adaxial, com tricoma tector e 2 tipos de tricomas secretores. Ausência de estrias epicuticulares.

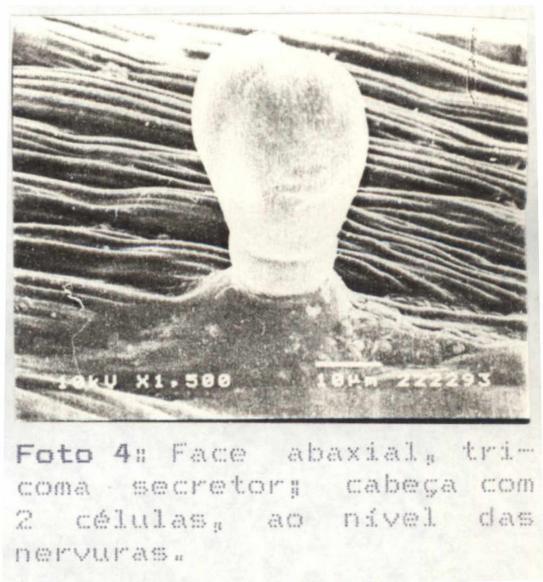


Foto 4: Face abaxial, tricoma secretor; cabeça com 2 células, ao nível das nervuras.



Foto 5: Face abaxial, próximo à nervura central; tricomas tectores e secretores.

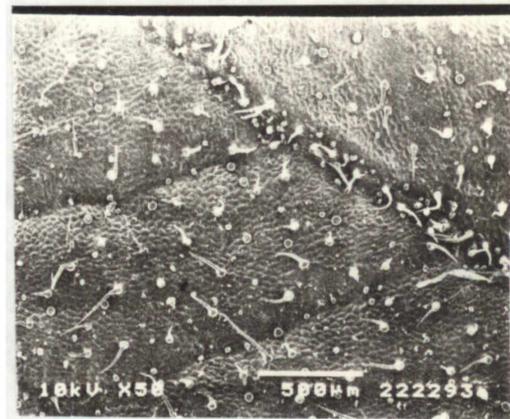


Foto 6: Face adaxial, próxima à nervura central; tricomas tectores e secretores.

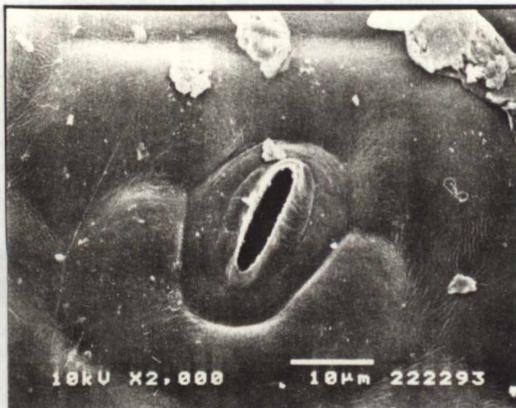


Foto 7: Face adaxial, detalhe do estômato.



Foto 8: Face abaxial, mostrando tricomas tectores e secretores e nervura central.

6. - ASPECTOS AGRONÔMICOS

6.1. - ALGUNS FATORES QUE INTERFEREM NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

A produção de metabólitos secundários, no caso óleo essencial, está condicionada a diversos fatores. Segundo CORREA JÚNIOR et alii (1992), fatores de ordem genética ou endógena, são os que dependem da carga genética de cada planta, diferente para cada espécie e faz com que cada espécie tenha uma composição química diferente. Fatores externos, como temperatura, pluviosidade, vento, solo, latitude, altitude também interferem de forma significativa na elaboração dos metabólitos secundários, como também afirmou MIKA (1962), in YANIV & PALEVITCH (1982), destacando a influência do meio ambiente na biossíntese de metabólitos secundários. Fatores técnicos, como forma de plantio, adubação, tratos culturais, época de colheita também têm sua importância, tanto na produção de biomassa como no teor de princípios ativos.

Em se tratando de plantas medicinais, não se deve apenas se preocupar com a produção quantitativa de biomassa por hectare, conforme MADUEÑO BOX (1973), mas também pela riqueza dos princípios ativos contidos. Por isso os diversos aspectos devem ser levados em conta para que se possam produzir plantas medicinais em quantidades suficientes e em quantidade necessária.

a) Temperatura

De um modo geral, temperaturas mais altas tendem favorecer o maior desenvolvimento vegetativo da planta, dentro porém de um limite máximo e mínimo e também levando-se em conta a existência de uma faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento de cada espécie, segundo STRASBURGUER (1987).

Com relação à produção de óleos essenciais, MADUEÑO BOX (1973), afirmou, com reservas, que havia maior produção depois de dias mais quentes.

DE BUSTAMANTE (1987), afirmou que diversas plantas se comportaram de diversos modos em relação à temperatura. A alfavaca, *Ocimum basilicum* não suportou temperaturas baixas. A alfazema, *Lavandula officinalis* preferiu ambientes ensolarados, mais quentes. A erva cidreira, *Melissa officinalis*, preferiu ambientes de meia sombra, o mesmo ocorrendo com a espécie *Lippia citriodora*.

b) Água

Um dos mais importantes fatores ambientais, a água desempenha um papel importante no crescimento e desenvolvimento da planta inteira, segundo YANIV & PALEVITCH (1982).

Contudo, segundo KOSLOWSKI, 1968, com relação à

biossíntese de metabólitos secundários, o stress d'água ainda não foi totalmente avaliado, podendo haver reação positiva ou negativa conforme as plantas e/ou grupos de princípios ativos.

Em óleos essenciais, PENKA (1978), avaliou as respostas na produção de óleos essenciais de 15 espécies medicinais, sob regime de irrigação. Os resultados mostraram que os níveis de produção dependiam do estágio de desenvolvimento na qual a irrigação foi aplicada. Como regra, a formação e acumulação de óleos essenciais tendeu a crescer sob condições mais secas. Em espécies xerófitas, como *Artemisia absinthium*, *Matricaria chamomilla* e *Lavandula spica*, as plantas irrigadas continham mais óleo essencial em valores absolutos, porém em valores relativos, o das plantas não irrigadas eram maiores. Em algumas espécies não foram observadas diferenças significativas, como em *Allium cepa*, *Mentha piperita* e *Melissa officinalis*.

Segundo GERSHENZON (1984), o incremento de óleo essencial em *Majorana hortensis* aumentou em condições de baixa umidade, enquanto que em *Mentha piperita*, a irrigação fez diminuir a concentração de óleo por planta. Outros autores, como LINCOLN & LANGENHEIN (1978), in GERSHENZON (1984), afirmaram que o aumento de produção de monoterpenóides nas folhas é normalmente creditado às condições de stress hídrico, porém deve ser associado a outros fatores como a intensidade

luminosa e temperatura.

No Brasil, estudos realizados por DONALISIO et alii (1971), com *Cymbopogon citratus*, revelaram que as colheitas realizadas entre dezembro e abril, em Campinas-SF, produziram mais óleo por ha do que no período da seca, resultado que deve ser creditado ao aumento de biomassa, pois FLUCK (1955), in YANIV & PALEVITCH (1982), em cultivo da mesma espécie no Congo, obteve teor de óleo de 0,20% em planta da estação chuvosa e 0,35% da estação seca.

Com relação a estudos sobre o gênero *Lippia*, ROVESTI (1971), em trabalho com *L. adoensis* e *L. schimperi* na Etiópia, concluiu que a umidade do solo fez aumentar o rendimento em essencia, porém alterou a composição do óleo, aumentando o teor de terpenos e diminuindo o teor de carvona.

Sobre alteração na composição dos óleos essenciais por causa da umidade, GERSHENZON (1984), estudando *Satureja douglasii*, concluiu que sob stress hídrico, houve decréscimo na produção de monoterpenóides de esqueleto p-mentano.

Segundo o mesmo autor, a composição do óleo essencial de *Thymus serrulatus*, em tempos secos é principalmente (60 a 70%) de timol e carvacrol, e em épocas úmidas do ano, o óleo é muito rico em linalol, caindo a taxa de timol e carvacrol para 15 a 20% do total.

ROVESTI (1952), in GERSHENZON (1984), em estudos feitos em *Micromeria (Labiatae)* sob stress hídrico, observou que houve mudanças na composição dos monoterpenos, aumentando a percentagem de cânfora e diminuindo a percentagem de mentona.

c) Adubação Orgânica

Com o intuito de repor os nutrientes extraídos pelas plantas, a adubação orgânica tem sido utilizada há muito tempo pelos agricultores.

Representa papel fundamental, com efeitos importantes nas propriedades do solo, dentro dos fatores técnicos do cultivo de plantas medicinais.

a) Propriedades químicas: segundo CNFO (1985), e DA COSTA (1986), a incorporação de resíduos orgânicos pode trazer benefícios às plantas através da melhoria das propriedades químicas do solo pelo fornecimento de nutrientes (Macro e Micro), aumento da capacidade de troca de cátions (CTC), pela formação de complexos e aumento do poder tampão do solo. Segundo PAVAN (1982), in IGUE (1984), em solos do Paraná, a influência da matéria orgânica é muito grande na CTC do solo, aumentando a matéria orgânica, a CTC aumenta também.

Com relação aos complexos organo-metálicos, IGUE (1984), afirmou que a matéria orgânica tem potencial de formar

ligações com íons como Cu^{+2} , Zn^{+2} , Mn^{+2} , Co^{+2} e Al^{+3} , processo esse que torna possível a eliminação de efeitos tóxicos de manganês ou alumínio (HIROGE, 1972, GIANELLO & ERNANI, 1983, in DA COSTA, 1986).

b) Propriedades físicas: As substâncias húmicas coloidais presentes na matéria orgânica atuam como agentes cimentantes de partículas, formando agregados bastante estáveis, além de ser fonte de energia de microorganismos e estes, notadamente os fungos, promovem a agregação física do solo (PRIMAVESI, 1980 e DA COSTA, 1986).

Tem ainda a função de, com a formação dos agregados no solo, a melhoria nas condições de aeração infiltração, aumentando a capacidade de retenção da água (INDRIO, 1980, IGUE, 1984 e DA COSTA, 1986).

A melhoria na estrutura do solo ajuda também a reduzir as oscilações de temperatura no solo (DA COSTA, 1986).

c) Propriedades biológicas: a adubação orgânica aumenta a atividade biológica do solo devido à adição de substrato para os microorganismos, que tendem a realizar um processo de decomposição continuada de matéria orgânica, dando origem ao húmus (PRIMAVESI, 1980 e DA COSTA, 1986).

Além disso, os microorganismos podem produzir outros benefícios. Segundo PRIMAVESI (1980), alguns deles fixam

nitrogênio, tornando-os absorvíveis às plantas, outros produzem substâncias de crescimento, como ácido indol acético, que tem efeito positivo sobre o crescimento vegetal, outros produzem antibióticos, que protegem as plantas. IGUE (1984), e DA COSTA (1986), também verificaram propriedades alelopáticas quando da incorporação de adubação orgânica.

c.1) COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ESTERCO

A composição química do esterco de gado, misturado com silagem, que foi utilizado como adubo orgânico no experimento, varia conforme a alimentação oferecida aos animais, dos componentes da silagem, do tempo e do manejo do resíduo (INDRIO, 1980, PRIMAVERSI, 1980 e DA COSTA, 1986). Estercos estocados por longo período de tempo ao ar livre perdem muito de seus nutrientes por volatilização e por lixiviação dos sais solúveis pela água da chuva (DA COSTA, 1986).

Segundo REIS (1979), o esterco de vaca apresentava a seguinte composição:

Água	75%
Matéria orgânica	20%
Cinzas	4,5%

N = 0,4 a 0,5%

P₂O₅ 0,2 a 0,3%

K₂O 0,4 a 0,6%

Já PETERSON et alii (1971), in MALAVOLTA (1981),
apresentou a seguinte composição para esterco de gado
leiteiro:

Umidade (%) 79

N (Kg/m³) 5,6

P (Kg/m³) 1,0

K (Kg/m³) 5,0

Ca (Kg/m³) 2,8

Mg (Kg/m³) 1,1

S (Kg/m³) 0,5

Fe (Kg/m³) = 0,04

B (ppm) 5,0

Co (ppm) 0,3

Cu (ppm) 8,0

Mn (ppm) 75,0

Mo (ppm) 0,8

Zn (ppm) 43,0

Sobre o assunto, CNPQ (1981), apresentou o seguinte resultado para esterco de gado de corte em % de material seco:

N = 2,0

P 0,8

K 1,5

Segundo TEUSCHER ADLER (1965), in DA COSTA (1986), o esterco bovino apresentou a seguinte composição:

Umidade (%) 80

N (%) 0,55

P₂O₅ (%) 0,23

K₂O (%) 0,60

c.2) DEFICIÊNCIA NUTRICIONAL E PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Embora fatores químicos, físicos e biológicos do solo resultantes da adubação orgânica interfiram na produção de princípios ativos, dada a falta de informações e pesquisas, somente no aspecto químico foram realizados estudos.

A avaliação dos efeitos de deficiências nutricionais nos teores de óleos essenciais, ainda não é totalmente segura. FLUCK (1963), in GERSHENZON (1984), obteve resultados diferentes em espécies de *Mentha*, quando em adições de nitrogênio, fósforo e potássio. Em algumas espécies aumentou o teor de óleo essencial e em outras não se verificou efeitos significativos.

Em resina de coníferas, a deficiência nutricional, aliada ao stress hídrico, predispõe as árvores a ataques de insetos e fungos, pois há uma diminuição nos teores de compostos terpênicos que as protegeriam (STARK, 1965, BERRYMAN, 1972 e MATTSON, 1975 in GERSHENZON, 1984). GRIMAL (1961), no mesmo trabalho, encontrou resultados semelhantes em estudos com espécies de *Pinus*.

MAARSE & KEPNER (1970), in GERSHENZON (1984), apresentaram respostas positivas em termos de aumento de resina em *Pinus* quando adicionados uréia e gesso.

EL-KHOLY (1984), in SCHEFFER (1991), constatou variações no rendimento de óleo na porcentagem de guaiacoleno deste, em função da aplicação de nitrogênio e fósforo.

LÁSZLÓ (1979), em experimento com *Anethum graveolens* - Umbelliferae, verificou que com aplicação de N, a massa vegetativa aumentou proporcionalmente, nas composições do óleo essencial variou conforme uma curva ótima. A maior massa foi conseguida com a maior aplicação de N, mas o maior teor de óleo essencial foi obtido em uma aplicação média de N. Em relação a P₂O₅, com sua aplicação houve uma pequena influência na massa vegetativa produzida, porém houve um aumento proporcional na produção de frutos. Já em relação ao teor de óleo essencial na planta, o seu teor caiu, porém no teor de óleo contido nos frutos houve um aumento.

O mesmo autor verificou que aplicação de K₂O influenciava a produção de massa vegetativa e frutos, porém em menor escala que N e P₂O₅ e não influenciou o teor de composição do óleo.

Em resumo, segundo KLUGE (1976); CHAPIN (1980); BERRY & DOWNTON (1982), e BREDFORD & HSIAO (1982), in GERSHENZON (1984), a deficiência nutricional de no mínimo moderada severidade, poderia ter a expectativa de ter um impacto direto na biossíntese de metabólitos secundários por causa de sua

inibição à fotossíntese. Essa redução de compostos carbônicos faria a planta responder por três vias: a) diminuindo drasticamente sua produção de metabólitos secundários enquanto mantinha alocação de reservas nas atividades do metabolismo primário nos níveis anteriores; b) diminuindo reservas para crescimento e desenvolvimento enquanto continuava sintetizando metabólitos secundários nos níveis anteriores; c) reduzindo os gastos com ambas as atividades, primárias e secundárias, a vários degraus. As plantas podem exibir uma grande quantidade de plasticidade em suas alocações de reservas para diferentes funções sob mudanças de condições ambientais.

6.2. - CULTIVO DE OUTRAS ESPECIES DE *Lippia*

Dada a inexistência quase total de aspectos técnicos a respeito do cultivo de *L. alba*, foi feito esse levantamento com base em estudos de outras espécies de *Lippia*.

Propagação:

MADUEÑO BOX (1973), recomendou para *L. citriodora*, o processo de estaquia ou mergulhia. Para estaquia, usaram-se estacas de 20 cm, deixadas em caixas de areia. Segundo o autor, o índice de pegamento é pequeno, motivo pela qual a

mergulhia é mais utilizada, que se realiza dobrando ramos procedentes de plantas de 3 a 5 anos de idade até que se toquem no solo, fixando-os com forquilha e cobrindo-os com terra.

MIRTH (1977), para a mesma espécie cultivada na Tunísia, recomendou a estaquia.

DE RUSTAMANTE (1987), recomendou também para *L. citriodora*, a estaquia, a mergulhia ou divisão de touceiras.

GUIA RURAL (1988), recomendou para *L. geminata* o uso de estacas.

LIMA et alii (1990) (a,b), em estudos de propagação de *L. sidoides* e *L. microphylla*, concluiu ser eficiente a alporquia, com utilização de substratos diversos [pó de madeira; areia + esterco (1:1); pó de madeira + vermiculita (1:1); pó de madeira + (areia + esterco) (1:1) e vermiculita + (areia + esterco) (1:1)] para a primeira espécie e a utilização de ácido indol-butílico (100 a 200 ppm) embebendo algodão junto a base do alporque, com substrato de pó de madeira + vermiculita (1:1).

Com exceção de *L. geminata*, para as outras espécies, os autores recomendam produção de mudas em viveiros antes do plantio em local definido.

Espaçamento:

- 0,80 m entre linhas e 0,60 m na linha (MADUEÑO BOX, 1973).

1,5 a 2,0 m entre linhas e 0,60 a 0,80 m na linha (WIRTH, 1977).

0,75 m entre linhas e 0,60 m na linha (EL-HAMIDI et alii, 1983).

1,0 a 1,20 m entre linhas e 0,60 a 0,80 m na linha (DE BUSTAMENTE, 1987).

2,0 m entre linhas e 1,5 m na linha (GUIA RURAL ABRIL, 1988).

As 4 primeiras recomendações são para *L. citriodora* e a última para *L. geminata*.

Época de plantio:

- em meados de maio, na Espanha (MADUEÑO BOX, 1973).

início de março a fim de maio, na Tunísia (WIRTH, 1977).

- outubro no Egito (EL-HAMIDI et alii, 1983).

- na primavera, Espanha (DE BUSTAMANTE, 1987).

preferencialmente na primavera ou em qualquer mês, se as condições climáticas favorecerem, no Brasil (GUIA RURAL ABRIL, 1988).

As quatro primeiras recomendações referem-se a *L. citriodora* e a última a *L. geminata*.

Adubação:

sulfato de amônio, 4kg/100m², em meados de abril (MADUEÑO BOX, 1973).

a) adubação de implantação: 40 ton/ha de esterco de gado, 300 kg de super fosfato 45%, 100 a 200 kg de sulfato de potássio 46% e 100 kg de nitrato de amônio 33%.

b) adubação de cobertura (primeira, em meados de março): 10 to/ha de esterco de gado, 200 kg de superfosfato 45%, 100 kg de sulfato de potássio 46% e 75 kg de nitrato de amônio 33%.

c) adubação de cobertura (segunda, após primeiro corte em julho): 75 kg de nitrato de amônio 33% e 100 kg de super fosfato 45%.

d) adubação de cobertura (terceira, após segundo corte

em setembro): 100 kg de nitrato de amônio 33% (WIRTH, 1977).

100 kg/0,42 ha de nitrato de amônio 33,5% e 100 kg/0,42 ha de super fosfato de cálcio, após 1 mês do plantio. (EL-HANIDI, 1983).

30 kg/N, 40 kg/P₂O₅ e 50 kg/K₂O por ha na implantação da cultura e 40 kg/ha/N por 3 vezes ao ano, em junho, julho e agosto (DE BUSTAMANTE, 1987).

— 5 kg/m² de esterco de gado (GUIA RURAL ABRIL, 1988).

As 4 primeiras recomendações referen-se a *L. citiodora* e a última a *L. geminata*.

Colheita:

2 cortes, o primeiro em julho e o segundo em setembro (MADUEÑO BOX, 1973).

2 cortes, o primeiro ao fim de maio a meados de junho e o segundo em agosto-setembro. É possível um terceiro corte em finais de outubro, início de novembro se as condições climáticas do ano forem favoráveis (WIRTH, 1977).

3 cortes, junho, agosto e outubro (EL-HANIDI et alii, 1983).

2 cortes: junho-julho e setembro-outubro. No primeiro ano de cultivo somente um corte (DE BUSTAMANTE, 1987).

cinco a seis meses após plantio (GUIA RURAL ABRIL, 1988).

As quatro primeiras recomendações referem-se a *L. citriodora* e a última a *L. geminata*.

Rendimento:

10 a 12 ton de planta fresca, que se reduz a quarta parte após secagem (PADUENÓ BOX, 1977).

4 a 6 ton de folhas verdes/ha (a partir do segundo ano) que se reduzem a 1 a 1,5 ton/ha de folhas secas (WIRTH, 1977).

4 a 6 ton/ha de planta fresca, correspondendo a 1,6 a 2,4 ton/ha de folhas frescas, que se reduzem a 0,4 a 0,6 ton/ha de folhas secas (EL-HAMIDI, 1983).

9 ton/ha de folhas frescas, que se reduzem a 5 ton/ha de folhas secas.

Todos os resultados referem-se a *L. citriodora*.

IV - MATERIAIS E MÉTODOS

1. - CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA

Localizada no município de Colombo - PR, na localidade chamada Imbuial, distante 28 km de Curitiba, nas coordenadas 25°18'S de latitude e 49°10'W de longitude, com altitude em torno de 900 m e relevo forte ondulado a montanhoso, de clima do tipo Cfb, segundo classificação de Koeppen, com precipitação anual entre 1600 - 1800 mm e vegetação natural do tipo floresta subtropical subperenifolia (MAAK, 1968, in ENBRAPA, 1984). Na ocasião do preparo de solo, encontrava-se

como área de cultivo de produtos tradicionais na região (feijão e milho consorciados, já colhidos) e que apresentava grande incidência de ervas invasoras (*Solidago chilensis*, *Brachiaria plantaginea*, *Solanum americanum*, *Richardia brasiliensis*, *Bidens pilosa*, além de rebrotos de arbustos e árvores como *Smilax sp.*, *Roupala brasiliensis*, *Ocotea pubelura*, *Cedrella fissilis* e outras).

A área, conforme afirmaram os proprietários, sofreu um calagem há 4 ou 5 anos, quando os proprietários eram outros.

O solo da área pertence à classe cambissolo, de caráter álico, ou seja, um solo não hidromórfico, com horizonte B câmbico que possui alta saturação de alumínio (Al^{+++}) trocável, maior que 50%.

É um solo com certo grau de evolução porém, não o suficiente para meteorizar completamente minerais primários de fácil intemperização e que não possuem acumulação significativa de óxidos de ferro, humus e argila que permitam identificá-lo como B textural ou B podzol (EMBRAPA, 1984).

Segundo VIEIRA (1975), os cambissolos são solos que possuem horizonte A, B, C, tendo o A pequena espessura, podendo estar ausente em áreas de declive devido à erosão.

Segundo EMBRAPA (1984), os teores de silte são maiores, e a relação silte/argila normalmente é superior a 0,3

e o potencial agrícola destes solos varia muito, dependendo das condições ambientais, especialmente da natureza do substrato rochoso e do regime hídrico. O seu caráter álico, extremamente ácido, apresenta altos teores de Al^{+3} trocáveis e baixas reservas de nutrientes para as plantas.

Foram feitas análises químicas e granulométricas do solo, a partir de uma amostra da área, obtida de 5 pontos na área cujos materiais foram misturados e homogeneizados, obtendo-se a amostra analisada, conforme o método citado por OLEYNICK et alii (1989).

A metodologia foi realizada em duas etapas: agronômica e fitoquímica.

2. - ETAPA AGRONÔMICA

2.1. - ANÁLISE QUÍMICA E GRANULOMÉTRICA DO SOLO

Foram realizadas pelo Laboratório de Fertilidade e Física do Solo do Departamento de Solos do Setor de Ciências Agrárias da UFPR (análises nº 2.284 e L-111, respectivamente).

2.2. - ANÁLISE FOLIAR

A análise foliar da matéria orgânica foi realizada

pelo Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo do Setor de Ciências Agrárias da UFFR (análises nº 88 e 89/91).

2.3. - SELEÇÃO DAS ESTACAS

As estacas destinadas à propagação vegetativa foram obtidas de material existente no campus do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, apresentando bom aspecto fitossanitário e corretamente identificado botanicamente. O material foi identificado pelos professores Armando Carlos Cervi e Olavo Guimarães, do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná as exsicatas encontram-se incorporadas ao herbário do Departamento de Botânica da UFFR, UPCB número 18.696.

Os ramos foram selecionados, rejeitando-se os que apresentavam sinais de danos mecânicos, ataques de pragas e incidência de doenças.

2.4. - PREPARO DAS ESTACAS

As estacas tinham tamanho de 25 a 30 cm de comprimento, obtidas de porções dos ramos abaixo do oitavo nó,

contando-se do ápice para a base e com mais de 5 mm de diâmetro médio, pois as partes menos lignificadas dos ramos apresentam menor índice de pegamento no processo de estaquia, segundo NING (1990). Segundo o mesmo autor, as folhas têm que ser retiradas das estacas, para não haver grande déficit hídrico delas.

2.5. - ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS

As estacas foram deixadas para enraizar em sacos plásticos de 10 x 18 cm, contendo uma mistura de um terço de areia e dois terços de terra com bom teor de matéria orgânica. Cada estaca ficou com aproximadamente 40% do comprimento dentro da terra.

Foram deixados em ambiente sombreado e regadas com frequência. Foram preparadas 1.400 mudas e deixadas por 45 dias para um bom pegamento das estacas.

2.6. - PLANTIO DAS ESTACAS

O plantio foi realizado em área rural do Município de Colombo, localidade Imbuial, em canteiros previamente preparados. O solo recebeu calagem de 8 ton/ha com calcáreo dolomítico, recebendo também aração e gradagem com tração animal. A calagem foi realizada 30 dias antes do plantio. A necessidade de calcáreo foi determinada pela fórmula de VAN

RAIJ (1975), in MALAVOLTA (1981): t calcáreo/ha = $2,0 \times Al^{+3} = (Al + H)$ em meq/100 cm^3 solo.

O experimento foi feito em delineamento de blocos ao acaso, com 5 repetições (A, B, C, D, E). Os canteiros, de tamanho 4,9 m x 7,0 m (34,30 m^2) receberam os seguintes tratamentos de adubo orgânico (esterco de gado misturado com silagem) que foi incorporado com enxadão (figura 1):

$T_0 = 0$ (zero) kg esterco/ m^2 .

$T_1 = 1,0$ kg/ m^2 .

$T_2 = 2,0$ kg/ m^2 .

$T_4 = 4,0$ kg/ m^2 .

$T_8 = 8,0$ kg/ m^2 .

O espaçamento adotado foi o de 70 cm na linha e de 1,0 m entre linhas, cabendo em cada tratamento, 49 mudas. Cada bloco, composto por 5 tratamentos, foi disposto no campo em posição que cortasse as águas. A distância entre os tratamentos em cada bloco foi de 1,2 m e a distância entre os blocos foi de 2,4 m. (figura 2)

Margeando os blocos, foi feita uma faixa limpa com 2,0 m de largura. A área total utilizada foi de 1.618,38 m^2 .

O peso do esterco foi calculado com base no peso seco. Para tanto, 5 (cinco) amostras do esterco com volume conhecido foram colocadas em estufas com corrente de ar contínua por 48 horas a 75°C ininterruptamente até a estabilização do peso.

A relação peso seco/vol (média) foi de 0,25%.

O plantio foi realizado no dia 28 de dezembro de 1990.

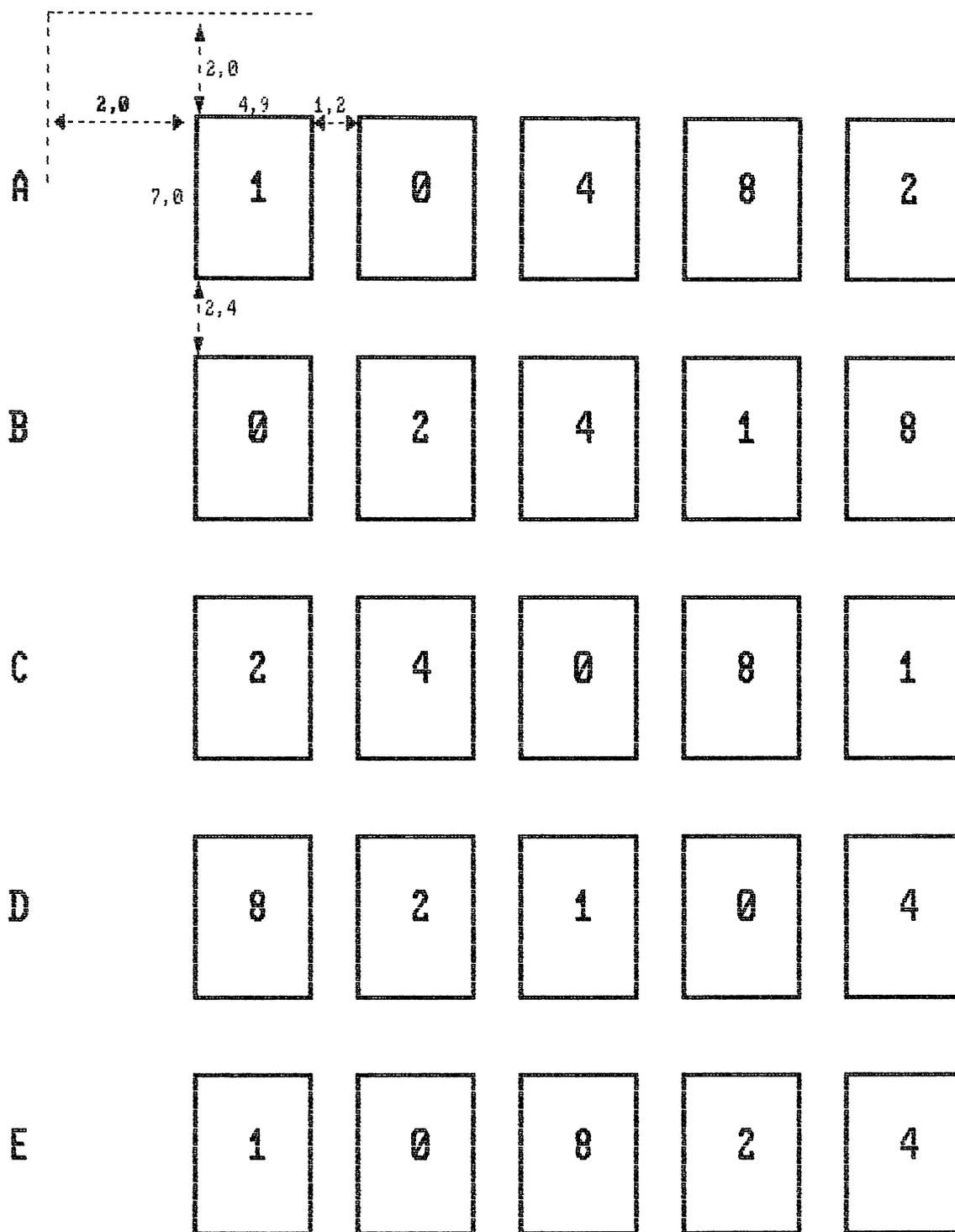


Figura 1: Esquema geral da área cultivada mostrando as 5 repetições (A,B,C,D e E), e os 5 tratamentos (0,1,2,4 e 8), as distâncias entre os canteiros e os blocos e a faixa marginal.

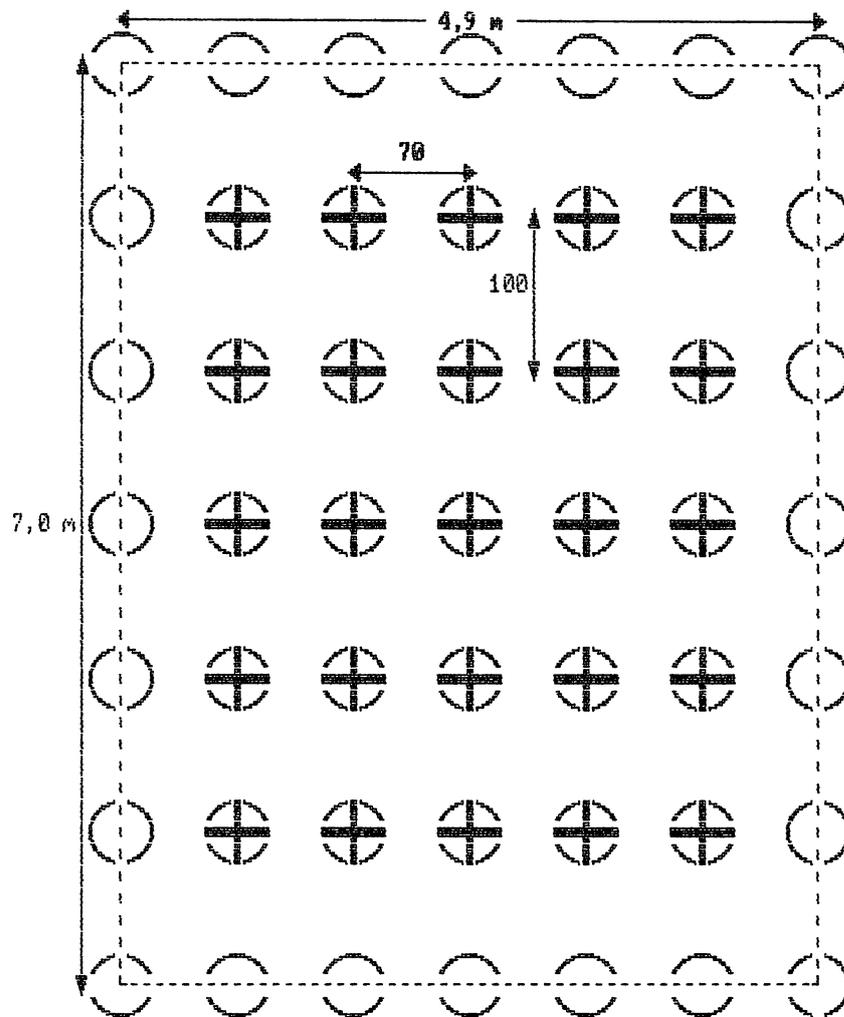


Figura 2: Esquema de cada canteiro, mostrando distancia entre plantas, tamanho do canteiro e plantas colhidas e nao colhidas.

- Planta nao colhida
- ⊕ Planta colhida

2.7. - TRATOS CULTURAIS

Durante o período de cultivo, foram feitas capinas, em número suficiente para a retirada de ervas invasoras. Foi feita também, reposição de mudas que morreram após plantio.

Não houve necessidade de se fazer a irrigação, tampouco houve necessidade de se fazer controle de pragas e doenças.

2.8. - COLHEITA

As colheitas foram feitas cortando-se os ramos inteiros das plantas, deixando-se cerca de 15 cm dos ramos junto ao caule, para possibilitar novas brotações. Eram colhidos, necessariamente, todos os tratamentos de um mesmo bloco no mesmo dia.

A primeira colheita foi feita em 25 de abril de 1991 (bloco A) e a última colheita foi realizada em 23 de maio de 1991. Todas as colheitas foram realizadas às 10:00h e apresentaram algumas variações de umidade, conforme segue:

Bloco A: colhido em 25/04, com tempo bom, sem chuva no 2 últimos dias;

Blocos B e C: colhidos no dia 07 de maio, com tempo

nublado, com chuva fraca no dia anterior;

Bloco D: colhido dia 18 de maio, com tempo bom, após 2 dias de chuva;

Bloco E: colhido em 23/05, tempo bom, sem chuva durante a semana.

Foram colhidas apenas as 25 plantas localizadas no centro de cada canteiro, desprezando-se as 24 plantas localizadas à margem de cada canteiro, para evitar o "efeito bordadura".

2.9. - SEPARAÇÃO DO MATERIAL

Após a colheita, os ramos foram acondicionados em sacos plásticos de 100 l e pesados. Em laboratório, as folhas e inflorescências foram separadas manualmente dos ramos. Em seguida foram pesadas as folhas juntamente com as inflorescências e depois foram pesados os ramos.

Este procedimento foi feito para cada um dos tratamentos dos blocos.



Foto 9: aspecto da produção de mudas por estacas.



Foto 10: colheita de ramos floridos e transporte em sacos plásticos.

3. - ETAPA FITOQUÍMICA

Esta se iniciou imediatamente após a separação das folhas e inflorescências dos ramos e seguiu as seguintes etapas, conforme MOREIRA (1979):

3.1. - PREPARO DO MATERIAL

As folhas e inflorescências foram misturadas, procurando-se obter um material homogêneo, depois moídas em moedor de carne, de modo a obter-se material que ocupasse menor espaço possível no freezer em que ele seria armazenado.

Após moído, o material foi pesado em balança semi-analítica, acondicionado em sacos plásticos, etiquetado e colocado no freezer.

3.2. - PESQUISA OLFATIVA

O material de cada um dos tratamentos foi esmagado entre os dedos, para se verificar a presença de óleos, através de odor característico.

3.3. - EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a extração do óleo, usando o método de arraste de vapor ou hidrodestilação, foi utilizado o Aparelho de Clevenger, modificado por WÁSICKY, (1963). O material de cada tratamento foi colocado em balão de fundo chato, de 2.000 ml, com junta esmerilhada 24/40. Cada balão comportava cerca de 350 g de material, além de água deionizada, em volume suficiente para cobrir o material.

O período em que o material ficou destilando teve a duração de 7 horas ininterruptas. Após este período, foi anotado o rendimento obtido de cada tratamento.

3.4. - PURIFICAÇÃO

A purificação das amostras foi realizada através de centrifugação a 4.800 r.p.m., durante 30 minutos, em centrífuga marca JANETZKI, modelo T-23.

3.5. - ARMAZENAGEM

O material purificado foi colocado em vidro âmbar com rosca, etiquetado, e armazenado em geladeira.

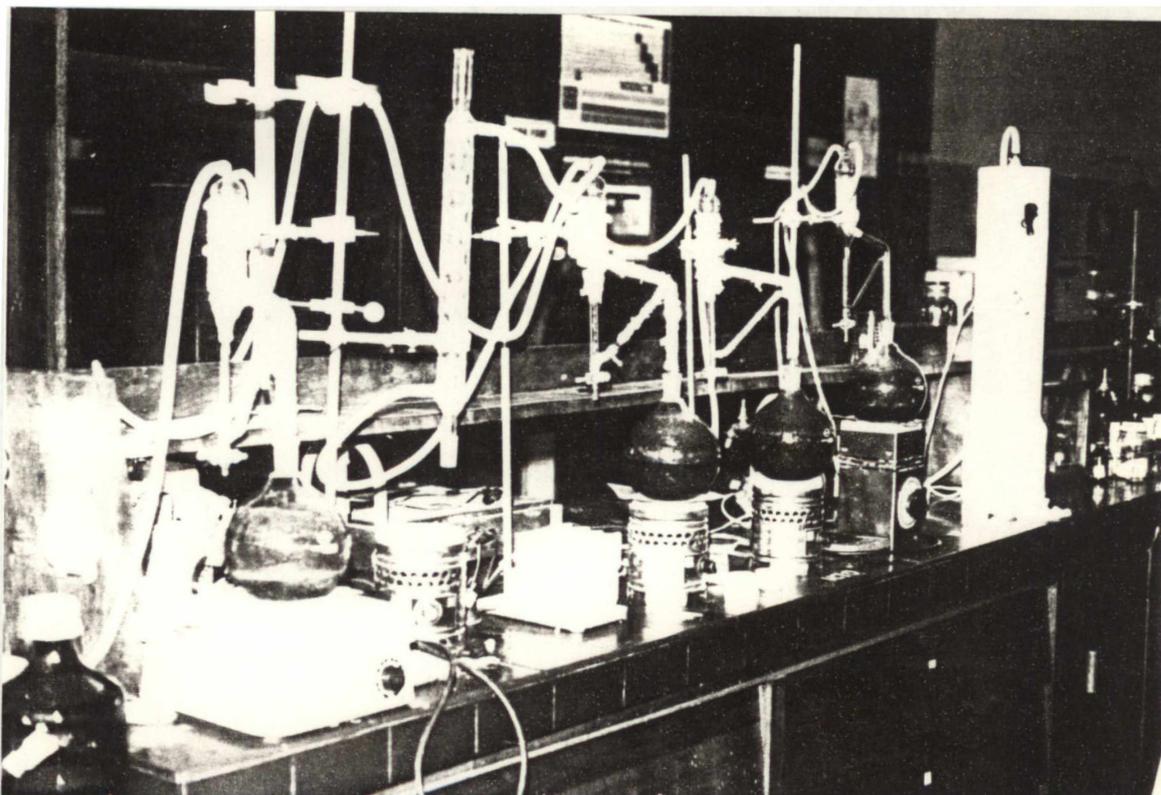


Foto 11: aparelhos Clevenger, montados em série, para extração dos óleos essenciais por hidrodestilação.

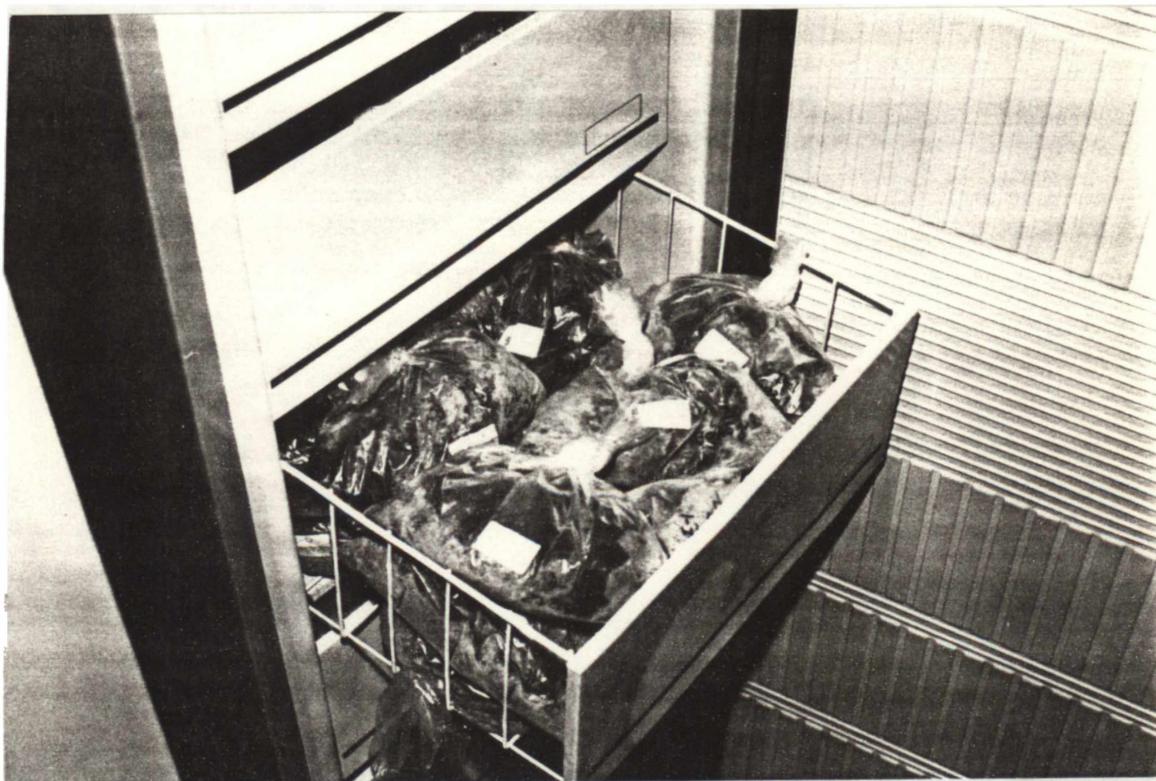


Foto 12: gaveta do freezer com sacos plásticos etiquetados contendo folhas e flores de *L. alba* moídas.

3.6. - DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE RELATIVA (a 20 C)

Foi realizada com a tubos capilares. Foram realizadas 3 determinações para cada amostra de óleo de cada tratamento, com a seguinte sistemática:

- a) determinação do peso dos tubos capilares após secos em estufa;
- b) pesagem dos tubos capilares cheios de água deionizada;
- c) retirada da água e secagem dos tubos capilares em estufa;
- d) pesagem dos tubos capilares com óleo essencial;
- e) cálculo das densidades.

A fórmula utilizada para a determinação da densidade relativa foi a seguinte:

$$DR = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

sendo m peso do tubo capilar

m1 peso do tubo capilar com água

m2 peso do tubo capilar com óleo essencial

O valor da densidade relativa para cada amostra de

cada tratamento foi obtido a partir do cálculo da média aritmética das 3 determinações realizadas.

3.7. - DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE REFRAÇÃO

Foi utilizado um refratômetro de ABBÉ, marca AUSJENA-GERMANY, à temperatura de 18°C. O óleo essencial de cada tratamento foi colocado no refratômetro para leitura e após cada leitura, o cristal do aparelho era limpo com xilol. Foram feitas 3 leituras para cada amostra de óleo essencial.

3.8. - DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE SOLUBILIDADE

As amostras foram testadas para verificação da solubilidade em álcool etílico, em concentrações de 80%, 90% e 100%. Para cada 0,1 ml de óleo essencial de cada tratamento, era adicionado o mesmo volume de álcool etílico das referidas concentrações em um tubo de ensaio, que era fortemente agitado. Quando ocorria a total solubilização do óleo essencial, o volume do óleo era anotado. O índice de solubilidade é o número de volumes de solvente em determinada concentração adicionados e necessários para a total solubilização do óleo essencial.

3.9. - DETERMINAÇÃO DO PONTO DE CONGELAMENTO

Foi utilizado um aparelho que constava de um kitassato de 1.000 ml com um tubo de ensaio e um termômetro, acoplado a uma bomba de ar. No interior do kitassato foi colocado cloreto de sódio e éter sulfúrico, até cerca de um quarto de sua capacidade. A intensa aeração provocada pela bomba de ar no éter sulfúrico e cloreto de sódio desencadeava uma reação endotérmica que acabava por diminuir a temperatura. O óleo essencial era colocado dentro do tubo de ensaio que ficava em contato com o éter sulfúrico. Quando havia a cristalização da amostra, era feita a anotação da temperatura. Foram medidas as temperaturas nas 25 amostras de óleo essencial.

3.10. - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Foram feitas em placas de 20 x 20 cm, com sílica gel G, marca Sigma, com espessura de 300 micra. Os óleos essenciais das amostras foram diluídos a 10% com hexano.

Foram utilizadas duas fases móveis, após pesquisa com diversas delas, até a definição das mais adequadas:

- 1) Benzeno 60
- Diclorometano 40
- Metanol 5

2) Hexano - 85

Acetato de etila 15

Quanto aos visualizadores, após testes, foram utilizados os seguintes:

1) vanilina fosfórica 0,1 g de vanilina

6 ml de etanol

4 ml de ácido fosfórico

2) solução de tricloreto de antimônio saturada em clorofórmio (WASICKY, 1963).

Os pontos com óleo foram aplicados com micropipetas nas placas. Foram preparadas 10 placas, duas para cada tratamento, junto com os padrões, que foram posteriormente colocadas nas cubas com as fases móveis, deixadas por cerca de 40 minutos até que atingiram 13,5 cm de altura. Após isso, as placas foram deixadas a secar levemente e em seguida nebulizadas com os visualizadores.

Após a nebulização, as placas voltaram à estufa a 100°C para que a reação química se processasse.

3.11. - CROMATOGRAFIA GASOSA

As amostras foram analisadas com os seguintes

equipamentos e condições:

Cromatógrafo: modelo CG-37, de Instrumentos Científicos CG Ltda.

Coluna: número CG 1504

Fase estacionária: 10% SE 30 C

Suporte: CHR.WHP

Tubo: gás de arraste: N₂ 33 ml/min

Gás articular: H₂ 48 ml/min

Ar: 80 ml/min

Temperatura do detector: 200°C

Temperatura do vaporizador: 200°C

Temperatura da coluna: 130 270°C

Atenuação: 100 x 64

Velocidade do papel: 6 mm/min

Volume injetado: 0,4 microlitro.

Foram utilizados os seguintes padrões de óleos essenciais: a) β-cariofileno; b) geranial; c) neral; d) γ-terpineno; e) p-cimeno; f) mirceno.

V - RESULTADOS

1. - ETAPA AGRONÔMICA

1.1. - ANÁLISE QUÍMICA E GRANULOMÉTRICA DO SOLO

As análises apresentaram os seguintes resultados:

Análise granulométrica:

Areia (%): 44,4

Silte (%): 17,6

Argila (%): 38,0

Tendo sido adotada a escala de Attemberg para definição dos grupos de separados, segundo KIEHL (1979), (areia: de 0,05 a 2,00 mm; silte: de 0,002 a 0,05 mm e argila: menor que 0,002 mm).

Análise química:

pH CaCl ₂	meq/100 cm ³ de solo						ppm	%
	Al ⁺³	H+Al	Ca ⁺² +Mg ⁺²	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺		
0,01 M							P	C
4,7	0,5	3,8	6,8	4,4	2,4	0,2	2	3,5

1.2. - ANÁLISE FOLIAR

Os resultados foram:

N%	P%	K%	Ca%	Mg%	Fe%	Mn ppm	Cu ppm	Zn ppm	B ppm
1,77	0,54	1,28	0,74	0,79	0,97	167	25	57	167

1.3. - ÍNDICES DE PRECIPITAÇÃO E TEMPERATURA

Em dados fornecidos pela Estação meteorológica de Colombo, da Embrapa Centro Nacional de Pesquisas Florestais, os índices foram os seguintes:

mês/ano	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temp. máxima absoluta(°C)	Temp. mínima absoluta(°C)
JAN/90	330,1	22,8	31,1	13,1
FEV/90	125,2	23,7	31,5	8,5
MAR/90	148,8	23,5	31,9	8,7
ABR/90	145,4	21,7	29,5	8,4
MAI/90	90,0	16,7	24,9	(-) 4,8
JUN/90	116,9	15,8	24,5	(-) 2,4
JUL/90	239,3	13,6	23,6	(-) 5,3
AGO/90	131,8	15,2	25,8	(-) 3,8
SET/90	131,2	16,5	30,2	(-) 1,9
OUT/90	153,2	20,9	32,8	6,9
NOV/90	182,0	23,2	33,2	12,0
DEZ/90	65,1	22,5	32,4	6,9
JAN/91	107,9	23,2	32,3	8,1

mês/ano	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temp. máxima absoluta(°C)	Temp. mínima absoluta(°C)
FEV/91	107,3	23,3	31,0	7,0
MAR/91	159,2	21,5	30,0	8,2
ABR/91	44,6	20,4	28,6	5,7
MAI/91	41,5	17,9	25,5	2,1

Com a tabela anterior, foi possível verificar os níveis de precipitação e temperatura, no período do plantio (DEZ/90) até a colheita (ABR E MAI/90).

As tabelas a seguir mostram a precipitação e temperaturas diárias nos meses da colheita:

ABRIL 91:

Dia	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temp. máxima absoluta(°C)	Temp. mínima absoluta(°C)
01	0,0	23,5	26,9	16,5
02	0,1	20,2	22,1	16,4
03	0,0	21,0	24,8	12,6
04	0,0	22,3	26,4	14,9
05	0,0	17,8	18,9	13,8
06	0,0	18,9	21,8	13,0
07	0,0	20,7	25,1	10,2
08	5,1	23,0	26,6	14,1

Dia	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temp. máxima absoluta(°C)	Temp. mínima absoluta(°C)
09	22,1	21,1	22,8	16,7
10	0,0	22,3	26,3	13,6
11	0,0	23,2	26,6	14,6
12	0,0	24,5	27,6	18,2
13	0,0	23,4	27,3	15,1
14	0,0	24,1	27,8	13,1
15	0,0	24,5	28,5	14,9
16	0,0	25,3	28,6	18,0
17	0,0	24,1	28,2	13,1
18	0,0	23,3	25,8	15,9
19	3,1	16,7	17,5	13,9
20	0,2	15,0	16,8	10,3
21	0,0	17,7	20,0	9,6
22	0,0	18,4	23,6	6,6
23	0,0	20,2	24,1	11,7
24	0,5	18,3	19,8	12,5
25	6,0	17,7	20,6	10,3
26	5,1	16,0	19,8	7,2
27	0,0	15,2	18,8	5,7
28	0,0	16,3	20,4	7,2
29	0,0	19,5	22,2	10,7
30	0,0	18,7	21,5	12,7

MAIO 91:

Dia	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temp. máxima absoluta(°C)	Temp. mínima absoluta(°C)
01	0,0	19,5	23,7	10,1
02	0,0	19,4	23,7	9,4
03	0,0	20,3	24,2	10,2
04	0,0	19,5	25,5	6,0
05	1,0	16,8	18,7	11,0
06	4,3	15,2	16,0	11,9
07	7,7	15,2	16,5	12,0
08	2,2	18,4	21,2	11,9
09	0,0	19,1	21,7	9,1
10	0,0	16,9	21,3	7,9
11	0,0	16,5	19,9	6,9
12	0,0	16,8	20,1	7,1
13	0,0	16,4	19,9	8,1
14	11,8	16,3	17,1	13,9
15	14,1	16,6	19,1	10,8
16	0,0	51,0	20,3	3,2
17	0,0	16,6	19,3	10,6
18	0,4	17,8	20,2	12,5
19	0,0	18,7	22,2	8,5
20	0,0	20,0	23,0	12,1
21	0,0	20,6	23,9	13,7

Dia	Preçipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Temp. máxima absoluta(°C)	Temp. mínima absoluta(°C)
22	0,0	18,9	22,0	9,4
23	0,0	16,9	19,5	10,3
24	0,0	17,5	20,9	9,2
25	0,0	18,0	23,4	5,1
26	0,0	18,2	23,3	7,1
27	0,0	19,4	25,3	6,4
28	0,0	20,1	25,1	6,9
29	0,0	18,6	24,5	4,5
30	0,0	17,8	24,7	3,1
31	0,0	17,5	24,0	2,1

1.4. - BIOMASSA

Na colheita, os resultados obtidos foram os seguintes:

Bloco/tratamento	Peso folhas + flores (g)	Peso caule(g)	Peso total(g)
A ₀	1,945	3,360	5,305
A ₁	2,905	5,020	7,925
A ₂	4,785	10,290	15,075
A ₄	4,910	10,975	15,885
A ₈	5,480	12,405	17,885
Sub-total	20,025	42,050	62,075
B ₀	2,848	6,105	8,950
B ₁	3,165	6,835	9,270

Bloco/tratamento	Peso folhas + flores (g)	Peso caule(g)	Peso total(g)
B ₂	3,675	10,425	14,100
B ₄	3,885	14,630	18,515
B ₈	4,185	16,710	21,525
Sub-total	18,385	54,705	73,090
C ₀	2,465	4,785	7,250
C ₁	3,250	8,170	11,420
C ₂	3,430	8,450	11,880
C ₄	4,285	11,170	15,455
C ₈	5,630	14,015	19,645
Sub-total	19,060	46,590	65,650
D ₀	1,820	4,610	6,430
D ₁	2,935	7,840	10,775
D ₂	2,575	8,760	11,335
D ₄	3,625	10,180	13,805
D ₈	2,840	14,700	17,540
Sub-total	13,795	46,090	59,885
E ₀	1,875	5,970	7,845
E ₁	1,980	6,025	8,005
E ₂	3,160	11,270	14,430
E ₄	4,240	13,730	17,970
E ₈	3,830	14,920	18,750
Sub-total	15,085	51,915	67,000
Total geral	86,350	241,350	327,700



Foto 13: tratamento 0 (testemunha) - Bloco B.



Foto 14: tratamento 1 - Bloco B.



Foto 15: tratamento 2 - Bloco B.



Foto 16: tratamento 4 - Bloco B.



Foto 17: tratamento 8 Bloco B.



Foto 18: aspecto geral da área de plantio, ao lado de milharal. Plaquetas de madeira indicam os canteiros.

De onde se obtiveram as seguintes médias por tratamento:

Bloco/tratamento	Peso folhas (g)	Peso caule(g)	Peso total(g)
0	2,190	4,966	7,156
1	2,847	6,778	9,625
2	3,525	9,839	13,364
4	4,189	12,137	16,326
8	4,519	14,550	19,069

Já os resultados obtidos através dos testes laboratoriais foram os seguintes:

2. - ETAPA FITOQUÍMICA

2.1. - PESQUISA OLFATIVA

Resultado positivo, constatado pelo forte odor característico despreendido das folhas frescas, quando esmagadas entre os dedos.

2.2. - RENDIMENTO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Após a extração os resultados foram os seguintes:

Bloco/tratamento	Rendimento (ml/g x 100%)
A ₀	0,3798
A ₁	0,3445
A ₂	0,2882
A ₄	0,2994
A ₈	0,2716
B ₀	0,3114
B ₁	0,3118
B ₂	0,3238
B ₄	0,2658
B ₈	0,2515
C ₀	0,3146
C ₁	0,2912
C ₂	0,2891
C ₄	0,2706
C ₈	0,2447
D ₀	0,3129
D ₁	0,2728
D ₂	0,2955
D ₄	0,2552
D ₈	0,2678
E ₀	0,3101
E ₁	0,3035
E ₂	0,2836
E ₄	0,2521
E ₈	0,2457

Médias do rendimento por tratamento (em ml/g x 100%):

T₀ = 0,3257
T₁ = 0,3047
T₂ = 0,2960
T₄ = 0,2686
T₈ = 0,2562

2.3. - DENSIDADE RELATIVA

Bloco/tratamento

A ₀	0,8713
A ₁	0,8714
A ₂	0,8770
A ₄	0,8779
A ₈	0,9802
B ₀	0,9298
B ₁	0,8735
B ₂	0,8826
B ₄	0,8736
B ₈	0,8647
C ₀	0,8796
C ₁	0,8832
C ₂	0,8859
C ₄	0,8859
C ₈	0,9257
D ₀	0,8816
D ₁	0,8990
D ₂	0,9395
D ₄	0,9203
D ₈	0,8828
E ₀	0,8755
E ₁	0,8809
E ₂	0,9478
E ₄	0,8870
E ₈	0,9439

Tratamento	Média	Intervalo
0	0,8875	0,8713 - 0,9298
1	0,8816	0,8714 - 0,8990
2	0,9065	0,8770 - 0,9478
4	0,8889	0,8736 - 0,9203
8	0,9014	0,8647 - 0,9439

2.4. - ÍNDICE DE REFRAÇÃO

Os dados obtidos foram:

Bloco/tratamento

A ₀	1,474
A ₁	1,473
A ₂	1,473
A ₄	1,474
A ₈	1,468
B ₀	1,470
B ₁	1,476
B ₂	1,475
B ₄	1,475
B ₈	1,478
C ₀	1,476
C ₁	1,475
C ₂	1,475
C ₄	1,477
C ₈	1,479
D ₀	1,474
D ₁	1,478
D ₂	1,476
D ₄	1,479
D ₈	1,479
E ₀	1,475
E ₁	1,476
E ₂	1,479
E ₄	1,476
E ₈	1,479

Tratamento	Média	Intervalo
0	1,474	1,470 - 1,476
1	1,476	1,473 - 1,478
2	1,476	1,473 - 1,479
4	1,476	1,474 - 1,479
8	1,477	1,468 - 1,479

2.5. - ÍNDICE DE SOLUBILIDADE

Foram obtidos os seguintes resultados (em números de volumes):

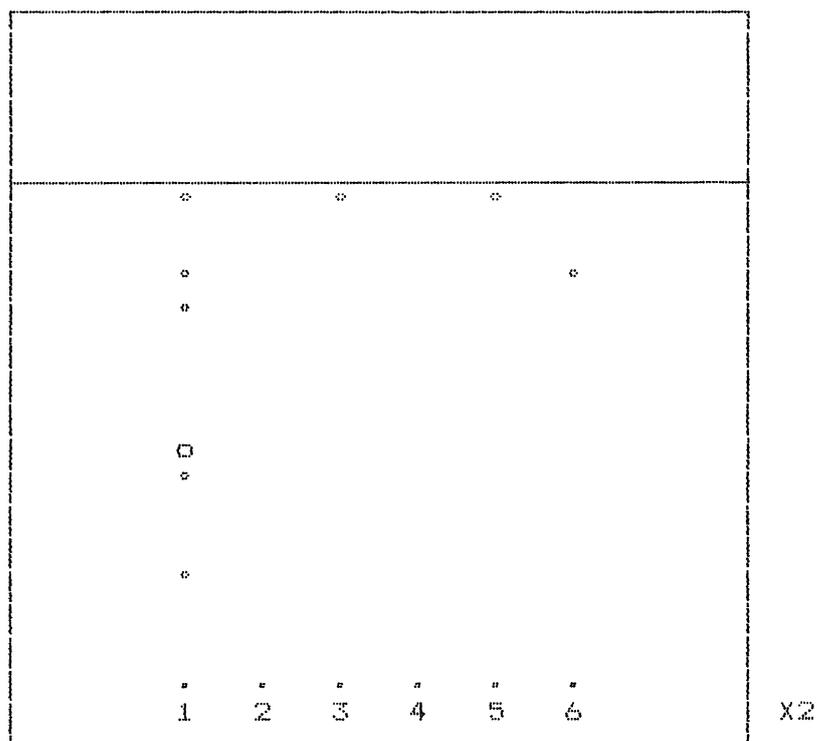
Bloco/tratamento	Concentração de etanol		
	100%	90%	80%
A ₀	01	03	04
A ₁	01	03	04
A ₂	01	03	04
A ₄	01	03	04
A ₈	01	03	04
B ₀	01	03	04
B ₁	01	03	04
B ₂	01	03	04
B ₄	01	03	04
B ₈	01	03	04
C ₀	01	03	04
C ₁	01	03	04
C ₂	01	03	04
C ₄	01	03	04
C ₈	01	03	04
D ₀	01	03	04
D ₁	01	03	04
D ₂	01	03	04
D ₄	01	03	04
D ₈	01	03	04
E ₀	01	03	04
E ₁	01	03	04
E ₂	01	03	04
E ₄	01	03	04
E ₈	01	03	04

2.6. - PONTO DE CONGELAMENTO

Realizados os testes com as 25 amostras de óleo essencial, estas não se congelaram até a temperatura de (-) 13°C.

2.7. - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

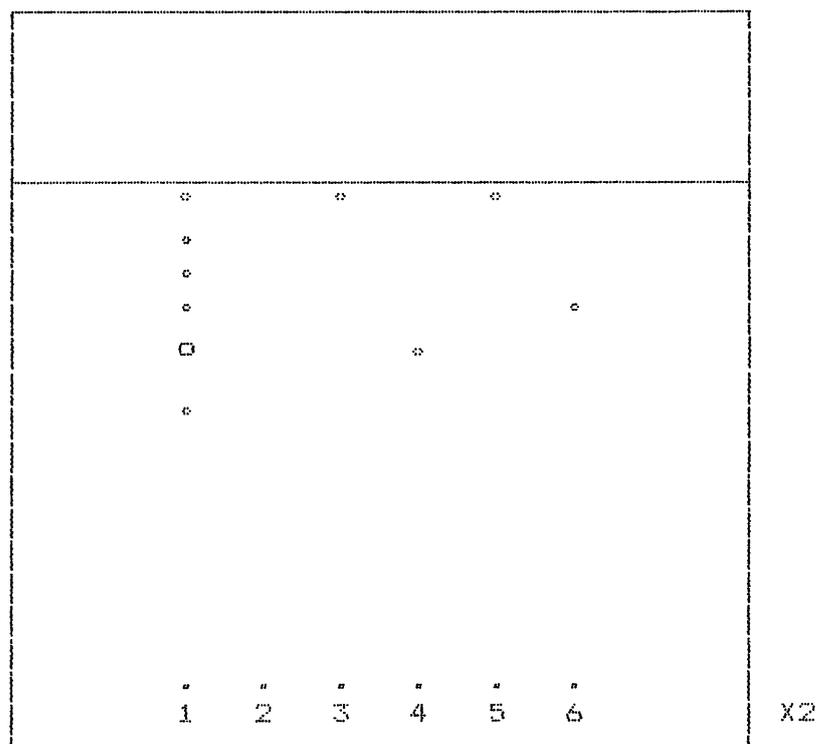
Os resultados obtidos foram os seguintes para a fase móvel benzeno, diclorometano e metanol (60,40,5), visualizado com vanilina fosfórica, desenvolvido em 13,5 cm:



	Rf	COR
1 - amostra	----	---
2 - p-cimeno	----	não visualizada
3 - mirceno	0,96	lilás acinzentado
4 - γ -terpineno	0,61	verde acinzentado
5 - β -cariofileno	0,96	lilás forte
6 - citral	0,83	marrom claro

NÃO foi possível visualizar o p-cimeno e os Rf de mirceno e β -cariofileno, foram os mesmos, mudando apenas a cor.

Para a fase móvel hexano e acetato de etila (85,15), visualizado com vanilina fosfórica, com 13,5 cm de desenvolvimento, os resultados foram:



	Rf	COR
1 - amostra	----	---
2 - p-cimeno	----	não visualizada
3 - mirceno	0,96	lilás acinzentado
4 - γ -terpineno	0,61	verde azulado
5 - β -cariofileno	0,96	lilás forte
6 - citral	0,74	marrom acinzentado

Também não foi possível visualizar o p-cimeno e os Rf de mirceno e β -cariofileno foram iguais, mudando apenas as cores.

Em função da não visualização de p-cimeno, foi realizada nova cromatografia, e usando como fase móvel hexano e acetato de etila (85,15), como visualizador uma solução de tricloreto de antimônio com clorofórmio saturada (WASICKY, 1963), e desenvolvimento de 13,5 cm, os resultados foram:

°	
°	
°	
o	°
°	
°	
.	.
1	2

	Rf	COR
1 amostra	----	----
2 - p-cimeno	0,42	lilás acinzentado

2.8. - CROMATOGRAFIA GASOSA

Os resultados da cromatografia gasosa mostraram os seguintes dados:

Tratamentos	β - cariofileno	geranial	neral	γ - terpineno	p- cimeno	mirreno
A ₀	8,26	0,64	0,24	47,96	7,45	0,96
A ₁	7,76	0,58	0,23	49,45	8,73	1,70
A ₂	7,46	0,76	0,43	50,21	8,19	1,31
A ₄	8,50	0,27	0,18	47,40	10,02	1,82
A ₈	8,99	0,70	0,35	41,40	10,39	1,75
B ₀	0,37	0,37	0,61	57,91	9,87	0,49
B ₁	8,63	1,00	0,44	46,03	7,03	0,89
B ₂	8,53	0,44	0,35	45,90	10,77	2,00
B ₄	9,15	0,76	0,69	40,55	9,35	1,93
B ₈	11,20	0,40	0,40	40,07	10,07	2,83
C ₀	9,21	0,55	0,22	50,42	9,28	1,29
C ₁	9,74	0,41	0,41	45,94	10,87	1,91
C ₂	9,70	0,40	0,40	46,04	10,68	1,32
C ₄	10,99	0,82	0,38	40,25	8,85	1,29
C ₈	3,77	0,52	0,20	47,74	8,04	1,04
D ₀	7,84	0,83	0,41	51,66	7,38	0,83

Tratamentos	β - cariofileno	geranial	neral	τ - terpineno	p- cimeno	mirreno
D ₁	8,88	0,65	0,52	44,14	6,96	0,69
D ₂	1,16	0,85	0,58	51,89	8,44	0,93
D ₄	2,82	0,55	0,44	56,48	7,73	0,89
D ₈	10,34	2,08	0,40	34,64	5,53	1,20
E ₀	8,56	0,69	0,29	48,48	8,10	1,64
E ₁	7,69	0,36	0,28	47,13	7,45	1,44
E ₂	1,73	0,86	0,40	46,80	9,42	0,86
E ₄	7,43	0,75	0,59	45,90	7,31	0,90
E ₈	1,95	0,97	0,47	43,55	8,58	0,45

As médias obtidas nos tratamentos foram:

Tratamentos	β - cariofileno	geranial	neral	τ - terpineno	p- cimeno	mirreno
T ₀	6,85	0,62	0,35	51,29	8,42	1,04
T ₁	8,54	0,60	0,38	46,54	8,21	1,33
T ₂	5,72	0,66	0,43	48,15	9,54	1,40
T ₄	7,78	0,63	0,46	46,12	8,59	1,37
T ₈	7,25	0,95	0,36	41,48	8,52	1,45

VI - DISCUSSÃO

Foram dadas também, duas abordagens na discussão dos resultados, sendo uma na etapa agronômica e outra na etapa fitoquímica.

1. - ETAPA AGRONÔMICA

O solo da área apresentou as características de cambissolo álico referidas, conforme resultados das análises químicas e físicas realizadas.

Na granulometria, a porcentagem da fração silte (17,6%) e argila (38,0%) indicou uma relação de 0,46, mostrando uma das características dos cambissolos, além de se ter a fração areia alta, atestando o pequeno grau de intemperismo nos minerais do solo. Apesar de não ter sido feita a granulometria em cada um dos horizontes do solo, esses dados permitiram verificar suas principais características.

Com relação à análise química, os resultados foram analisados conforme níveis em OLEYNIK et alii (1989):

pH do solo: 4,7 (CaCl₂ 0,01 m) alta acidez.

Cátions trocáveis (em meq/100 cm³ solo):

- Al⁺³ + H₄1 = 3,8 : alto

Ca⁺² + Mg⁺² = 6,8 : alto

- Ca⁺² = 4,4 : alto

Mg⁺² = 2,4 : alto

K⁺ = 0,12 : médio

Fósforo estável (em ppm de P):

- P = 2,0 : baixo

Carbono (em %):

- C = 3,5 : alto

Esses dados confirmam que a área já havia sido calcareada, mantendo altos no solo os níveis de Ca^{+2} e Mg^{+2} .

Os resultados obtidos na colheita permitiram avaliar o incremento de biomassa foliar, floral e caulinar quando incorporados diferentes e crescentes teores de matéria orgânica em relação ao tratamento testemunha (T_0), observados na seguinte tabela (em %):

Tratamento	Folhas + flores	Caule	Total
T_8/T_0	106,34	192,99	166,47
T_4/T_0	91,27	142,40	128,14
T_2/T_0	60,95	98,12	86,75
T_1/T_0	30,00	36,48	34,50

Como o teor de óleo essencial encontrado no caule é bem reduzido, conforme GOMES (1990), também pelo fato de as indicações populares utilizarem folhas e flores e no comércio a parte vendida são as folhas e flores, fez-se apenas a discussão dos dados relativos a essas partes.

O aumento de biomassa foi determinado pela introdução de elementos minerais da matéria orgânica e dos existentes no solo, além da melhoria de suas condições físicas biológicas, decorrentes da incorporação de matéria orgânica. O acréscimo de 106,34% do tratamento 8 com relação a testemunha, reflete

bem essa situação.

A análise estatística realizada sobre os resultados obtidos na biomassa de folhas e flores, utilizando o programa SYSTAT para microcomputadores, verificou que havia homogeneidade das variâncias dos tratamentos ($\chi^2 = 5,972^{NS}$, não significativo), a partir da seguinte tabela, em g:

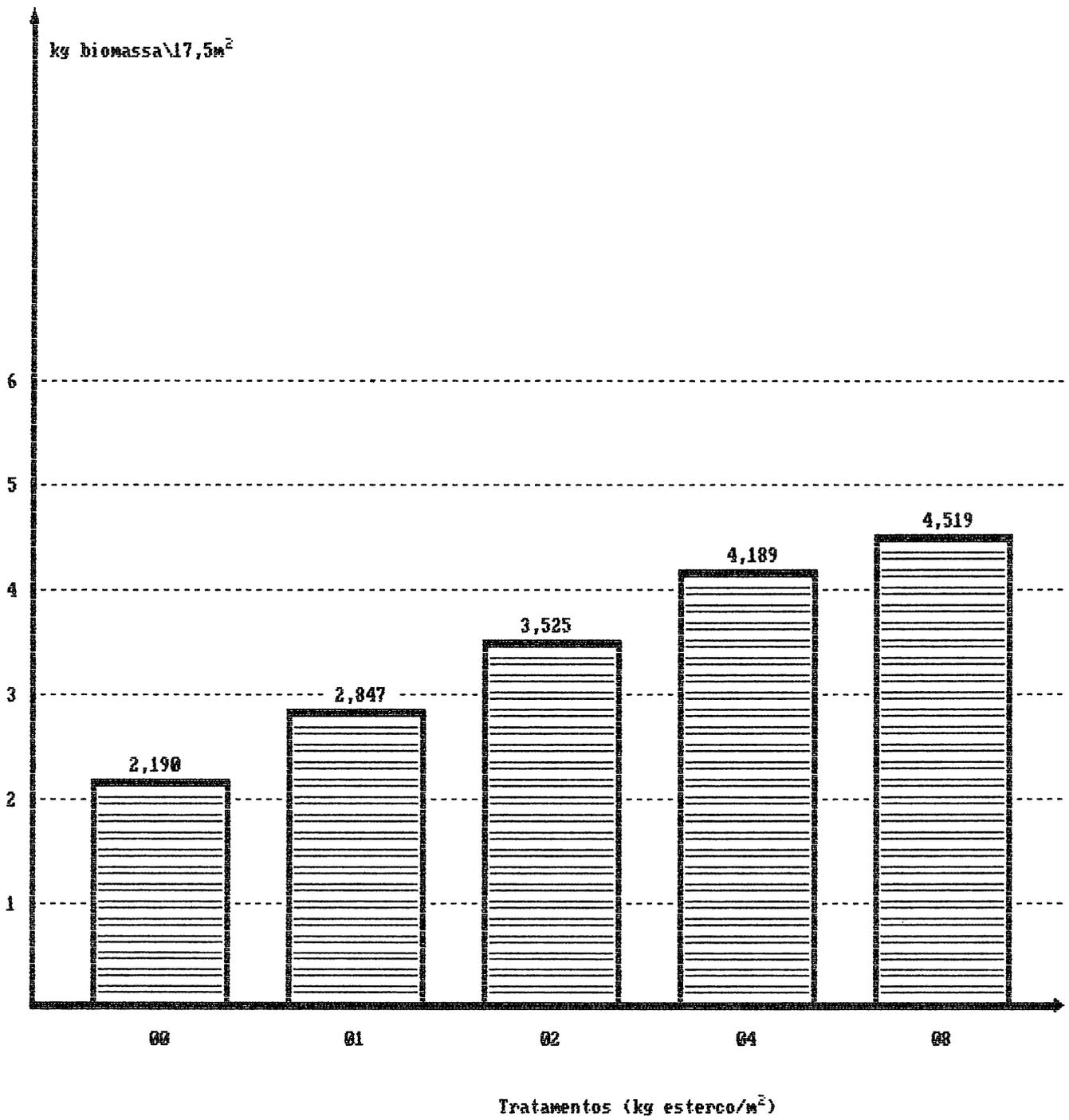
Tratamento	Blocos				
	A	B	C	D	E
0	1.945	2.845	2.465	1.820	1.875
1	2.905	3.165	3.250	2.935	1.980
2	4.785	3.675	3.430	2.575	3.160
4	4.910	3.885	4.285	3.625	4.240
8	5.480	4.815	5.630	2.840	3.830

A análise de variância dos dados mostrou o seguinte:

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	04	5,7770	1,4440	4,456 ^{NS}
Tratamentos	04	18,2280	4,5570	14,06 ^{**}
Erro	16	5,1860	0,3240	—
Total	24	29,1910	—	—

Onde: GL = grau de liberdade
 SQ = soma dos quadrados
 QM = quadrado médio
 F = coeficiente
 NS = não significativo
 ** = significativo a 1%

Figura 3: efeito da adubação orgânica na produção de biomassa foliar e floral de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br., Verbenaceae.



Os resultados da análise de variância mostraram que as diferenças de biomassa obtidas foram devidas aos tratamentos (14,06**) e não devido aos blocos (4,456^{NS}).

Os resultados do teste de Tukey (5%), para a biomassa de folhas e flores foram:

Tratamento	Média	Teste de médias
T ₀	2,190	C
T ₁	2,847	B C
T ₂	3,525	A B
T ₄	4,189	A
T ₈	4,519	A

onde $\sigma = 1,03096$

A tabela mostra que não há diferença estatística significativa entre a biomassa de T₀ e T₁, apesar do acréscimo de 30% de T₁ sobre T₀. Mostra ainda que há diferença significativa entre T₀ e T₂, mas não há entre T₁ e T₂. Entre os tratamentos T₂, T₄ e T₈, não há diferença estatística significativa, mesmo havendo acréscimo de 28,19% de T₈ em relação a T₂, ou seja, mesmo sendo obtida a maior biomassa, o tratamento T₈ não difere estatisticamente de T₄ e T₂.

Outras variáveis técnicas como custo da matéria orgânica, frete, mão de obra, devem ser levadas em consideração numa análise econômica, para se determinar a

recomendação mais adequada de adubação orgânica.

Outro aspecto observado foi a diminuição da biomassa foliar e floral à medida em que se passava mais tempo para a época da colheita. Embora não fosse o objetivo a análise desse parâmetro, pode-se observar algumas indicações. Na colheita do bloco A (realizada no dia 25/04) foi obtida a produção de 20,025 kg de folhas e flores, na do bloco B e C (07/05) foram obtidas produções de 18,385 e 19,060 kg respectivamente, na do bloco D (18/05) foi obtida a produção de 13,795 kg e na do bloco E (25/05) foi obtida a produção de 15,085 kg.

Essa situação pode ser explicada pelo desenvolvimento fisiológico da planta, que emite folhas em processo contínuo, havendo maturação e posterior senescência das folhas mais velhas, que acabam por secar ou cair dos ramos, diminuindo a biomassa obtida.

Isso implica então necessariamente num ajuste de época de colheita, que deve ser realizada antes da senescência das folhas mais velhas, aumentando a biomassa e também o teor de óleo essencial.

Sobre o rendimento de óleo, a análise estatística, também utilizando o programa SYSTAT, verificou que havia homogeneidade das variâncias dos tratamentos ($\chi^2 = 3,935^{NS}$, não significativo), a partir da seguinte tabela:

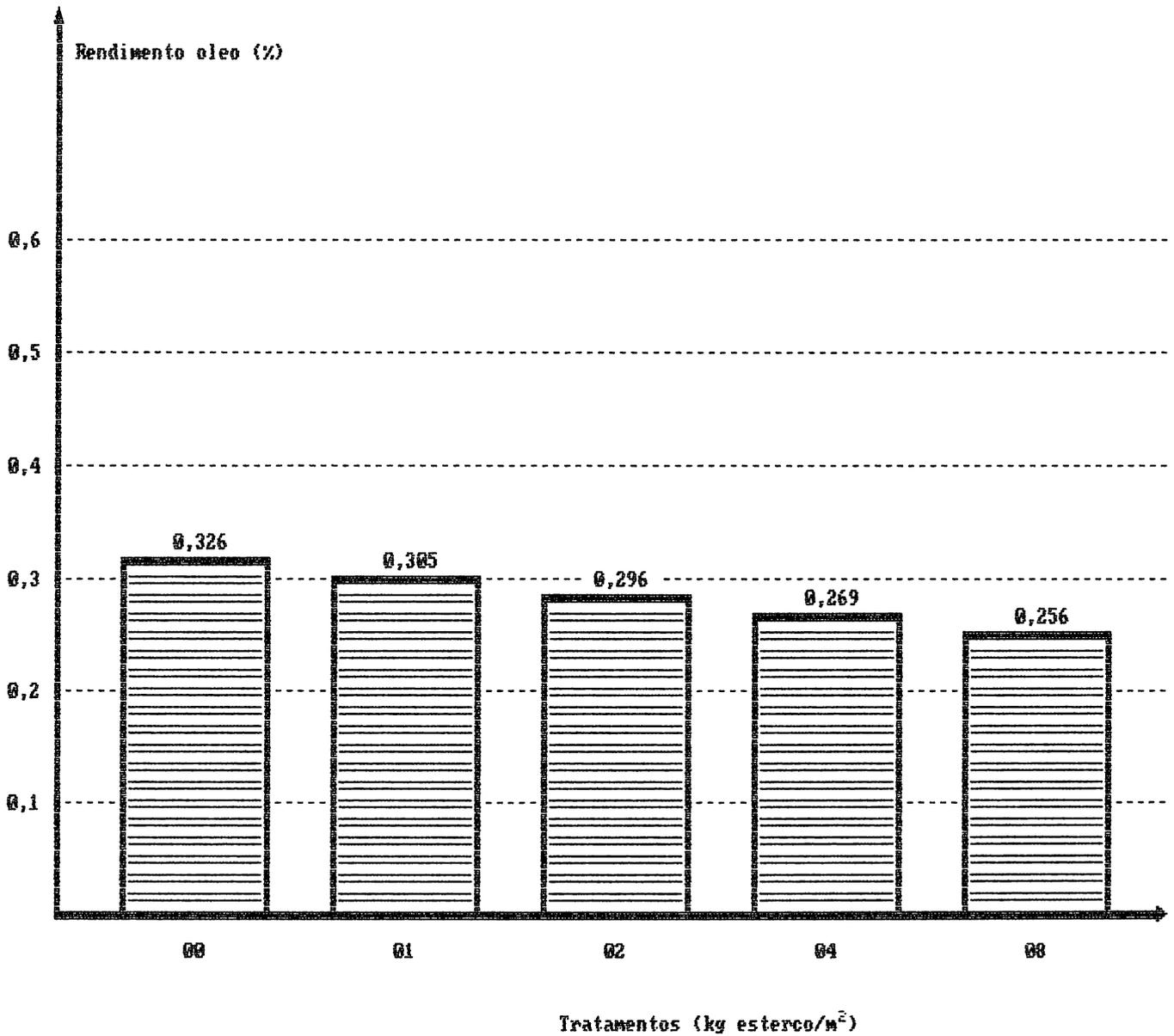
Tratamento	Blocos				
	A	B	C	D	E
0	0,3798	0,3114	0,3146	0,3129	0,3101
1	0,3445	0,3118	0,2912	0,2728	0,3035
2	0,2882	0,3238	0,2891	0,2955	0,2836
4	0,2994	0,2658	0,2706	0,2552	0,2521
8	0,2716	0,2515	0,2447	0,2678	0,2457

A análise de variância dos dados mostrou o seguinte:

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	04	0,0050	0,0010	4,266 ^{NS}
Tratamentos	04	0,0016	0,0040	13,49 ^{**}
Erro	16	0,0050	0,000312	————
Total	24	0,0116	————	————

Onde: GL = grau de liberdade
SQ = soma dos quadrados
QM = quadrado médio
F = coeficiente
NS = não significativo
** = significativo a 1%

Figura 4: efeito da adubação orgânica sobre o teor de óleo essencial de folhas e flores de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br., Verbenaceae.



Os resultados mostram que as diferenças de rendimento de óleo obtidas foram devidas aos tratamentos e não aos blocos.

No teste Tukey (5%), os resultados do rendimento do óleo foram:

Tratamento	Média	Teste de médias
T ₀	0,326	A
T ₁	0,305	A
T ₂	0,296	A B
T ₄	0,269	B C
T ₈	0,256	C

onde $\alpha = 0,03201$

A tabela mostra que não há diferença significativa entre os rendimentos de óleo do tratamento T₄ e T₈, mas que há entre o T₈ e T₂, quando houve um decréscimo de 15,62%. Os tratamentos T₂ e T₄ também não mantêm entre si, diferença estatística significativa. Já entre os tratamentos T₄ e T₁, houve diferença estatística significativa, com decréscimo de 13,38%. Os tratamentos T₀, T₁ e T₂ não mantêm entre si, diferença estatística significativa.

Os resultados do rendimento de óleo mostraram uma diferenciação conforme o tratamento, porém numa relação

inversa aos da biomassa. À medida em que se aumentava a quantidade de matéria orgânica incorporada no solo, o teor de óleo diminuía conforme observado na tabela das médias e nesta tabela com os percentuais de decréscimos dos diversos tratamentos com relação à testemunha:

$$T_0/T_8 = 28,50$$

$$T_0/T_4 = 25,92$$

$$T_0/T_2 = 15,47$$

$$T_0/T_1 = 9,83$$

Esse aumento de teor de óleo essencial produzido pela planta, maior em planta menos adubada, apesar de aparentar uma contradição, refletiu uma resposta fisiológica a uma variação ambiental (nutrientes no solo), conforme GOTTLIEB (1985), e ALMEIDA (1988), ou seja, o óleo essencial cumpre um papel fundamental na defesa da planta, com maior sintetização quando em ambiente menos favorável. Quando em ambiente mais favorável, a planta não teria "tanta necessidade" de se defender, diminuindo a produção de óleo.

No que concerne à senescência das folhas, nessa situação a produção de óleo essencial cessa e também é reciclado para as porções mais jovens da planta, conforme VICKERY & VICKERY (1981), diminuindo o teor desse composto nas folhas, conforme pode ser observado na tabela a seguir, com a média de teores de óleo por bloco (em %), que foram colhidas

em épocas diferentes, com intervalo de 28 dias da primeira colheita (25/04 bloco A) para a última (23/05 bloco E):

Bloco A = 0,3157

Bloco B = 0,2928

Bloco C = 0,2820

Bloco D = 0,2808

Bloco E = 0,2790

Verificou-se que o espaço de tempo de cerca de 5 meses, do plantio até a colheita, foi muito longo, ocorrendo senescência de folhas e diminuição de teor de óleo e biomassa, havendo necessidade de se realizar a colheita em menor espaço de tempo a partir do plantio.

Assim como nos resultados de biomassa, os rendimentos de óleo também indicaram que devem ser levadas em consideração outras variáveis técnicas, incluindo a biomassa floral e foliar produzida, para recomendação da adubação orgânica.

2. - ETAPA FITOQUÍMICA

Na etapa fitoquímica, alguns aspectos mereceram atenção. A pesquisa olfativa confirmou a presença de óleos essenciais nas folhas, bastante voláteis, com odor característico. Testes de coloração feitos com SUDAN III

(GOMES et alii, 1990) confirmaram a presença desses compostos nas folhas.

A densidade relativa mostrou uma pequena variação observada através das médias dos tratamentos, conforme é mostrado a seguir:

$$T_0 = 0,8875$$

$$T_1 = 0,8816$$

$$T_2 = 0,9065$$

$$T_4 = 0,8889$$

$$T_8 = 0,9014$$

Essa variação foi devida às modificações nas composições dos óleos essenciais, conforme as densidades relativas dos diversos componentes de cada um dos óleos. Observando as densidades relativas de mircenol (0,8013); α -terpineno (0,8375); p-cimeno (0,8570); citral (0,8880) e β -cariofileno (0,9090) foi possível deduzir que quando as concentrações desses diferentes compostos variaram nos óleos essenciais, suas respectivas densidades também variaram. As densidades relativas encontram-se dentro dos limites citados na literatura (FESTER et alii, 1958; CRAVEIRO et alii, 1981; CRAVEIRO et alii, 1981/82 e GOMES et alii, 1990).

O índice de refração também apresentou uma pequena variação (de 1,468 a 1,479), dentro também dos limites citados

na literatura (FESTER et alii, 1958 e GOMES et alii, 1990). Isso foi devido, à semelhança da densidade, da variação na composição dos óleos essenciais. As variações nas concentrações dos compostos e seus respectivos índices de refração, fizeram variar os índices de refração dos óleos, pois α -terpineno = 1,4784; citral = 1,4880; β -cariofileno 1,5016; mirceno = 1,4650 e p-cimeno = 1,4917.

Os índices de solubilidade, em diferentes concentrações de etanol, estavam também nos limites citados na literatura a respeito de óleos essenciais encontrados em *Lippia citriodora* e em outros gêneros (GUENTHER, 1948; LOPES et alii, 1975; COSTA, 1986 e TYLER et alii, 1989).

A determinação do ponto de congelamento não foi possível ser plenamente realizada pois o equipamento utilizado alcançou apenas a temperatura de (-) 13°C, ponto onde nenhuma das 25 amostras de óleo congelou, servindo, apesar disso, como um dado referencial para outros trabalhos.

Na cromatografia em camada delgada, foi possível se observar em todas as amostras de óleo, 6 manchas mais nítidas, algumas delas representavam misturas de compostos cujos componentes não foram possíveis de serem separadas pela semelhança de polaridade com relação às fases móveis utilizadas. Com o uso dos padrões, foi possível a identificação de algumas destas manchas. O mirceno e o β -

cariofileno, com o mesmo Rf, só puderam ser identificados na cromatografia gasosa, o p-cimeno, só foi visualizado com o uso de tricloreto de antimônio em clorofórmio como revelador. Os valores dos Rf foram compatíveis com os citados por WASICKY, (1963).

Os resultados obtidos na cromatografia gasosa mostraram concentrações diversas nos diferentes componentes quando comparados com as citadas em bibliografia (FESTER, 1958; CRAVEIRO et alii, 1981; CRAVEIRO et alii, 1981/82; CRAVEIRO et alii, 1987 e GOMES et alii, 1990). Essa situação é explicada pela grande plasticidade fenotípica da espécie, quando em condições ambientais diferentes.

Como foi possível obter apenas 6 padrões para identificação em cromatografia gasosa, muitos picos, alguns deles significativos em alguns tratamentos, não foram identificados, dificultando uma análise mais concreta das modificações havidas nas composições dos diversos óleos essenciais. Além do mais, a falta da análise estatística dos resultados obtidos nas alterações das concentrações dos componentes dos óleos (que não era objetivo do trabalho) não permitiu afirmações conclusivas nesse aspecto, apenas menções indicativas.

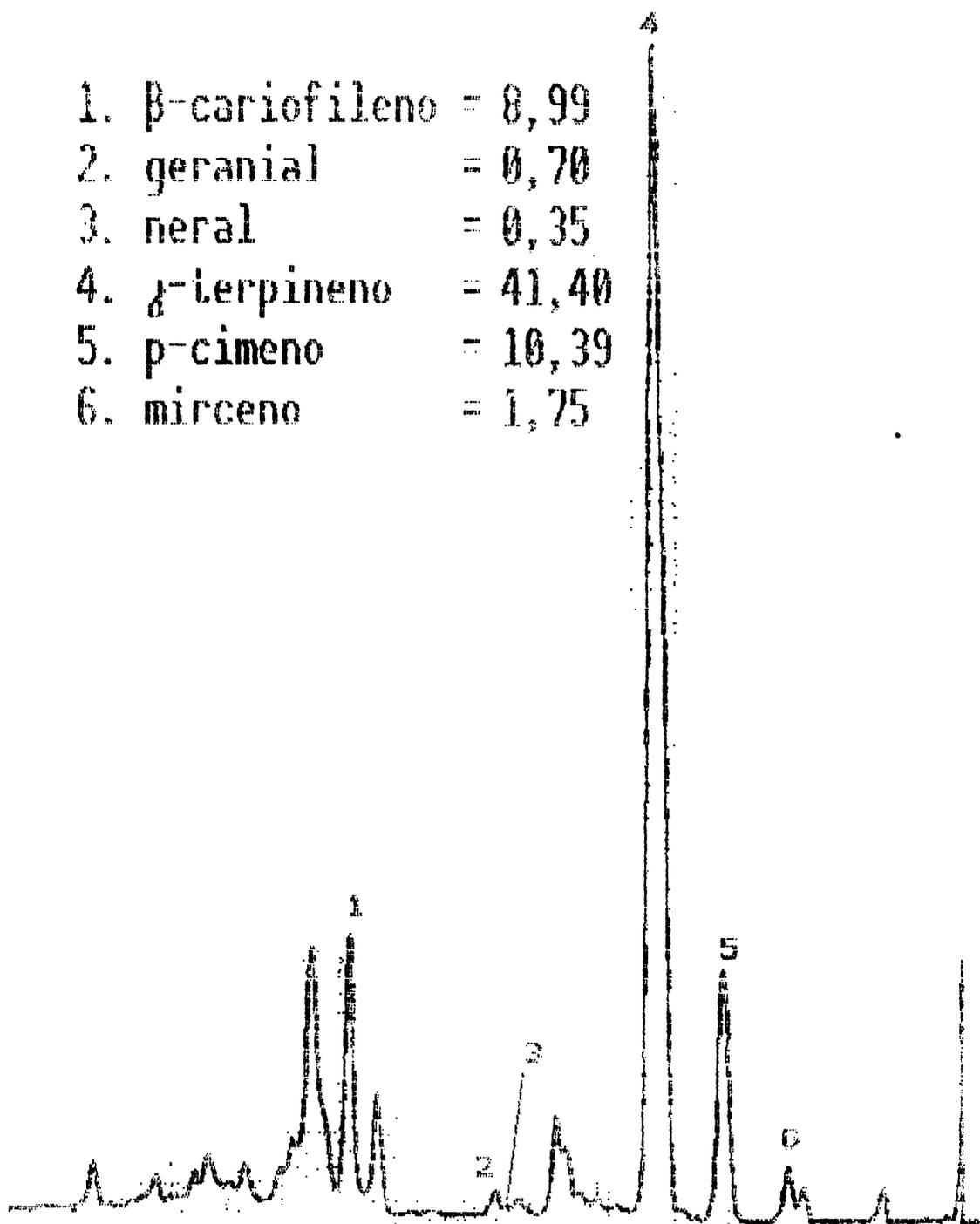
Isto posto, a média dos tratamentos indicou as seguintes concentrações: β -cariofileno (7,22%); geraniol

(0,69%); neral (0,39%); γ -terpineno (46,71%), p-cimeno (8,65%) e mirceno (1,31%), perfazendo 65% dos componentes dos óleos.

Não foi possível também fazer qualquer espécie de consideração a respeito da biossíntese dos diversos componentes dos óleos em adubação orgânica diferenciada, mesmo sendo observadas diferenças. Apesar dos modelos teóricos de biossíntese de óleos essenciais (HARBORNE, 1973, LOBO, 1976, GEISSMAN & CROUT, 1978 e TYLER et alii, 1968) situações específicas ainda não estão plenamente esclarecidas.

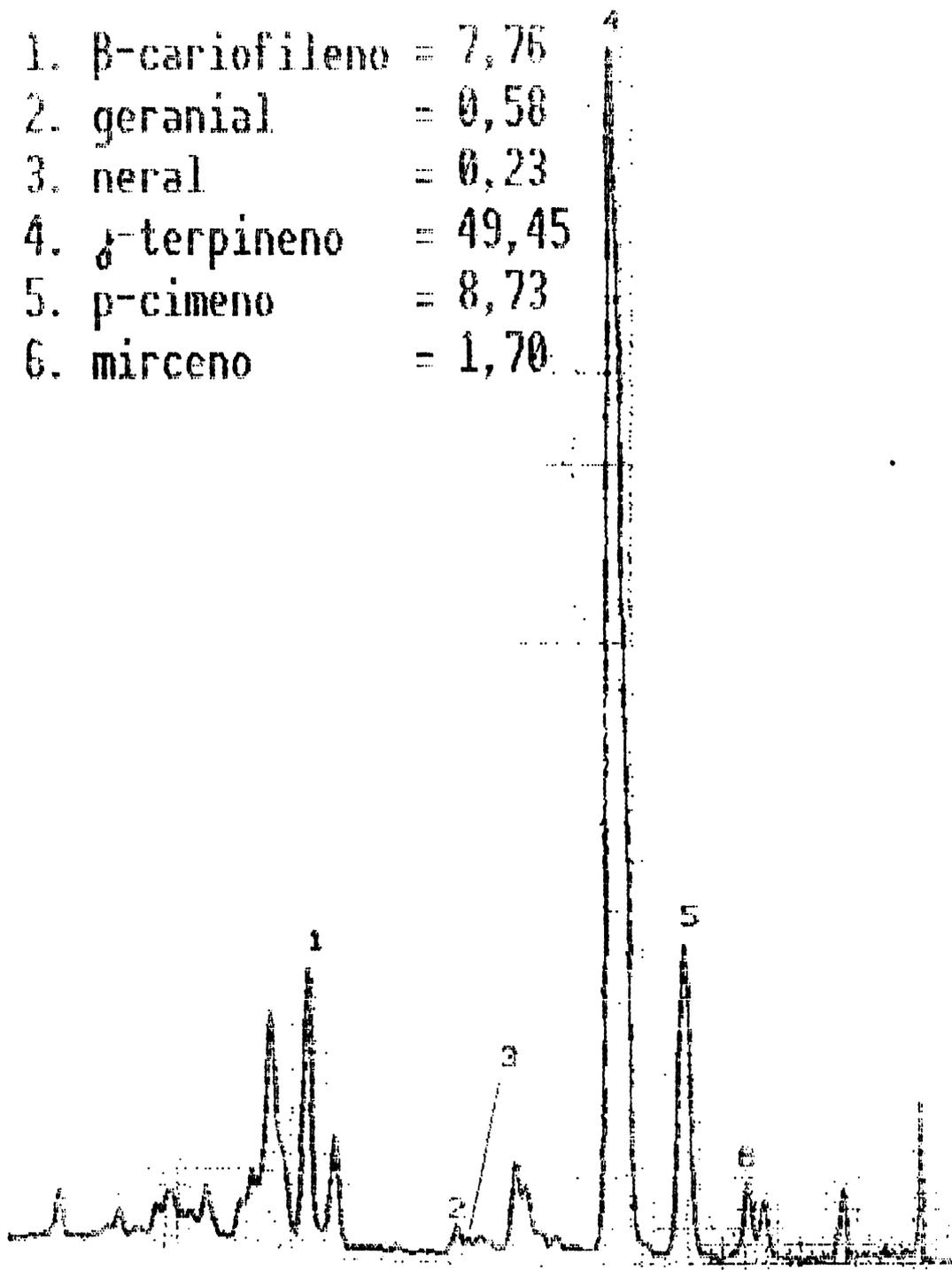
A0

1. β -cariofileno = 8,99
2. geranial = 0,70
3. neral = 0,35
4. δ -terpineno = 41,40
5. p-cimeno = 10,39
6. mirreno = 1,75



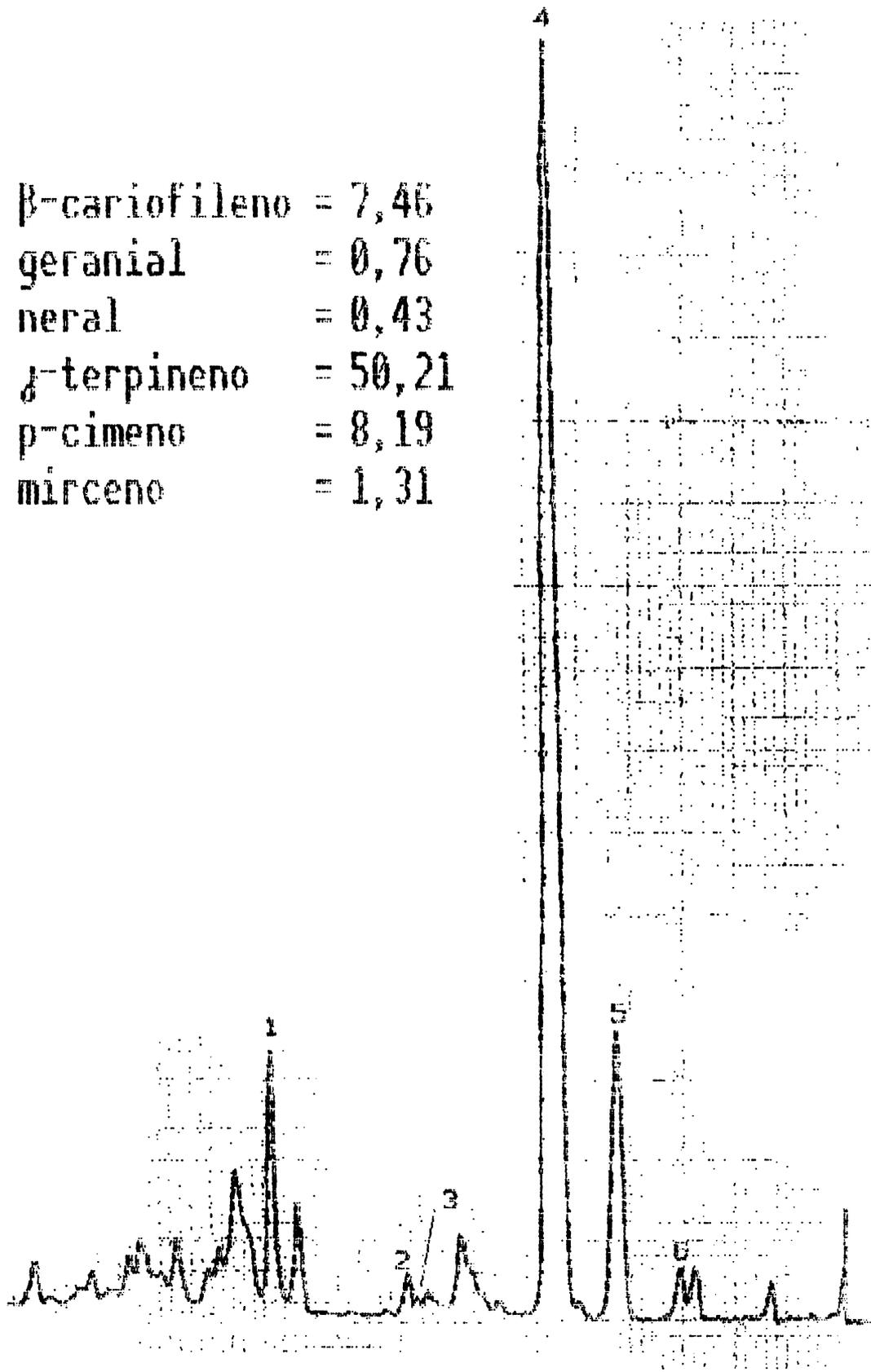
A1

1. β -cariofileno = 7,76
2. geranial = 0,58
3. neral = 0,23
4. δ -terpineno = 49,45
5. p-cimeno = 8,73
6. mirceno = 1,70



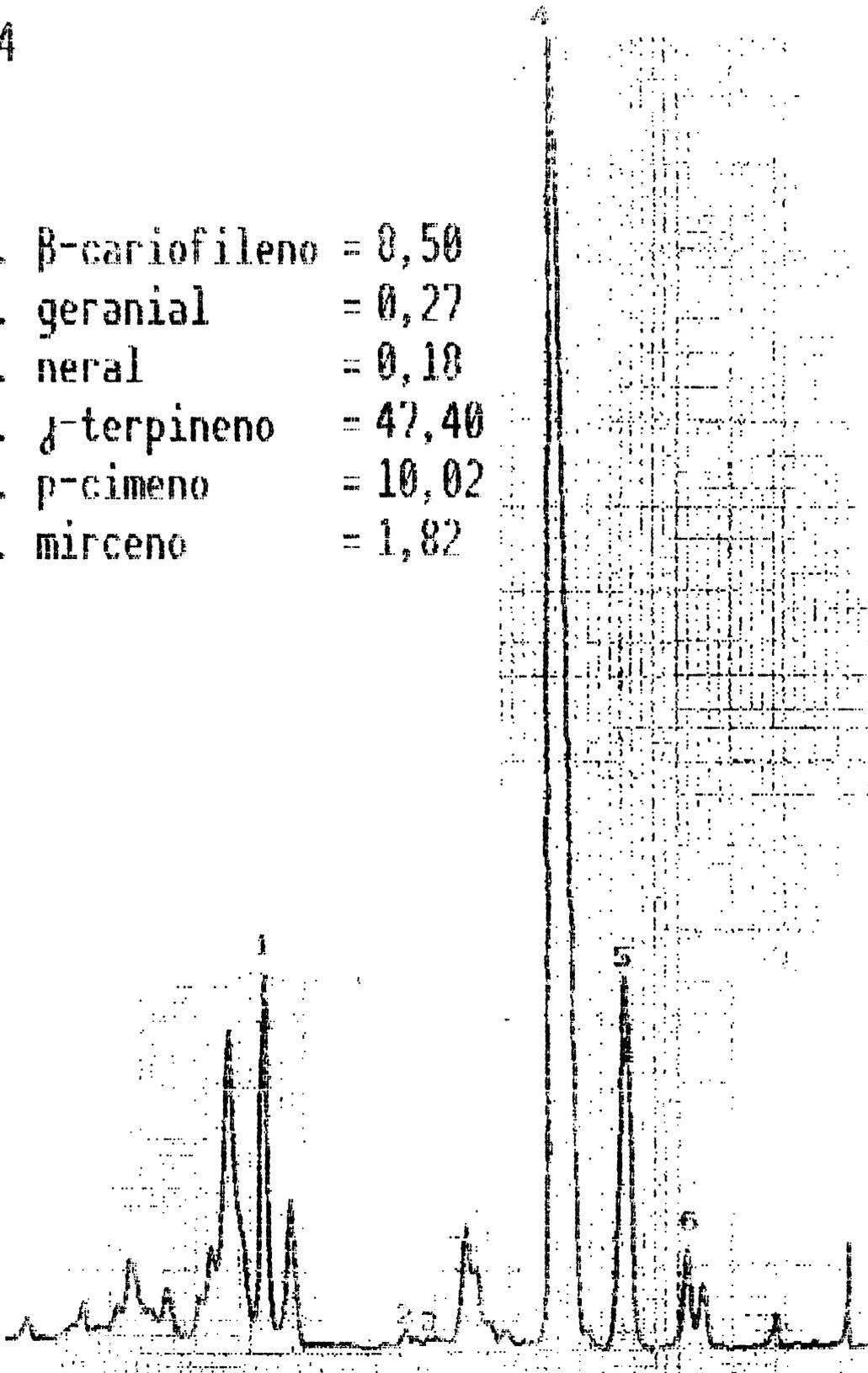
A2

1. β -cariofileno = 7,46
2. geranial = 0,76
3. neral = 0,43
4. β -terpineno = 50,21
5. p-cimeno = 8,19
6. mirceno = 1,31



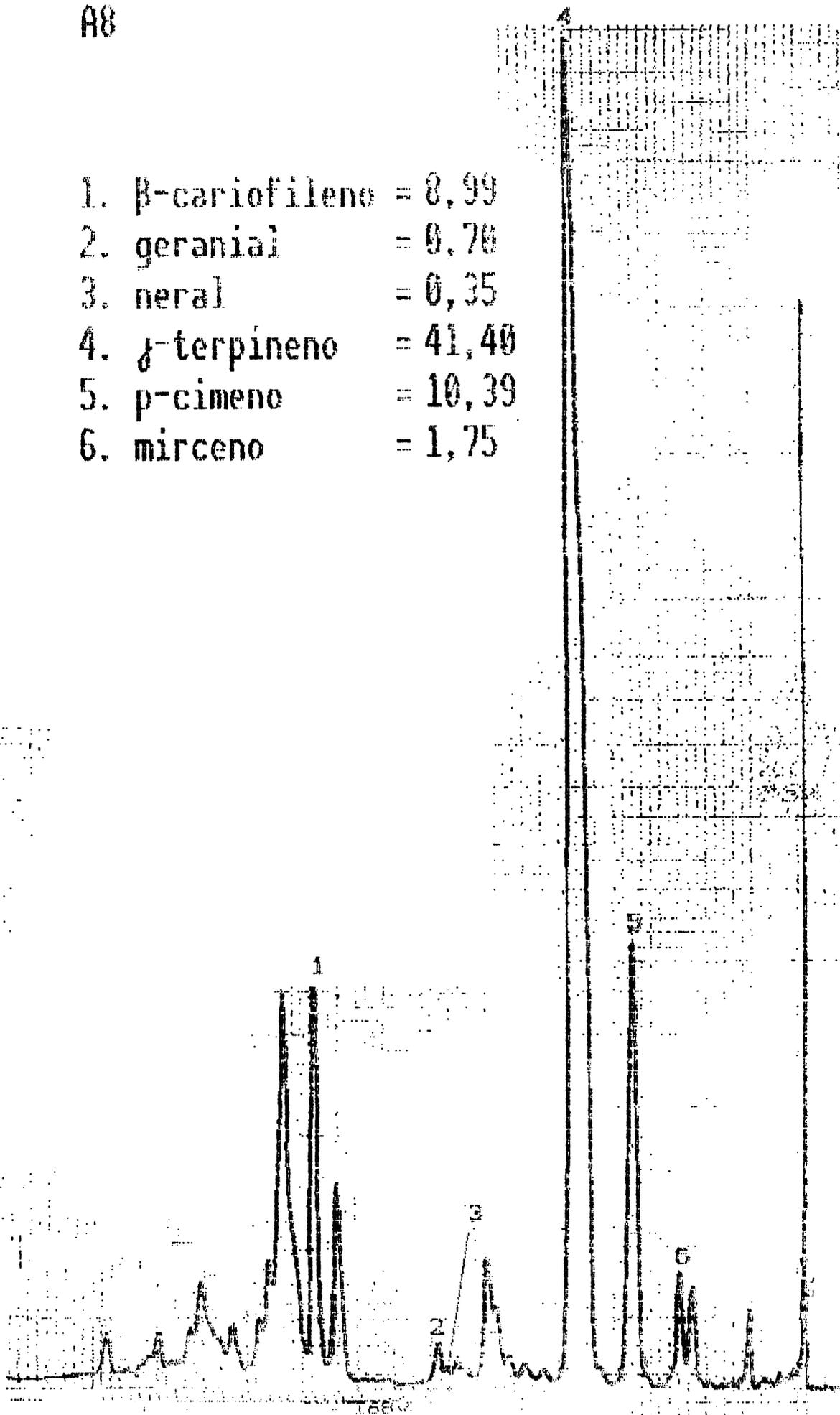
A4

1. β -cariofileno = 0,50
2. geranial = 0,27
3. neral = 0,18
4. δ -terpineno = 47,40
5. p-cimeno = 10,02
6. mirceno = 1,82



A8

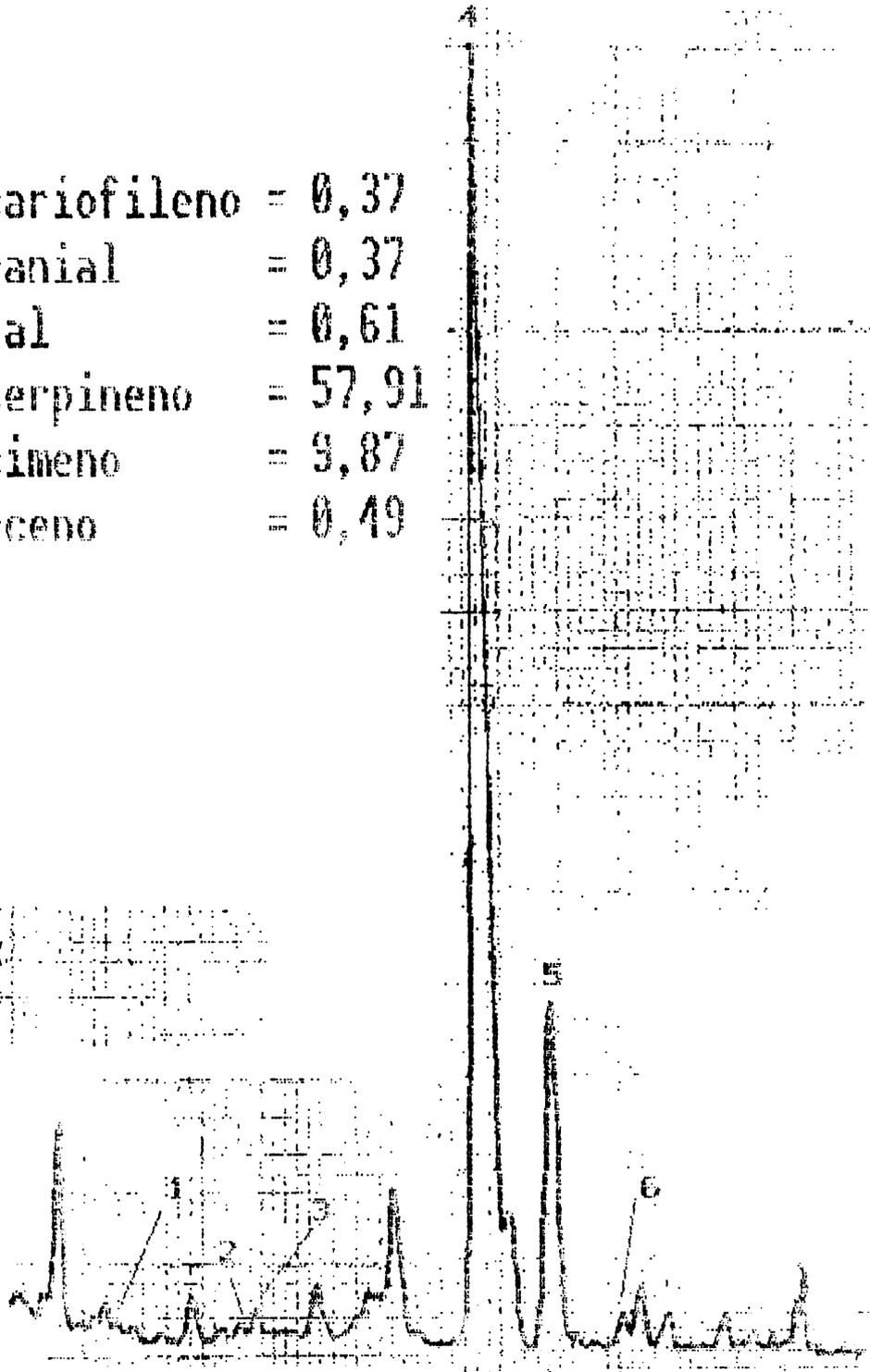
1. β -cariofileno = 8,99
2. geranial = 0,70
3. neral = 0,35
4. δ -terpineno = 41,40
5. p-cimeno = 10,39
6. mirceno = 1,75



Time

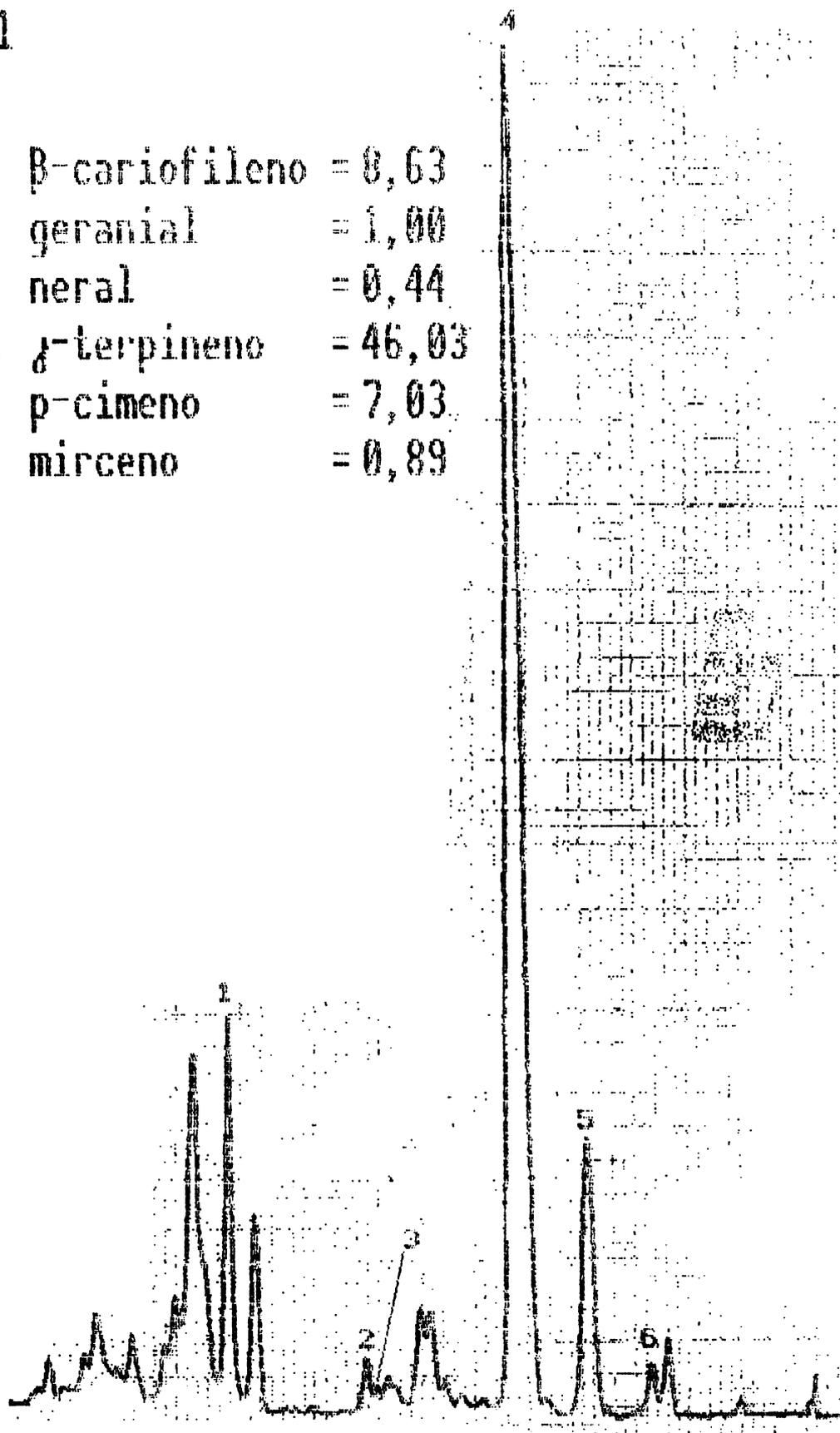
B0

1. β -cariofileno = 0,37
2. geranial = 0,37
3. neral = 0,61
4. β -terpineno = 57,91
5. p-cimeno = 9,87
6. mirreno = 0,49



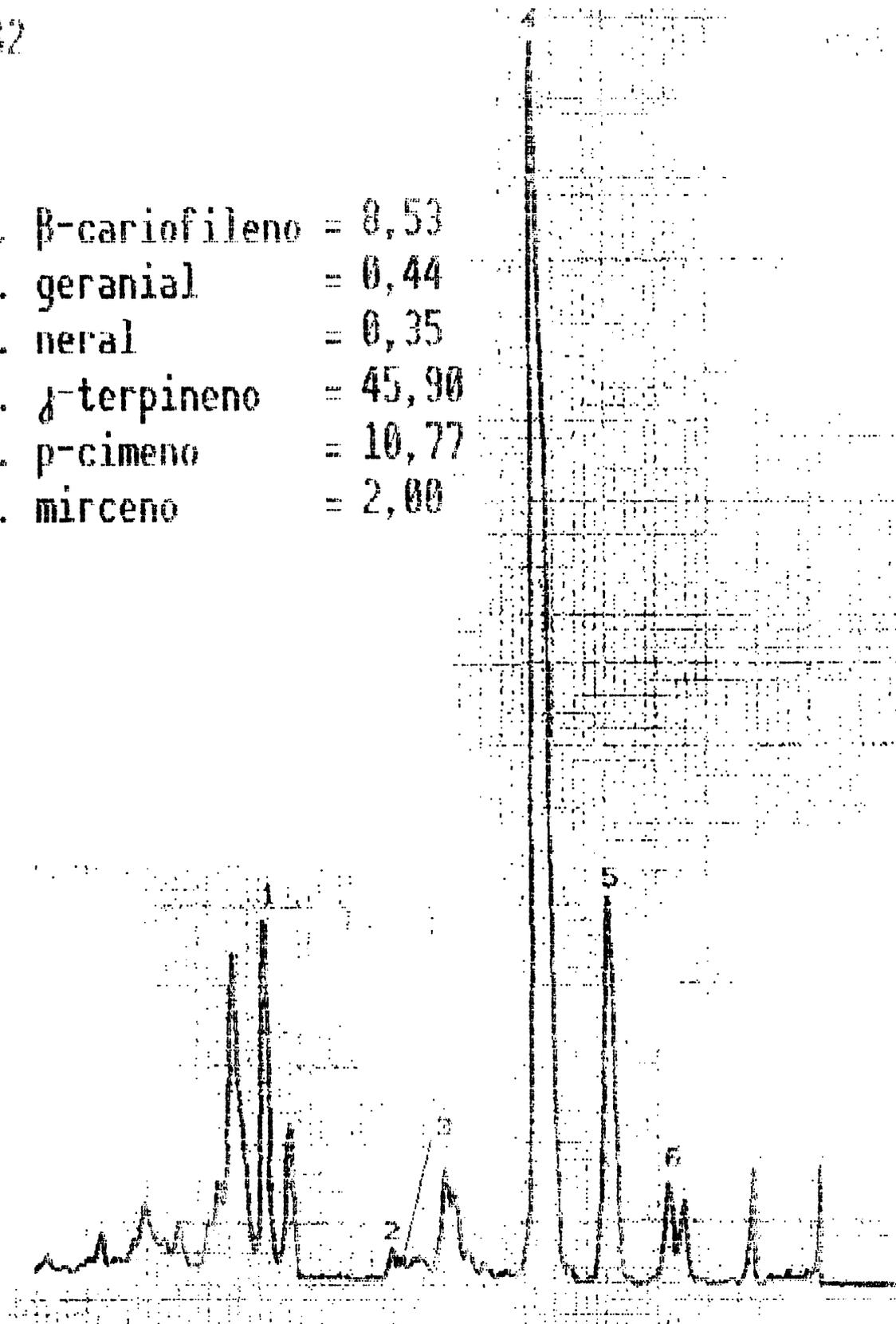
B1

1. β -cariofileno = 8,63
2. geranial = 1,00
3. neral = 0,44
4. δ -terpineno = 46,03
5. p-cimeno = 7,03
6. mirreno = 0,89



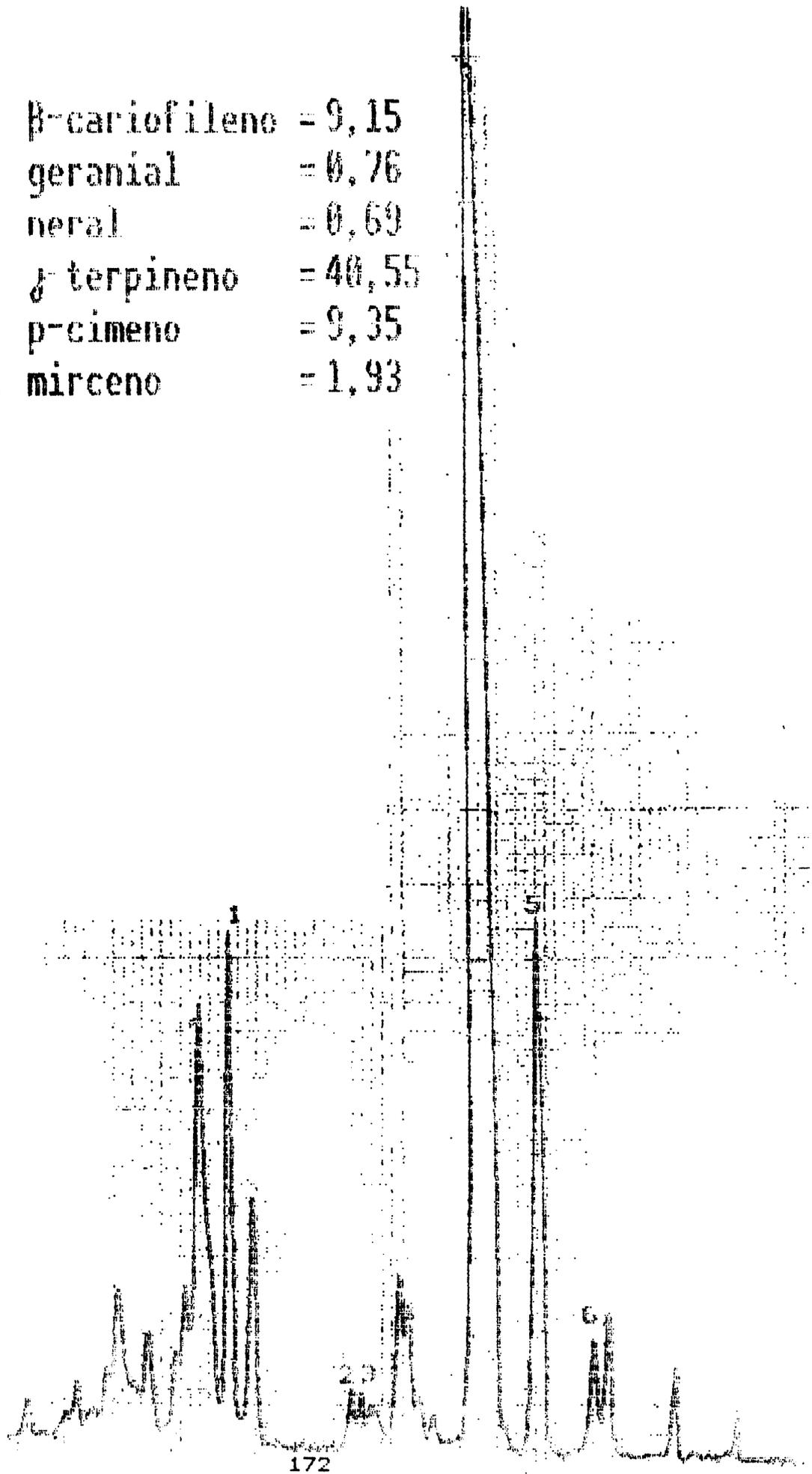
B2

1. β -cariofileno = 8,53
2. geranial = 0,44
3. neral = 0,35
4. δ -terpineno = 45,90
5. p-cimeno = 10,77
6. mirceno = 2,00



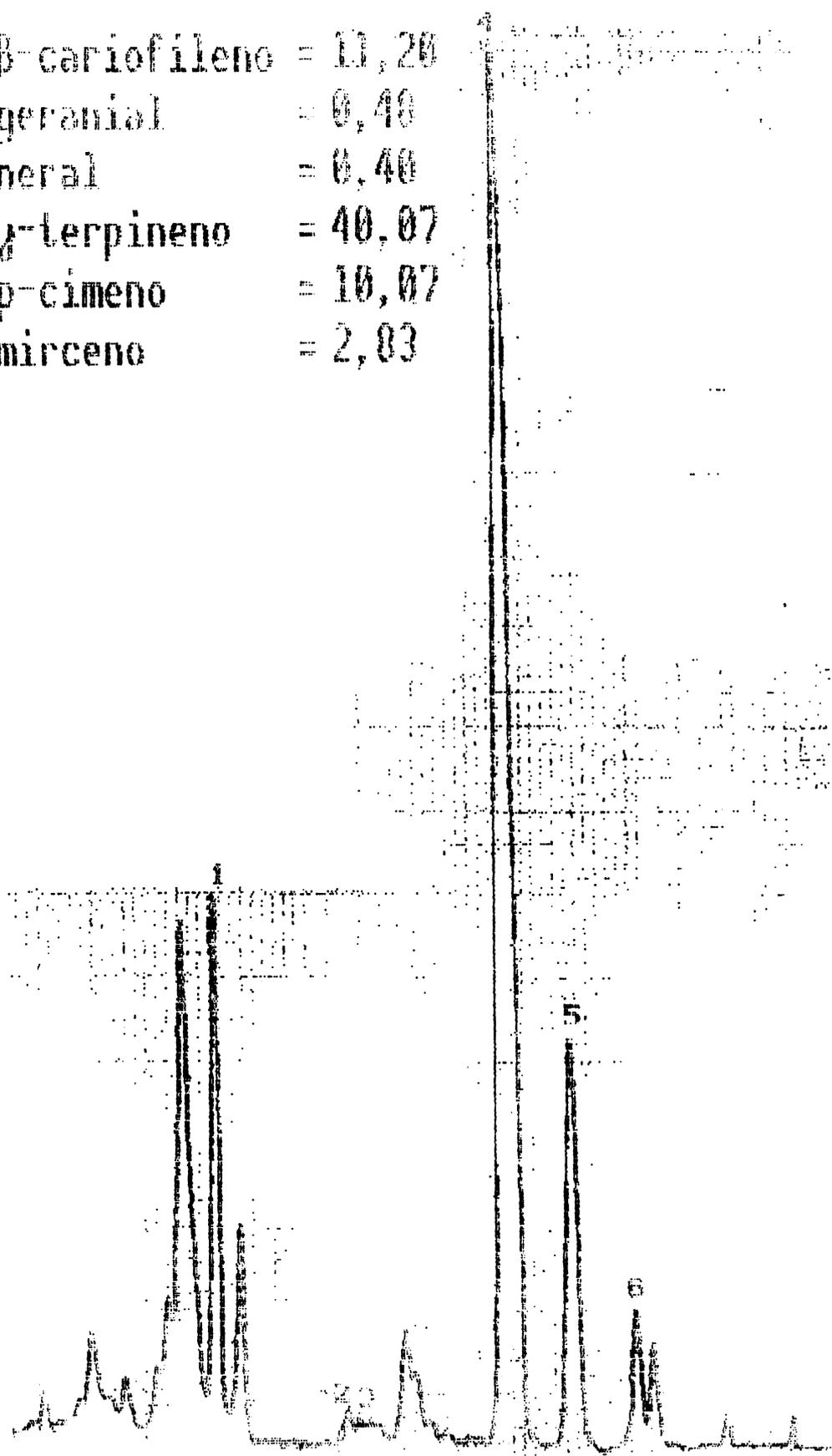
B4

1. β -cariofileno = 9,15
2. geranial = 0,76
3. neral = 0,69
4. γ -terpineno = 40,55
5. p-cimeno = 9,35
6. mirceno = 1,93



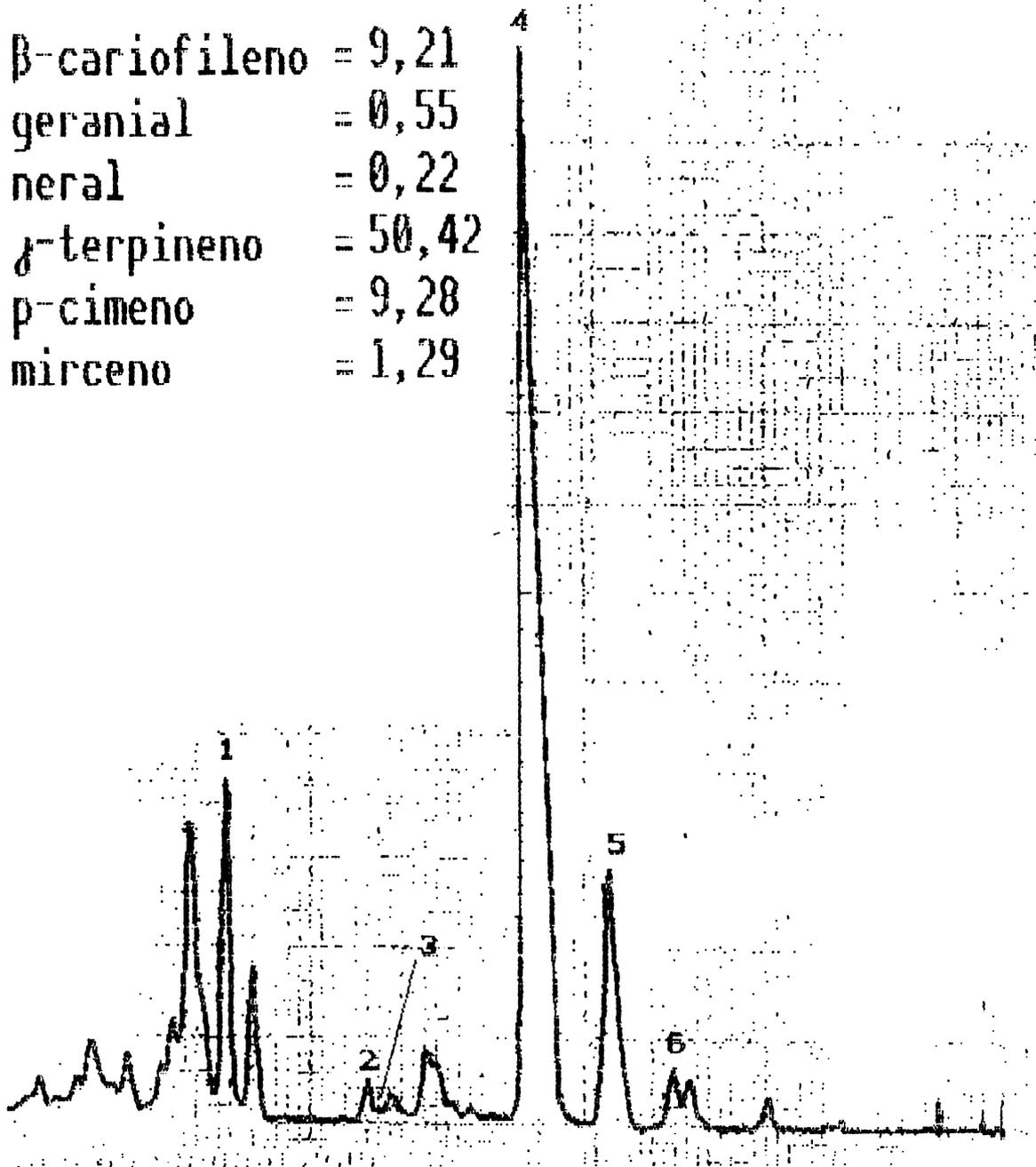
B8

1. β -cariofileno = 11,20
2. geranial = 0,40
3. neral = 0,40
4. δ -terpineno = 40,07
5. p-cimeno = 10,07
6. mirceno = 2,83



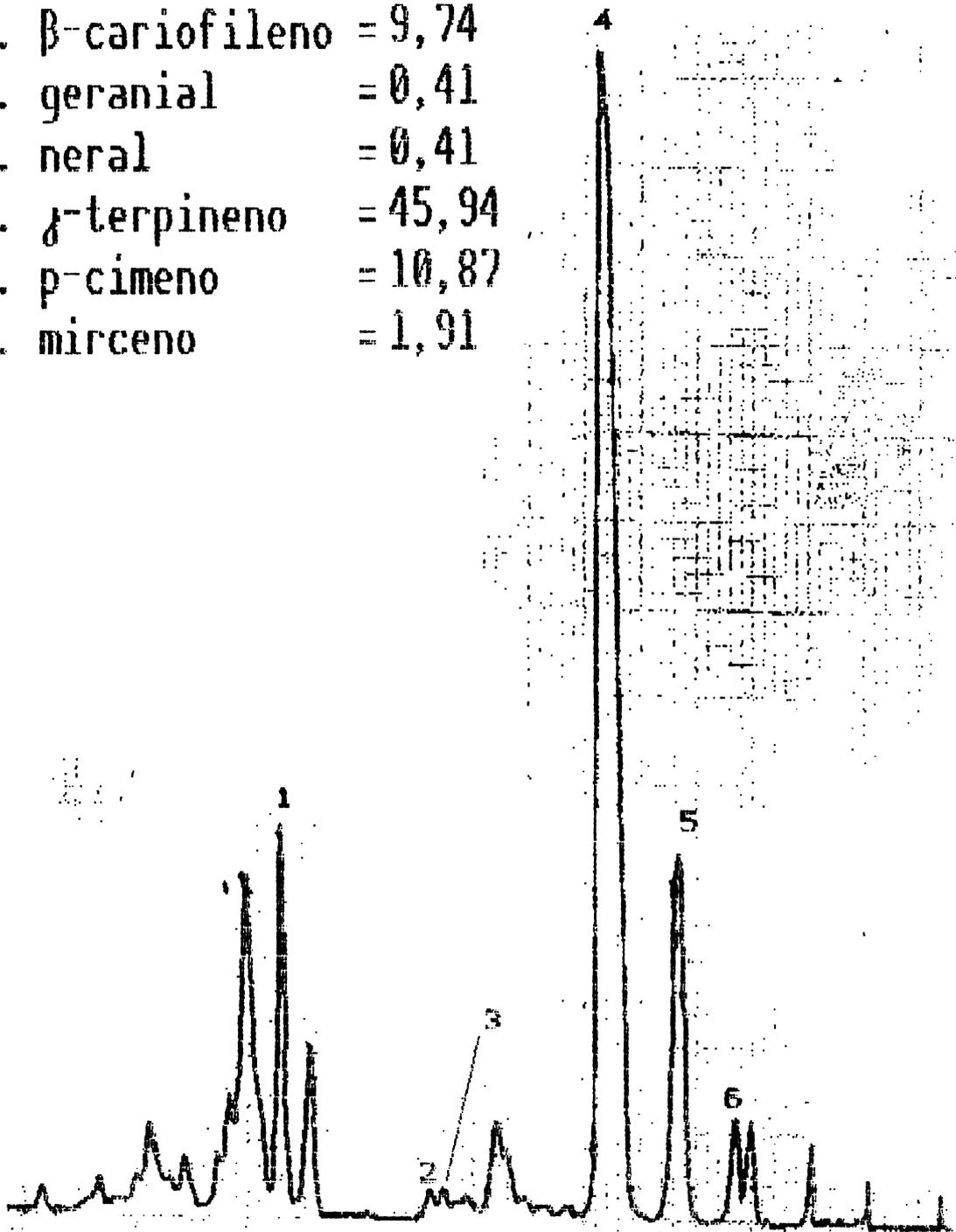
C0

1. β -cariofileno = 9,21
2. geranial = 0,55
3. neral = 0,22
4. δ -terpineno = 50,42
5. p-cimeno = 9,28
6. mirreno = 1,29



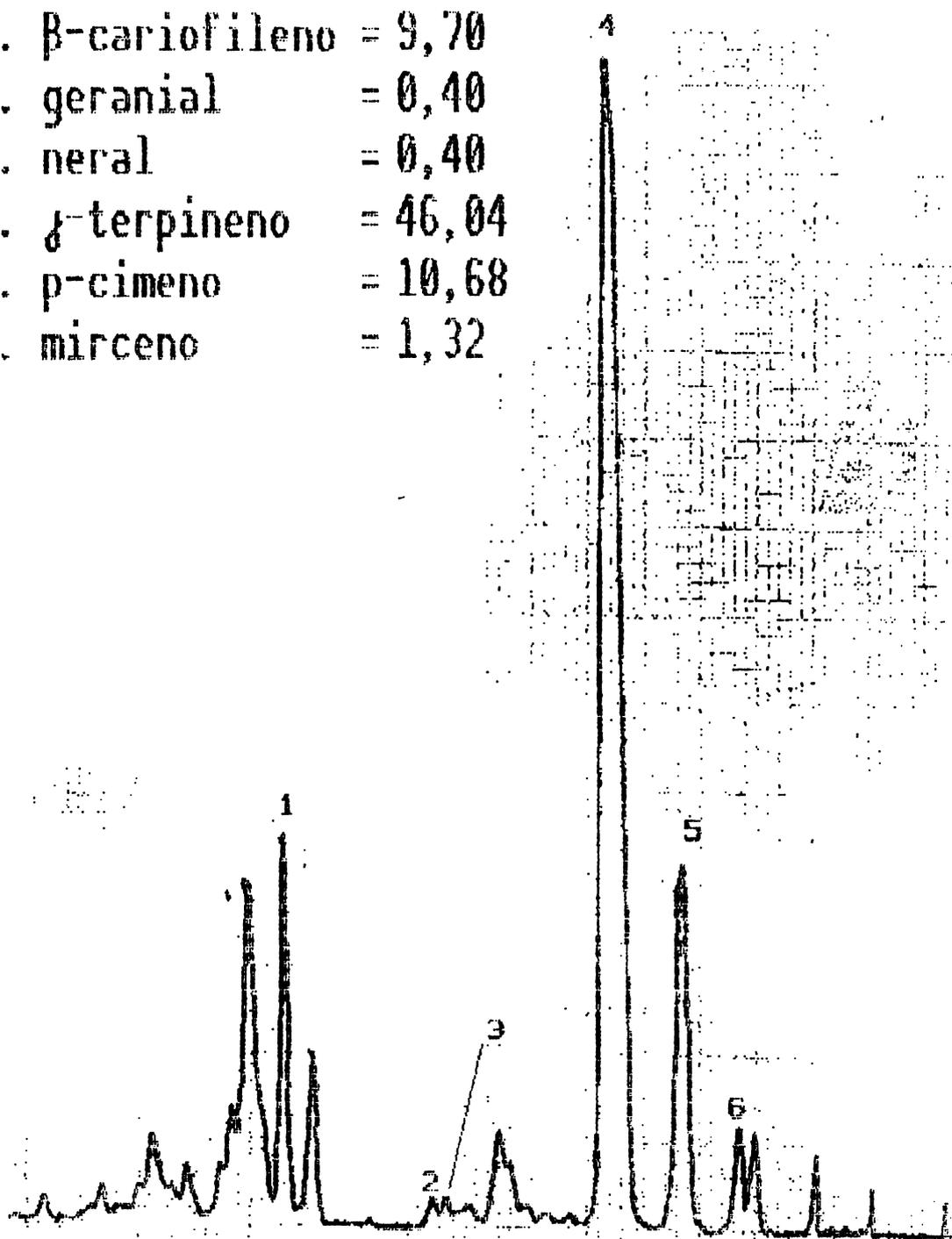
C1

1. β -cariofileno = 9,74
2. geranial = 0,41
3. neral = 0,41
4. δ -terpineno = 45,94
5. p-cimeno = 10,87
6. mirceno = 1,91



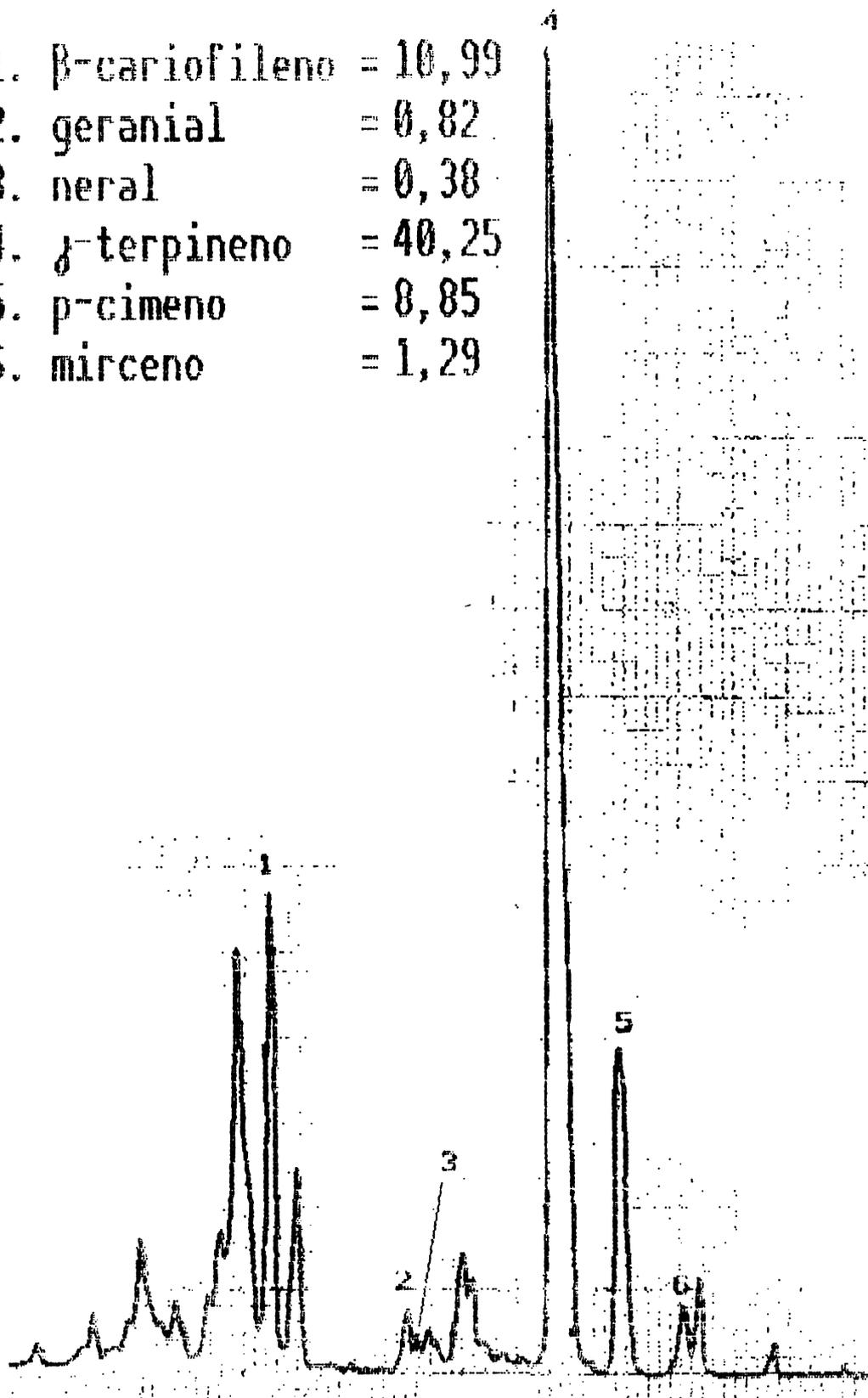
C2

1. β -cariofileno = 9,70
2. geranial = 0,40
3. neral = 0,40
4. γ -terpineno = 46,04
5. p-cimeno = 10,68
6. mirceno = 1,32



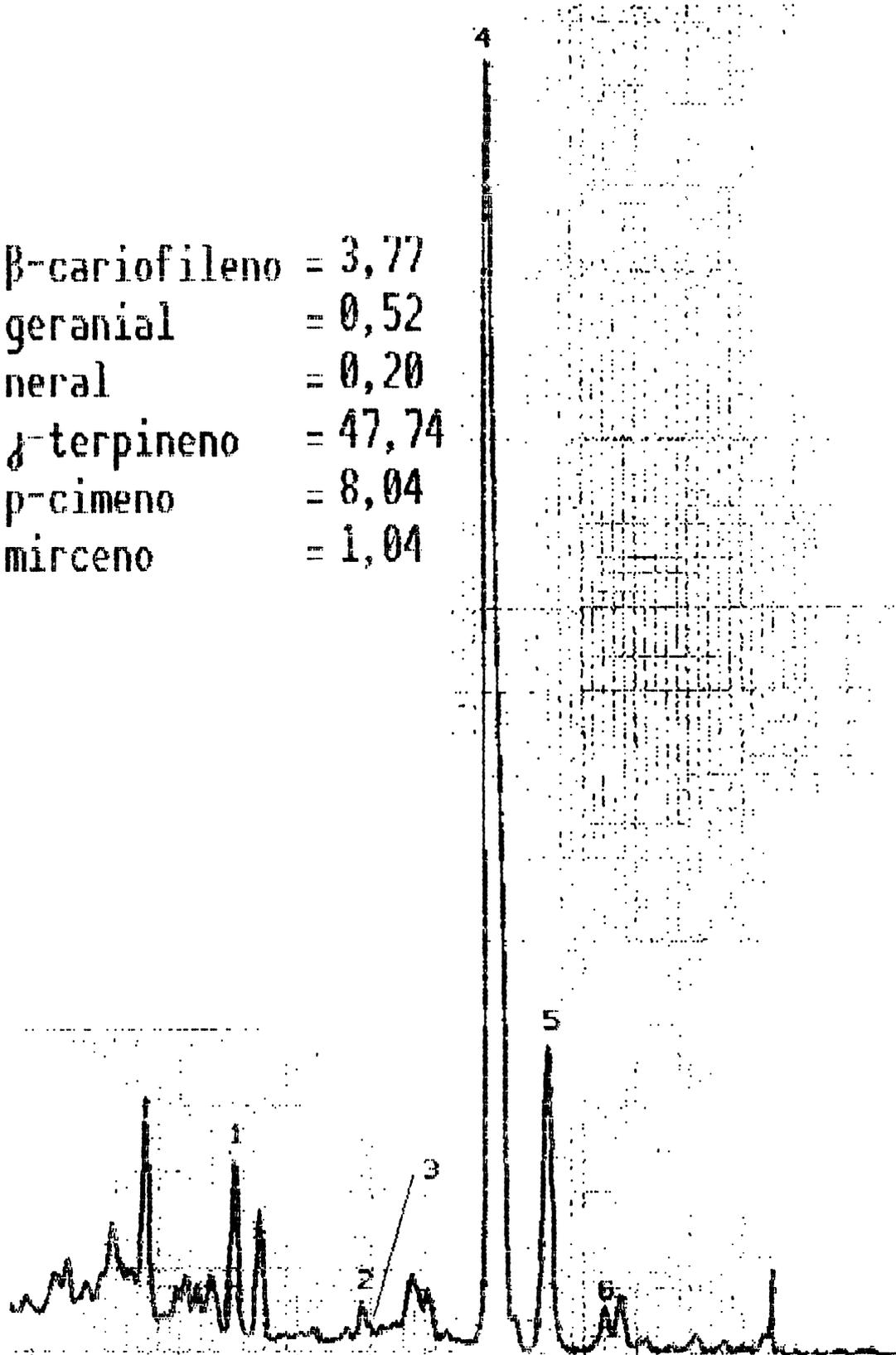
C4

1. β -cariofileno = 10,99
2. geranial = 0,82
3. neral = 0,38
4. δ -terpineno = 40,25
5. p-cimeno = 8,85
6. mirceno = 1,29



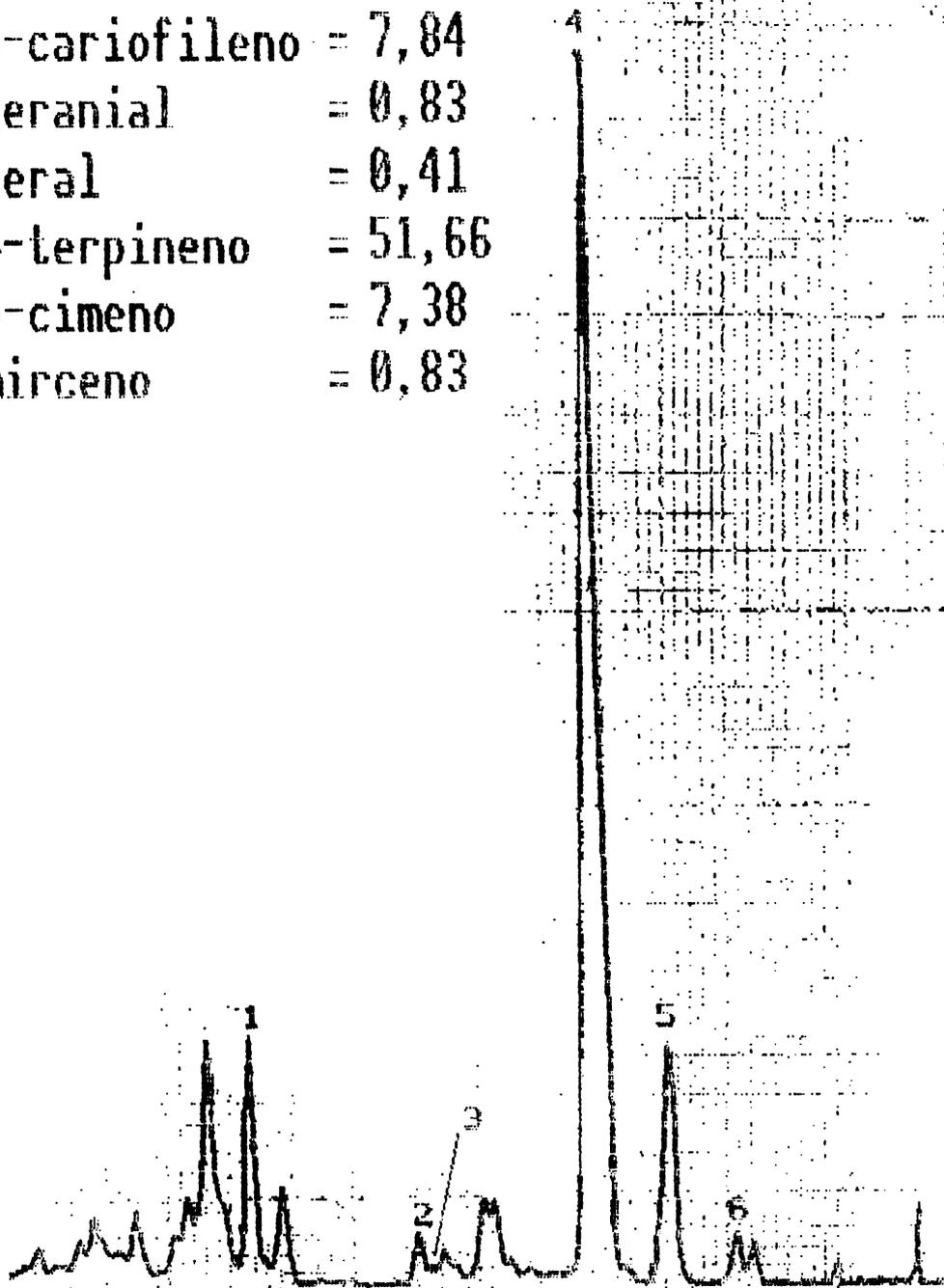
C8

1. β -cariofileno = 3,77
2. geranial = 0,52
3. neral = 0,20
4. β -terpineno = 47,74
5. p-cimeno = 8,04
6. mirceno = 1,04



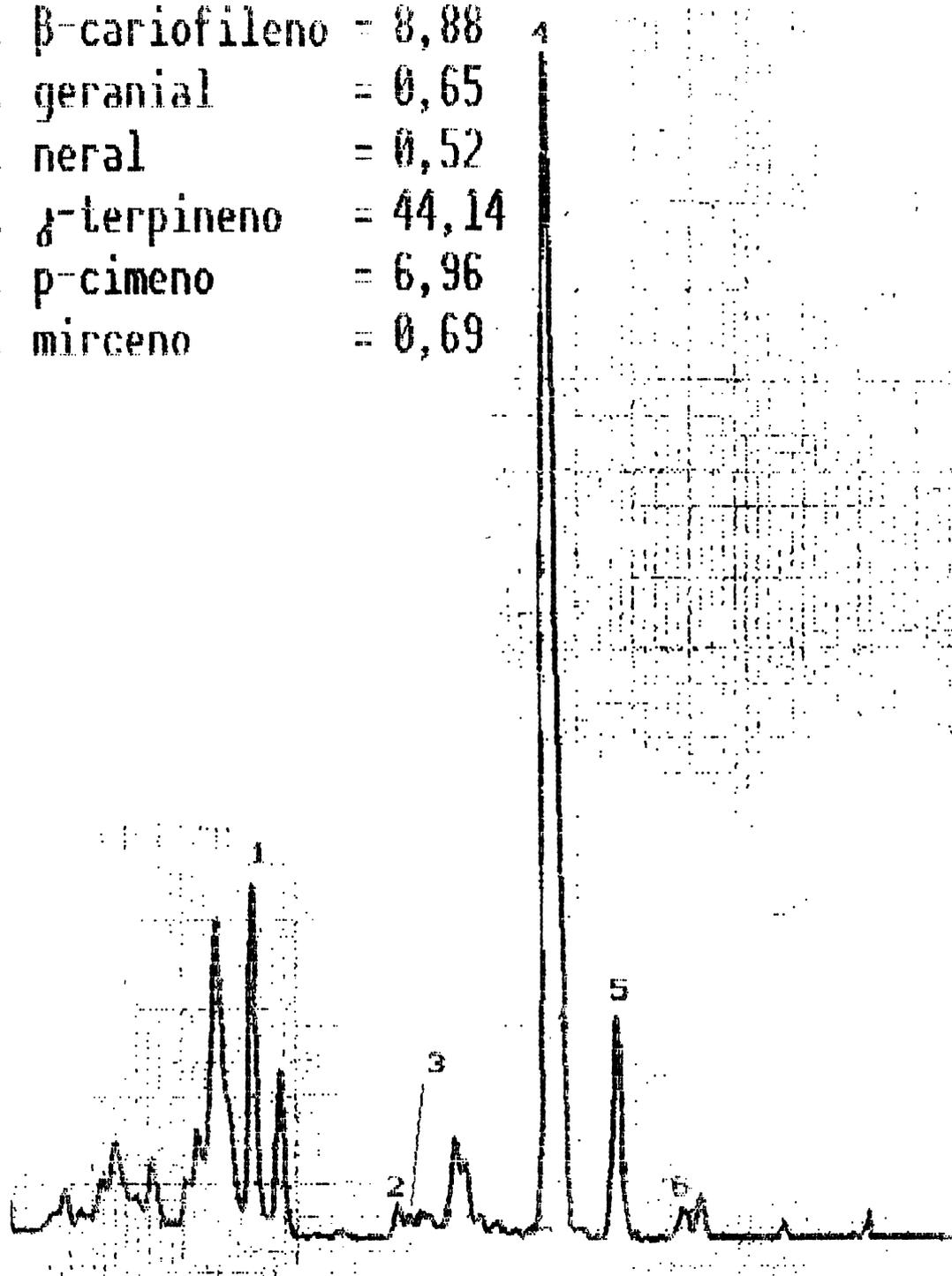
D0

1. β -cariofileno = 7,84
2. geranial = 0,83
3. neral = 0,41
4. δ -terpineno = 51,66
5. p-cimeno = 7,38
6. mirreno = 0,83



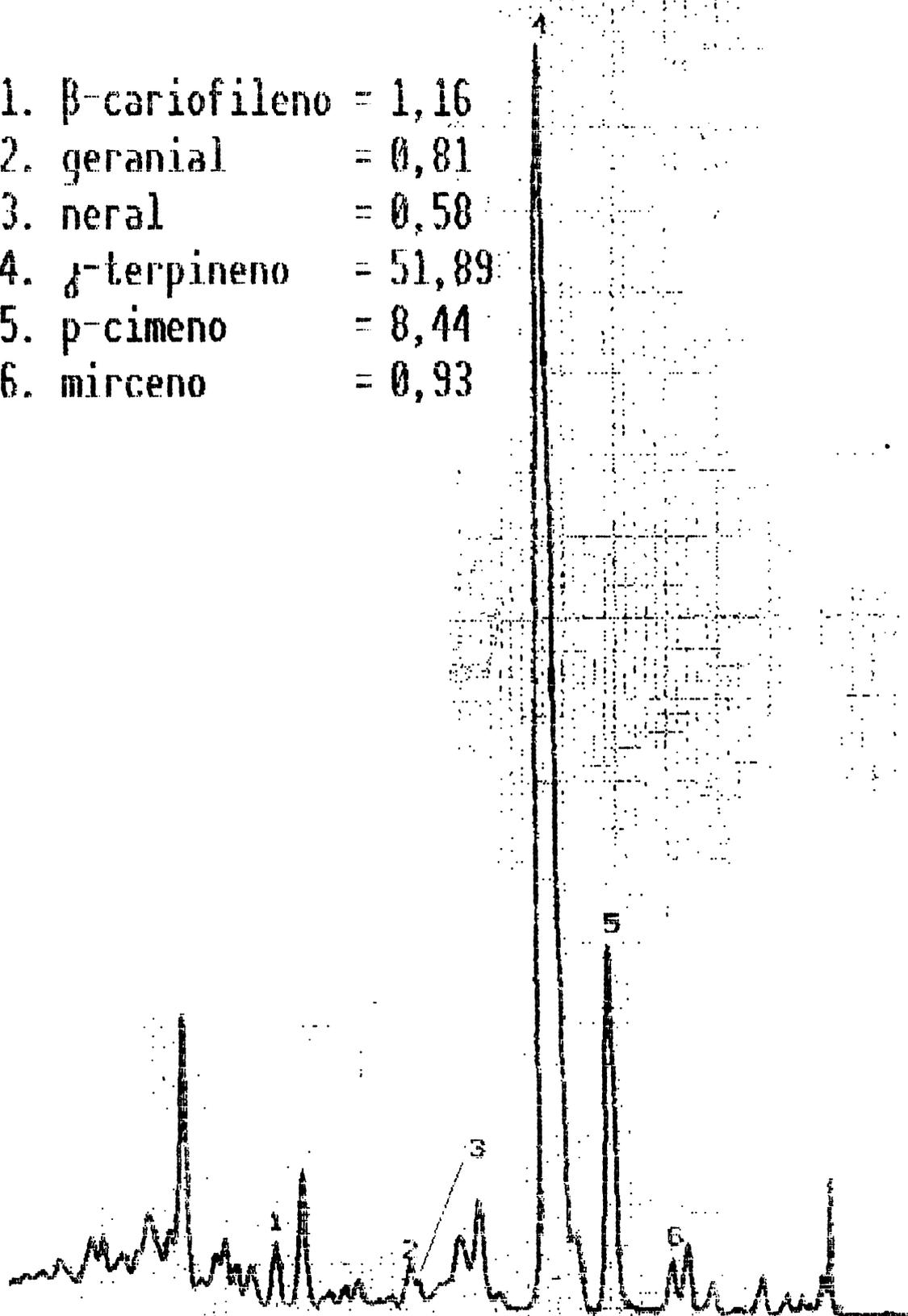
D1

- | | |
|-------------------------|---------|
| 1. β -cariofileno | = 8,88 |
| 2. geranial | = 0,65 |
| 3. neral | = 0,52 |
| 4. δ -terpineno | = 44,14 |
| 5. p-cimeno | = 6,96 |
| 6. mirceno | = 0,69 |



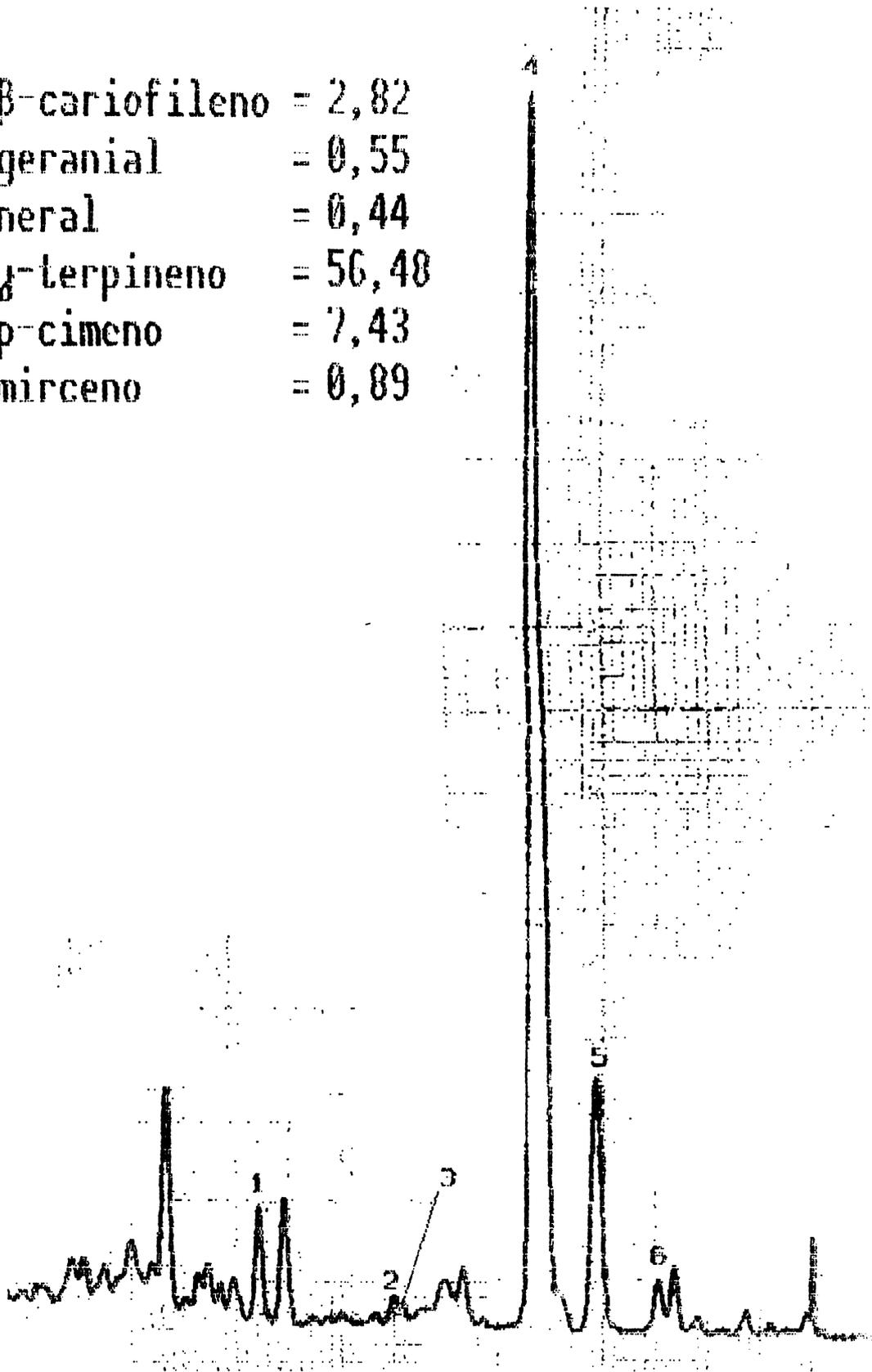
D2

1. β -cariofileno = 1,16
2. geranial = 0,81
3. neral = 0,58
4. δ -terpineno = 51,89
5. p-cimeno = 8,44
6. mirceno = 0,93



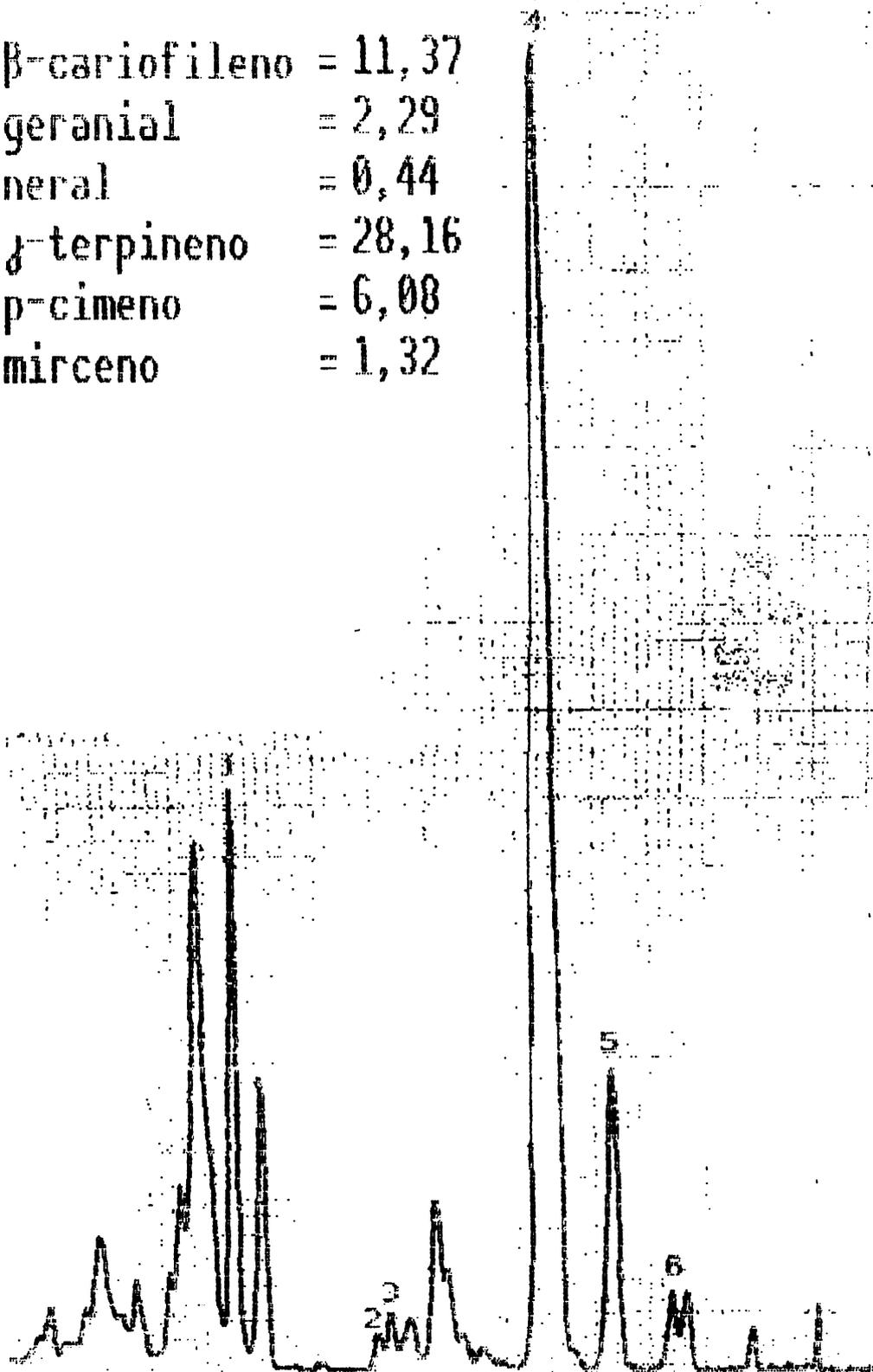
D4

1. β -cariofileno = 2,82
2. geranial = 0,55
3. neral = 0,44
4. δ -terpineno = 56,48
5. p-cimeno = 7,43
6. mirceno = 0,89



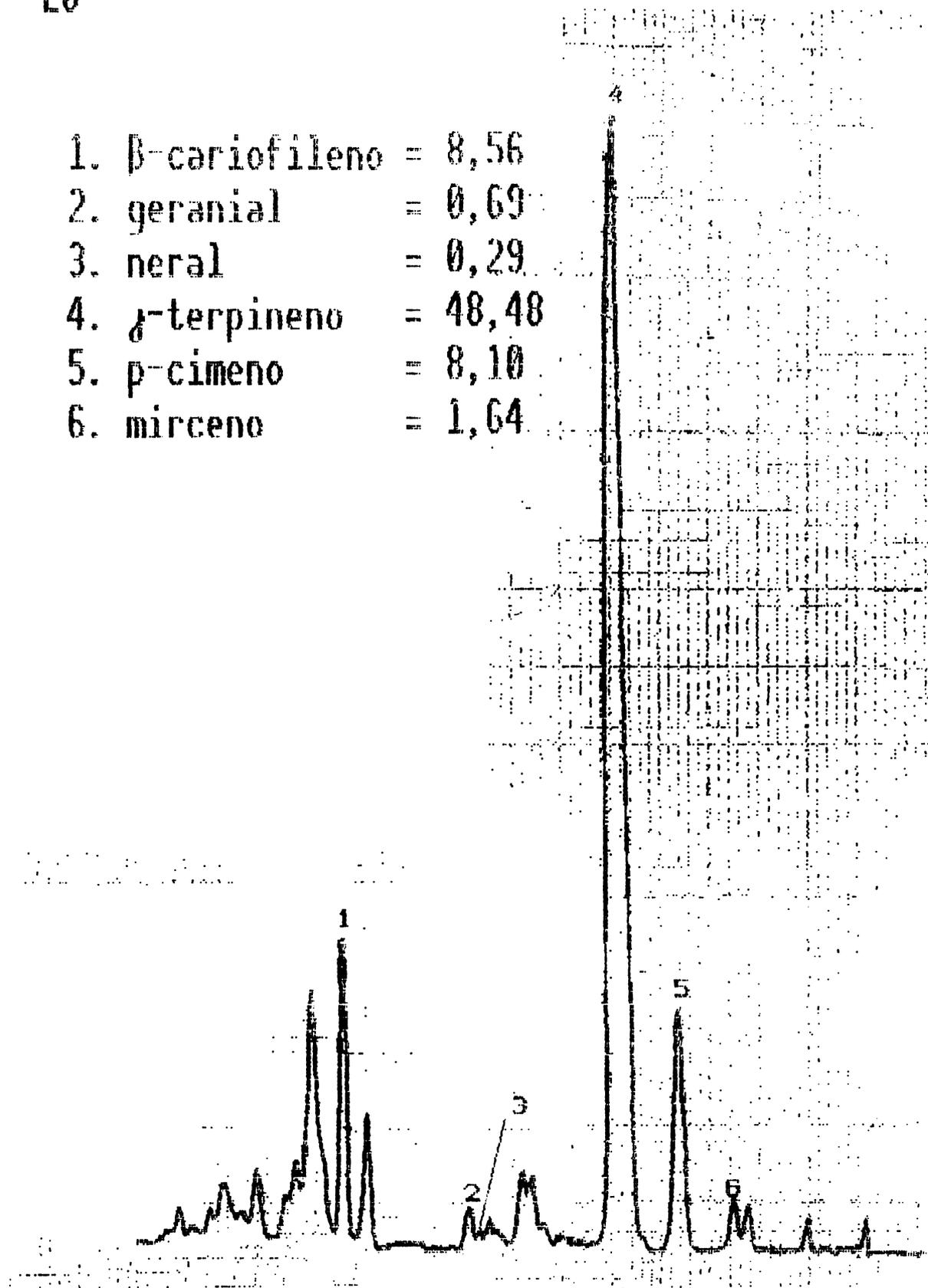
D8

1. β -cariofileno = 11,37
2. geranial = 2,29
3. neral = 0,44
4. δ -terpineno = 28,16
5. p-cimeno = 6,08
6. mirreno = 1,32



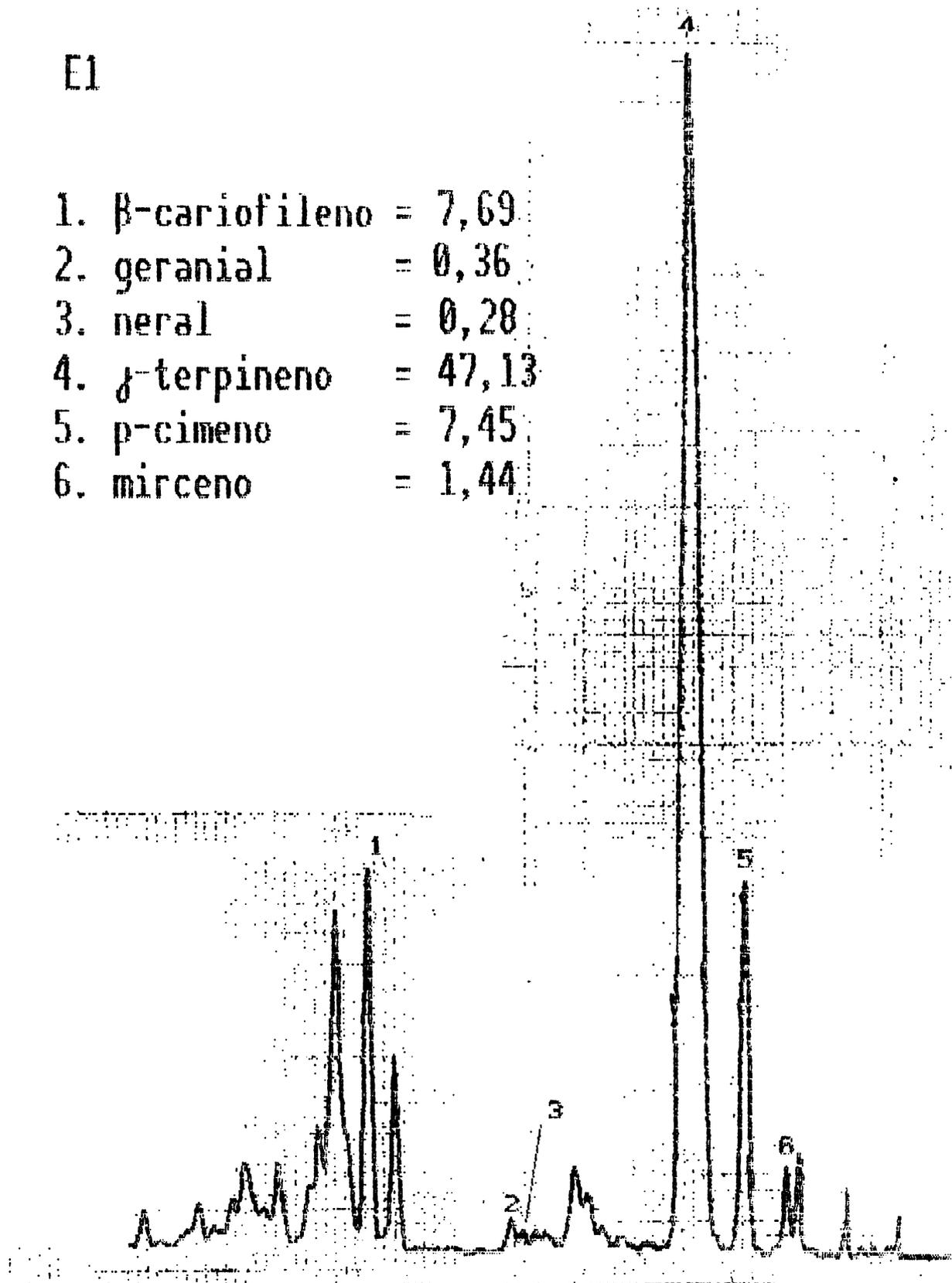
E0

1. β -cariofileno = 8,56
2. geranial = 0,69
3. neral = 0,29
4. δ -terpineno = 48,48
5. p-cimeno = 8,10
6. mirceno = 1,64



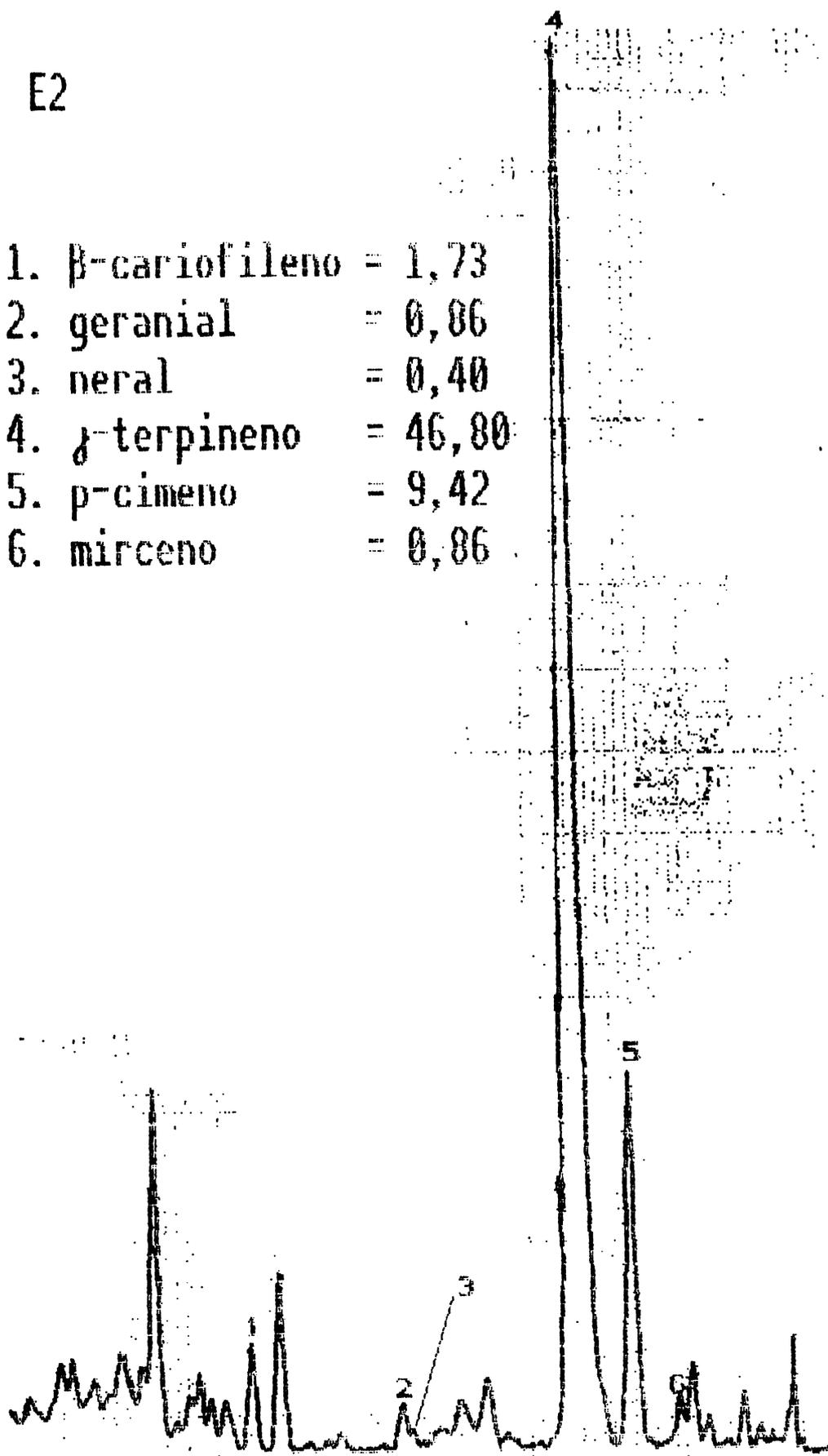
E1

1. β -cariofileno = 7,69
2. geranial = 0,36
3. neral = 0,28
4. δ -terpineno = 47,13
5. p-cimeno = 7,45
6. mirceno = 1,44



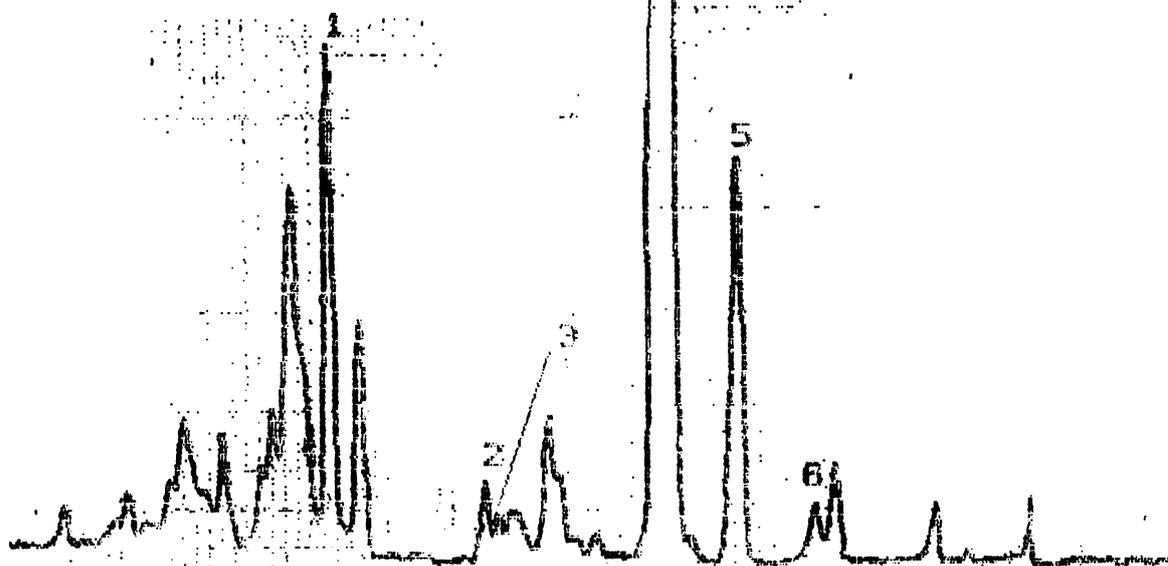
E2

- | | |
|-------------------------|---------|
| 1. β -cariofileno | = 1,73 |
| 2. geranial | = 0,86 |
| 3. neral | = 0,40 |
| 4. δ -terpineno | = 46,80 |
| 5. p-cimeno | = 9,42 |
| 6. mirceno | = 0,86 |



E4

1. β -cariofileno = 7,43
2. geranial = 0,75
3. neral = 0,59
4. δ -terpineno = 45,90
5. p-cimeno = 7,31
6. mirreno = 0,90

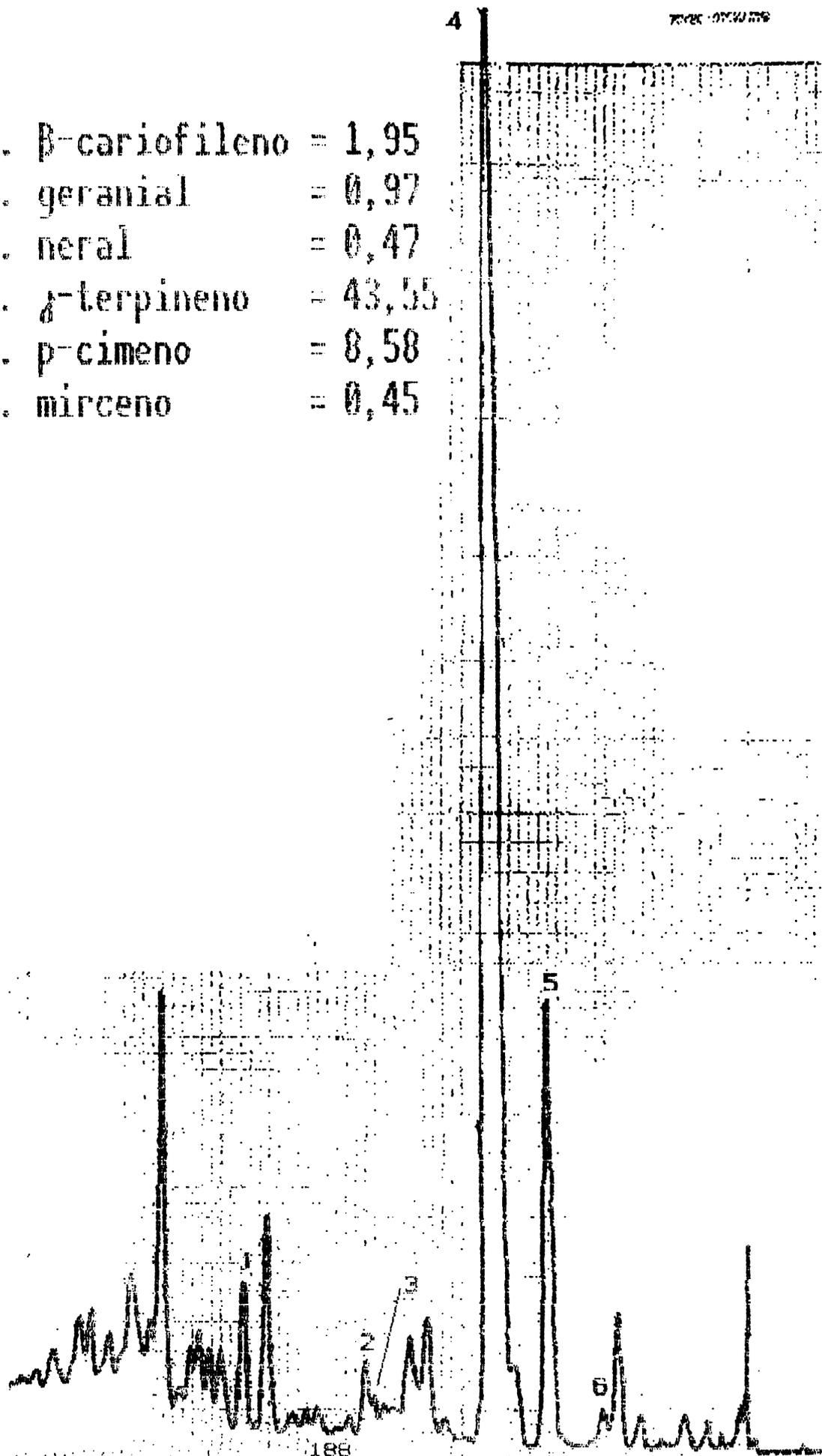


E8

4

70°C x 0.20 ml/min

1. β -cariofileno = 1,95
2. geranial = 0,97
3. neral = 0,47
4. δ -terpineno = 43,55
5. p-cimeno = 8,58
6. mirreno = 0,45



VII - CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho permitiram chegar a algumas considerações conclusivas. Na etapa agronômica o incremento de biomassa foliar e floral foi significativo quando incorporados diferentes e crescentes teores de matéria orgânica. O aumento da biomassa dos tratamentos (T₁, T₂, T₄, T₈) que receberam adubação orgânica, em relação ao tratamento testemunha (T₀), na ordem de 30,00%, 60,95%, 91,27% e 106% respectivamente, deram uma clara amostra de que a incorporação de matéria orgânica no solo resultou em melhoria nos aspectos químicos, físicos e biológicos, havendo uma grande resposta em

crescimento vegetativo da cultura.

O tratamento que produziu mais biomassa foi T₃ (4,519 kg/17,5 m²). Mesmo tendo gasto o dobro e o quádruplo de esterco dos tratamentos T₄ e T₂ respectivamente, não correspondeu na mesma ordem quanto à quantidade de biomassa produzida, já que T₄ produziu 4,189 kg/17,5 m² (7,3% a menos que T₃) e T₂ produziu 3,525 kg/17,5 m² (22,0% a menos que T₃). A análise estatística (Tukey, 5%) mostrou que não houve diferença significativa estatística entre T₂, T₄ e T₃.

Os resultados também mostraram que apesar do acréscimo de 30% sobre a biomassa produzida, não houve diferença significativa entre T₁ e T₀.

Mesmo não tendo sido o objetivo, os resultados obtidos permitiram fazer algumas considerações, a título indicativo, de que a época da colheita deve estar associada às fases de desenvolvimento da planta, pois observou-se que nas colheitas realizadas no quinto mês após o plantio, o nível de biomassa foi menor que os das colheitas realizadas no quarto mês. Isso se explica pelo fato de as folhas já estarem com seu ciclo fisiológico completo, entrando em fase de senescência, acabando por secar ou cair dos ramos, diminuindo a biomassa.

Essas informações preliminares a respeito da época de colheita, poderão servir em futuros estudos, à determinação

dessas épocas, as mais adequadas para regiões específicas.

Não se pode fazer recomendações para adubação orgânica apenas levando-se em conta a produção de biomassa. Em se tratando de plantas medicinais, deve-se também levar em consideração, os princípios ativos contidos nelas. Os rendimentos de óleos essenciais dos tratamentos, obtidos na etapa fitoquímica, mostraram uma relação inversa aos resultados da biomassa.

Os resultados mostraram que à medida em que se aumentava a quantidade de matéria orgânica incorporada no solo, diminuía o teor de óleos essenciais. Assim, houve um decréscimo nas seguintes percentagens nos diversos tratamentos com relação à testemunha (T₀).

$$T_0/T_1 = 9,83\%$$

$$T_0/T_2 = 15,47\%$$

$$T_0/T_4 = 25,92\%$$

$$T_0/T_8 = 28,50\%$$

Essa aparente contradição está apoiada em pesquisas que observaram um dos papéis do óleo essencial na planta, que é a de defesa a ambientes desfavoráveis. Em ambientes mais favoráveis, a energia é concentrada para atividades do crescimento e desenvolvimento, de metabolismo primário. Já em

ambientes menos favoráveis, a via é modificada, havendo menor atividade primária, com maior gasto de energia no metabolismo secundário, com maior produção de óleo essencial. Mesmo não sendo conclusivas, já que as pesquisas observaram reações diferentes em diferentes plantas, há uma maior indicação disso para plantas herbáceas e arbustivas.

Assim como em relação à biomassa, pode-se observar, a título indicativo, que, os teores de óleos essenciais variaram com relação à época de colheita, diminuindo à medida em que a colheita era feita após um período mais longo com relação à época do plantio. Nas colheitas realizadas no quinto mês após o plantio, os teores eram menores que nas colheitas realizadas no quarto mês.

Isso é explicado pelo fato de que à medida em que as atividades fisiológicas se encerram, indo para o estágio de senescência, cessa também a biossíntese de óleo essencial nessas partes mais velhas, além de haver a reciclagem dele para porções mais jovens da planta, terminando por diminuir o teor de óleo essencial nas folhas mais velhas. Estudos mais detalhados nessa área podem vir a ser realizados posteriormente.

Para se fazer a recomendação para a adubação orgânica, além dos aspectos de biomassa produzida e teores de óleos essenciais, deve-se também levar em consideração outros

aspectos técnicos-econômicos, como o custo do m_3 de esterco e sua disponibilidade, o custo do frete, o custo e a disponibilidade de mão de obra, os equipamentos necessários para distribuição e incorporação do material. Cada região tem situações diferenciadas nos diversos itens de produção que devem ser analisadas detalhadamente.

Além disso, a composição do óleo essencial também é fundamental nessa análise. Podem haver interesses diferentes para se obter óleos essenciais com composições diversas. E os resultados nas análises físico-químicas realizadas dos óleos essenciais, auxiliarão nisso. Mesmo tendo caráter indicativo, verificou-se modificações nas concentrações dos diversos componentes dos óleos essenciais dos tratamentos realizados. Esses dados poderão servir de referências para experimentos visando estabelecer maiores concentrações de determinados componentes do óleo essencial quando submetidos a diferentes formas de manejo técnico da cultura.

A pesquisa olfativa confirmou a presença de óleos essenciais, bastante voláteis, com odor característico. O teste com SUDAN III reforçou a confirmação, com coloração avermelhada nas gotas de óleo encontrados no mesofilo e tricomas secretores. A presença de óleo no mesofilo indica que a possibilidade de sua perda por fatores mecânicos ou físicos é menor do que em outras plantas que contenham óleo apenas na epiderme.

As densidades relativas variaram dentro dos limites citados na literatura e essa variação foi decorrente das modificações nas composições dos óleos essenciais, conforme as densidades relativas dos diversos componentes de cada um dos óleos.

A variação dos índices de refração verificada, foi resultado das diferentes concentrações dos componentes dos óleos essenciais produzidos e estão dentro dos limites citados na literatura.

Os índices de solubilidade (etanol 100, 90 e 80%) e os pontos de congelamento (não congelaram a (-) 13°C) servem como dados referenciais para estudos posteriores com a planta.

Por fim, a análise dos dados resultantes deste trabalho, conclusiva em algumas situações, indicativa em outras, são pontos de partida para outros trabalhos que podem e devem ser feitos para a determinação de mais informações técnicas sobre a *Lippia alba*.

VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKERELE, O. **Medicinal plants and primary health care: an agenda for action.** Fitoterapia n.5 p. 355/63, 1988.
- ALMEIDA, F.S. **A Alelopatia e as plantas.** IAPAR Londrina - circular 53 1988, 60p.
- ALMEIDA, Y.M.; MENDONÇA, M.C.R.; MANASES, F.C. & MATOS F.J.A. **Evaluation of molluscicidal activity of 32 plants from northeastern Brazil.** Rev. Med. UFC. 25(1/2):71-80. 1985 (1987)
- ANDRADE, J.M.T. **Monografia sobre cidreira (*Lippia alba*) in Saber e poder das plantas,** sl.,sd., p.77-81, datilogr.

- ANGELUCCI, M.E.M. et alii **Efeitos farmacológicos do extrato aquoso de *L. alba***, Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 11, João Pessoa 1990, Livro de Resumos, João Pessoa UFPB, 1990, 4-12.
- ANGELY, J. **Flora Analítica do Paraná**, Ed. Phytos, Curitiba-PR, 1965, 728 p.
- BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, vol. 3 Univ. Federal de Viçosa, MG, 1986, 326p.
- BEDONKIAN, P.Z. **Perfumery and flavoring synthetics** Allured Publishing Corp. Illinois 1986, 465p.
- BEZERRA, P. et alii **Composição química e atividade biológica de óleos essenciais de plantas do NE - gênero *Lippia*** in Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 6, Fortaleza, 1980, Resumos S. Paulo: Ciência e Cultura, 1981 p-1-14.
- BRIESKORN, C.H. & FOLHLMANN, R. **The occurrence of isomeric catalponol and tectol dimethyl ether in the root of *Lippia origanoides* HBK.** Arch. Pharm. (Weinheim) 309-(10):829-836, 1976.
- BURKART, A. **Flora Ilustrada de EntreRios parte V**, Buenos Aires, 1979, 606 p.
- CARLINI, E.A. **Pesquisa com plantas medicinais usadas em medicina popular**, Rev.Ass. Med. Brasil vol 29 número 5/6, maio/junho 1983 p. 109-10.
- CABRERA, A.L. & ZARDINI, E.M. **Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires**, Editora ACNE, Buenos Aires, 2 ed, 1978, 755 p.
- CASADORO, G. & RASCIO, N. **Glands of *Lippia triphylla***. Cytobios 35(138). 1982. p. 85-94.
- CECY, C. **Farmacognosia**, Fundação Caetano Munhoz da

Rocha, Curitiba, 1989, apost. 52 p.

CERVI, A.C.; NEGRELLE, R.R.B. & SBALCHIERO, D.
Espécies vegetais utilizadas na terapêutica popular no município de Curitiba, Paraná, Brasil. Estudos de Biologia, PUC-PR, nº XXIII, out/89, p. 5-42.

CHANH, P.H. et alii. **Comparative hipotensive effect of compounds extracted from Lippia multiflora leaves** Planta Médica, 1988, 54 (4) 294-6.

CHOGO, J. & CRANK, G. **Essential oil and leaf constituents of Lippia ukambensis Vatke from Tanzania.** J. NAT. PROD. (LLOYDIA) 45(2):1982. 186-88.

CLAUS, E.P. **Pharmacognozy.** 4 ed. Lea & Febiger Philadelphia, 1961.

CNPq **Relatório e recomendações sobre agricultura orgânica.** 3 ed. Brasília - DF, 1981, 126 p.

COMPADRE, C.M.; ROBBINS E.F.; & KINGTTON, D. **The intensely sweet herb, Lippia dulcis: Historical uses, fields inquiries, and constituents.** J. Ethnopharmacol. 15(1): 89-106. 1986.

COMPADRE, C.M., HUSSAIN, R.A., COMPADRE, R.L.L. DE., PEZZUTO, J.M. & KINGHORN, A.D. **The intensely sweet sesquiterpene hernandulcin: isolation, synthesis, characterization and preliminary safety evaluation.** J. Agric. Food Chem. 1987. 35(2): 273-79.

CORREA JR, C., NING, L.C & SCHEFFER, M.C. **A importância do cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares.** SOB informa. v. IX, n. 2 e v. X, n. 1, 1 sem. 1991, p. 23-4.

..... **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares.** EMATER-Pr. 1992, 180 p. (no prelo).

- COSTA, A.F. **Farmacognosia**, v. I, 4 ed. Fund. Caloust Gulbenkian Lisboa, 1986, 853 p.
- CRAVEIRO, A.A. **Contribuição à quimiotaxonomia de plantas do gênero Lippia (Verbenaceae)**. UFC apost. 1987, 5p.
- CRAVEIRO, A.A. et alii. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Ed. UFC. Ceará, 1981, 106 p.
- **Essential oils from brazilian Verbenaceae-genus Lippia**. J. Nat. Prod. v. XLIV, n. 5, sep/oct. 1981, p.598-601.
- **Óleos essenciais de plantas medicinais aromáticas do nordeste**. Oréades, v. VIII, n. 14/15, 1981-82.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia Univ. N.Y. 1981, 1262 p.
- **The evolution and classification of flowering plants**. 2 ed. N.Y. 1988. 555 p.
- DA COSTA, M.B.B. **Adubação orgânica, nova síntese e novo caminho para a agricultura**. pcone, São Paulo, 1986, 104 p.
- DA SILVA, J.B. **Novo método de extração de óleo essencial para fins analíticos**. Rev. Farm. Bioq. USP. 1970, 8(2):183-6
- DE BUSTAMANTE, F.M.L. **Plantas medicinales y aromaticas, estudio, cultivo e procesado**. Mundi-prensa Madrid, 1987, 365 p.
- DELLA CASSA, E. et alii. **Essential oils from Lippia alba, and Aloysia chamaedryfolia from Uruguai**. Flav. Frag. J. 1990, 5(2):100-8.

- DI STASI, L.C. et alii. **Estudo preliminar de plantas utilizadas popularmente como analgésicos.** Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 9, Rio de Janeiro, 1986, p 43. Resumos.
- **Plantas medicinais na Amazonia** UNESP, São Paulo, 1989, p 65-6.
- DONALISIO, M.G.R., D'ANDREA PINTO, A.J. & SOUZA, C.J. **época e frequência de colheita das folhas do capim limão e sua influência na produção e qualidade do óleo essencial.** Congresso Internacional de óleos Essenciais, 5, livro de resumos, 1971, p 23-4.
- ELAKOVICH, S.D. & OGUNTINEIN, B.O. **The essential oil of Lippia adoensis leaves and flowers.** Journal of Natural Products. v. 50, n. 3. May-Jun. 1987. p. 503-6.
- EL-HAMIDI, A., AHMED, S.S., & SHARRAMY, F. **Lippia citriodora grown in Egypt. A new crop under development.** Acta Horticultural. v. III. Apr. 1983. p. 31-3.
- EMBRAPA Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos - RJ. **Levantamento de Reconhecimento dos solos do Estado do Paraná.** Tomo I. 1984. 418 p.
- FARNSWORTH, N.R. et alii. **O lugar das plantas medicinais na terapêutica.** Boletim da Organização Mundial de Saúde. 1986. 64(2): 159-75.
- FENAROLIS **HANDBOOK OF FLAVOR INGREDIENTS.** The Chemical Rubber Corp. N.Y. 1971. 803 p.
- FERGUSON, N.M. **A textbook of pharmacognozy.** The MacMillan Company. N.Y. 1956.
- FESTER, G.A. et alii. **Estudios de essencias volateis del litoral y de la zona andina.** Bol. Acad. Nac. Ciencias. 1958. 40: 189-208.

- FREISE, F.W. **Plantas medicinais brasileiras.** Sec. da Agric., Ind. e Com. do Estado de São Paulo, 1934, 245 p.
- GEISSMAN, T.A. & CROUT, D.H.G. **Organic chemistry of secondary plant metabolism,** Freeman, Cooper & Co., San Francisco, 1978, 592p.
- GERSHENZON, J. **Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress.** Recent Advances in Phytochemistry, N.Y. v. XVIII, 1984, p. 273-319.
- GOMES, E.C. **Ensaio preliminares e marcha sistemática fitoquímica para Lippia alba.** 1990, UFPR, Curitiba, 6 p datil.
- GOMES, E.C., MING, L.C., BONA, C. & TAKEMURA, O.S. **Contribuição ao estudo anatômico e fitoquímico de folha de Lippia alba (Mill) N.E.Br.** Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 11, Paraíba, 1990, livro de resumos.
- GOTTLIEB, O.R. **Phytochemistry and evolution of angiosperms.** Anais Acad. Brasil. Ciênc. 1984, 56, 43-50.
- , **Evolução e função de óleos essenciais.** I Simpósio de óleos Essenciais, Fund. Cargil, 1985, 207 p.
- GRAÇA, C. et alii. **Fitoterapia em atenção primária.** Sec. Mun. da Saúde de Curitiba, Pr. 1990, 15 p. apost.
- GRUNDY, D. & STILL, C.C. **Inhibition of acetyl colenesterases by pulegone 1,2-epoxide** Pestic biochem. Physiol. 23(3):383-388-1985
- GUENTHER, E. **The essential oils.** 6v. New York, VanNostrand Reinhold, 1972.

- GUIA RURAL ABRIL São Paulo, 1988, 171p.
- HARBORNE, J.B. **Phytochemical Methods**. Chapman and Hall, London, 1973, 278p.
- HOWE, H.F. & WESTLEY, L.C. **Ecological relationship of plants and animals**. Oxford Unives. Press, p-29-87, 1988.
- IGUE, K. **Dinâmica da matéria orgânica e seus efeitos nas propriedades do solo**, in Adubação verde no Brasil, Fundação Cargill, 1984, 363p. p 232-266.
- INDEX MERCK, **An encyclopedia of chemicias, drugs and biologicals**, 12ª ed., Merck & Co. Ltda., New Jersey, 1988, 10.000p.
- INDRIO, F. **Agricultura biológica**. Publicações Europa-América, Portugal, 1980, 127p.
- JANSEN-JACOBS, M.J. **Flora of de Guianas - Verbenaceae**, Koeltz Scientific Books, Germany, 1988, 116p.
- JOLY, A.B. **Botânica - Introdução à Taxionomia Vegetal**. 7ª ed. Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1985, 777p.
- KAUSHAL, P.S. & TRIPATHI, A. **Estudos da epiderme foliar, tecidos estomáticos e tricomas florais em algumas Verbenaceas**, RES. BUL. PANJAB, 35(3/4):45-56, 1984.
- KIEHL, E.J. **Manual de Edafologia - Relações Solo-Planta**, Editora Agronômica Ceres S. Paulo, 1979, 264p.
- KOSLOWSKI, T.T. **Water deficits and plant growth**, vol. 1, Academic Press, New York, 1968, 250p.

- LÁSZLÓ, H. **Effect of nutrition supply on yield of dill (*Anethum graveolens* L.) and its essential oil content**, *Planta Medica*, 26(3):295-296, 1979.
- LIMA, H.J.M. et alii (a) **Utilização do AIB em alporquia do alecrim de tabuleiro (*L. microphylla*)**, Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 11, João Pessoa, 1990, Livro de Resumos, J. Pessoa, 1990, UFPB.
- LIMA, H.J.M. et alii (b) - **Alporquia em alecrim pimenta (*L. sidoides*) usando diferentes substratos**, Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 11, João Pessoa, 1990, Livro de Resumos, J. Pessoa, 1990, UFPB.
- LOBO, A.M. **Biossíntese de Produtos Naturais - Metabolismo secundário**, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 1976, 201p.
- LOPES, T.F; MANCINI, M.A.D. & MANCINI, R. **Estudo cromatográfico de óleos essenciais extraído de vegetais da região de Araraquara**, *Rev. Fac. Farm. Odont. Araraquara* 9(2)-199_208, jul/dez 1975.
- LOPEZ, A.A. et alii, **Extracts from plants with cytostatic properties growing in Cuba: 2 - The study of cytostatic (*Neurospora crassa* bioassay) activity of aqueous alcoholic and ketonic extract from 18 parts of 9 spp of higher plants**, *Rev. Cubana Med. Trop.* 31(2):105-112, 1977.
- MADUEÑO BOX, M. **Cultivo de plantas medicinales**, 2ª ed., Publicaciones de Extension Agraria, Madrid, 1973, 490p.
- MALAVOLTA, E. **Manual de Química agrícola, adubos e adubação**, Ed. Agronômica Ceres, S. Paulo, 1981, 3ª ed., 596p.
- MARQUESINI, N.R. **Estudos preliminares sobre o uso de plantas medicinais usadas pelos índios do sul do Brasil**, XI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil,

- Paraíba, João Pessoa, 1990 Livro de Resumos, p.4.59.
- MARZOCCA, A. **Nociones basicas de Taxonomia Vegetal**, Editorial IICA, São Jose Costa Rica, 1985, 263p.
- MATOS, J.M.D. & MATOS, M.E.O. **Farmacologia- curso teórico - prático**, Edições UFC Fortaleza, 1989, 246p.
- MENDONÇA, V.L.M.; FONTELES, M.C.; AGUIAR, L.M.B.A.; CRAVEIRO, A.A. **Toxicidade e Alergicidade do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham para utilização em cosméticos**, Aerosol & cosméticos, 12(67), encarte técnico ano XII, nº67, mar/abr/90-p-10-16.
- MING, L.C. **Estaquia da erva cidreira brasileira - *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. - Verbenaceae**, Departamento de Botânica, UFPR, 5p. datil., 1990.
- MING, L.C. et alii, **Plantas utilizadas na medicina popular no município de Adrianópolis - PR (notas preliminares)**, XI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Paraíba, João Pessoa, 1990 Livro de Resumos, p.4.78.
- MOLDENKE, H.N. **Notes on new and noteworthy plants: CII**, Phytologia 36(5):437-438, 1977.
- MOLDENKE, H.N. **Additional notes on the genus *Lippia***, IV Phytologia vol. 38 nº5, 1978, p.385-405.
- MOREIRA, E.A. **Marcha Sistemática de Análise em Fitoquímica**, Tribuna Farmacêutica vol.47 nº10, 1979, separata, 19p.
- NEGRELLE, R.R.B. et alii, **Espécies vegetais utilizadas na terapêutica popular no município de Curitiba, Paraná, Brasil**, Depto. de Botânica, UFPR, datil., 1988.

- NEIDLEIN, R. & STAHL, R. Isolation and structure of substances in *Lippia javanica*, Deutsche Apotheker, 114 Jahrgang N.40-3.10, 1974.
- NEIDLEIN, R. & DALDURF, V. Isolation and structure of substances in *Lippia americana*, Arch. Pharm. (Weinheim) 312(11):914-922, 1979.
- NEVES, E.S. Plantas Mediciniais na Saúde Pública, Silvicultura em São Paulo, 16A (FT1): 181-186, 1982.
- NOAMESI, B.K. Power tea (*Lippia multiflora*): A potent hypertensive therapy, West African J. Pharm. Drug RES. 4(1):33-36, 1977.
- NOAMESI, B.K.; ADERAIQ, G.I. & BANGBOS, O.A. Muscle relaxant properties of aqueous extract of *Lippia multiflora*, Planta Med 0 (3):253-255, 1985.
- ODUM, E. P. Ecologia, Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, 1988, 434p.
- OLEYNIK, J. et alii, Análises de Solo - Tabelas para transformações de resultados analíticos e interpretações de resultados, Emater - PR, 2ª ed., 1989, 27p.
- PACIORNIK, E.F. A planta nossa de cada dia, Secretaria Municipal de Cultura de Curitiba, 78p., 1988.
- PENKA, M. Effects of irrigation on the content of essential oil in officinal plants, Acta Hort., 73(1978), 181-198.
- PEROZIN, M.M. & FRANCISCO, N. Revisão Bibliográfica das sinonímias populares das 16 plantas medicinais selecionadas para estudos pelo Projeto de Fitoterapia do SUDS-PR, Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, 11, João Pessoa-FB, 1990, datil.

- PRINAVESI, A. **O manejo ecológico do solo - A agricultura em regiões tropicais**, Livraria Nobel SA, S. Paulo, 1980, 541p.
- RAHMAN, M.S. & SHANSUL, A.K.M. **Ecotypic and ecophenic variation in *Lippia nodiflora***, Bangladesh J Bot. 9(1):60-66, 1982.
- REIS, O.S. **Adubos orgânicos**, Acarpa-PR, Curitiba, 1979, 35p.
- RICE, E.L. **Allelopathy**, New York Academic, New York, 1984, 353p.
- ROUQUAYROL, M.Z.; NANASYES, C. F.; ALENCAR, J.E.; MATOS, F.J.A.; CRAVEIRO, A.A. **Atividade molucicida de óleos essenciais de plantas do nordeste do Brasil**, Fortaleza-CE, Rev. Bras. Pesq. Med. Biol. 13(4-6):135-144, 1980.
- ROVESTI, P. **Incidencies ecologiques sur la composition des huiles essentielles. Note IX - Les essences de *L. adoensis* et *L. schimperi***, An. Acad. Brasil. de Ciências, 44(supl.)91-3, 1971.
- SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, **Projeto de Fitoterapia no SUDS**, Plantas Medicinais nos Serviços de Saúde, Curitiba, 1989, 33p., apost.
- SCHIEFFER, M.C. **Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L.**, Mil-Folhas, Tese Mestrado - Depto. de Solos, UFPR, 1991, 68p.
- SCHULTZ, A. **Introdução à botânica Sistemática**, 4ª ed., vol. 2, Editora da Universidade, Porto Alegre, 1984, 414p.
- STRASBURGUER, E. **Textbook of botany**, Longman, London, 1987, 877p.

- TYLER, V.E.; BRADY, L.R. & ROBBERS, J.E. **Pharmacognosy**,
Lea & Febiger, Philadelphia, 1988, 519p.
- VIANA, G.S.B.; MATOS, F.F.; ARAUJO, W.L.; MATOS F.J.A.;
- CRAVEIRO, A.A. **Óleo essencial de *Lippia grata*:
efeitos farmacológicos e principais constituintes.**
Q.J. Crude Drugs Res 19(1):1-10, 1981.
- VICKERY, M.L. & VICKERY, B. **Secondary Plant Metabolism**,
Mac Millan Press, London, 1981, 335p.
- VIEIRA, L.S. **Manual da ciência do solo**, Editora
Agronômica Ceres, São Paulo, 1975, 464p.
- WASICKY, R. **Estudo cromatográfico comparativo de
essências de folhas de *Peumus boldus* Molina,
extraídas de amostras comerciais da droga**, Rev. Fac.
Farm. Bioq., São Paulo 1(1):69-75, jan/jun, 1963.
- WIRTH, F. **La culture de la verveine, Culture de plantes
à parfum en Tunisie, guide pratique**, Eschborn,
Deutsche gesellschaft für technische Zusammenarbeit,
1977, p.15-35.
- YANIV, Z. & PALEVITCH, D. **Effect of drought on the
secondary metabolites of medicinal and aromatic
plant - A review, in cultivation and utilization of
medicinal plants**, Regional Research Laboratory,
JAMMU, TAWU, India, 1982, 878p., p.1-12.