



BRÍGIDA RESENDE ALMEIDA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES
QUÍMICAS DE CONSTITUINTES VOLATÉIS E
FENÓLICOS DE *Lippia gracilis* Schauer SOB
OMISSÃO DE NUTRIENTES E ADUBAÇÃO
ORGÂNICA**

LAVRAS – MG

2016

BRIGIDA RESENDE ALMEIDA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES QUÍMICAS DE
CONSTITUINTES VOLATÉIS E FENÓLICOS DE *Lippia gracilis* Schauer
SOB OMISSÃO DE NUTRIENTES E ADUBAÇÃO ORGÂNICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

Orientadora

LAVRAS - MG

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor (a).

Almeida, Brígida Resende.

Produção de biomassa e análises químicas de constituintes voláteis e fenólicos de *Lippia gracilis* Schauer sob omissão de nutrientes e adubação orgânica. / Brígida Resende Almeida. – Lavras: UFLA, 2016.

91 p.: il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador (a): Suzan Kelly Vilela Bertolucci.

Bibliografia.

1. *Lippia grata*. 2. Adubação orgânica. 3. Solução nutritiva. 4. Carvacrol. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

BRIGIDA RESENDE ALMEIDA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES QUÍMICAS DE
CONSTITUINTES VOLATÉIS E FENÓLICOS DE *Lippia gracilis* Schauer
SOB OMISSÃO DE NUTRIENTES E ADUBAÇÃO ORGÂNICA**

**BIOMASS PRODUCTION AND ANALYSIS OF CHEMICAL
CONSTITUENTS OF VOLATILE AND *Lippia gracilis* Schauer
PHENOLICS UNDER NUTRIENT OMISSION AND FERTILIZER
ORGANIC**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 05 de setembro de 2016.

Dra. Andressa Giovannini Costa UFU - Campus Monte Carmelo

Dr. Felipe Campos Figueiredo IFSMG - Campus Muzambinho

Dr. José Eduardo Brasil P. Pinto UFLA

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Orientadora

**LAVRAS - MG
2016**

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Santa Rita de Cássia por me darem força e coragem para chegar até o fim.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, pela oportunidade da realização deste Mestrado.

À CAPES e demais instituições de fomento, pela concessão de bolsa de estudo e financiamento em projetos de pesquisas.

Ao meu pai (*in memoriam*). Tenho certeza que lá do céu ele está olhando e torcendo por mim.

À minha mãe, pela força e incentivo.

Ao Luiz Eduardo, pela paciência.

Aos orientadores Suzan e José Eduardo, pelos ensinamentos e oportunidade de experiência na área.

À Sâmia e ao Luiz, por estarem sempre ao meu lado, me dando força e apoio.

Agradeço aos funcionários do Horto e do Laboratório de Cultura de Tecidos, que foram essenciais para a realização dos experimentos, e que sempre estavam dispostos a me ajudar.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO GERAL

Vários fatores afetam o crescimento, o teor e a composição química de plantas medicinais e aromáticas, dentre elas, práticas agronômicas como as de fertilização. Este trabalho teve dois objetivos, o primeiro visou avaliar o crescimento vegetativo e composição química volátil da *Lippia gracilis*, empregando a técnica do elemento faltante. No segundo, propôs-se a avaliar os efeitos de diferentes doses e fontes de esterco avícola na produção de biomassa, nos teores de pigmentos fotossintéticos, compostos fenólicos e na composição química volátil. No primeiro experimento, mudas de *L. gracilis* foram cultivadas em solução nutritiva, utilizando a técnica do elemento faltante, omitindo os macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) por um período de 60 dias. A ausência de Ca, N e K foi limitante ao crescimento vegetativo da planta. A ordem decrescente de limitação dos nutrientes para o crescimento de *L. gracilis* foi Ca>N=K>P=Mg>S. Já no segundo experimento, mudas de *Lippia gracilis* foram cultivadas em dois estercos (codorna e galinha) e doses (0,0; 1,5; 3,0 e 6,0 Kg m⁻²) por um período de 120 dias. Sendo as doses 1,5 Kg⁻² do esterco de codorna e 3,0 Kg⁻² do esterco de galinha as que apresentaram os melhores resultados. Em síntese o uso das diferentes fontes e doses de esterco avícola e a omissão de nutrientes influenciaram significativamente na produção de biomassa das plantas, no crescimento, no teor de clorofila e na composição química volátil e de compostos fenólicos de *Lippia gracilis*. Análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas caracterizaram o carvacrol e o timol como constituintes majoritários em amostras de ambos os experimentos. Portanto, este trabalho contribui com informações técnicas sobre as necessidades nutricionais de *L. gracilis*, visando a maximização da sua produção vegetal e teores de metabólitos.

Palavras-chave: *Lippia grata*. Adubação orgânica. Solução nutritiva. Carvacrol.

ABSTRACT

Several factors affect the growth, content and chemical composition of medicinal and aromatic plants, including, agronomic practices such as fertilization. This study had two objectives, the first aimed at evaluating the vegetative growth and volatile chemical composition of *Lippia gracilis*, employing the technique of the missing element. In the second, aimed to evaluate the effects of different doses and sources of poultry manure in biomass production, the levels of photosynthetic pigments, phenolic compounds and volatile chemical composition. In the first experiment, *L. gracilis* seedlings were grown in nutrient solution, using the missing element technique, omitting the macronutrients (N, P, K, Ca, Mg and S) for a period of 60 days. The absence of Ca, N and K was limiting vegetative growth of the plant. The decreasing order of nutrient limitation to *L. gracilis* growth was $Ca > N = K > P = Mg > S$. In the second experiment, *L. gracilis* seedlings were grown in two manures (quail and chicken) and doses (0.0, 1.5, 3.0 and 6.0 kg m⁻²) for a period of 120 days. Since the 1.5 kg⁻² doses of quail manure and 3.0 kg⁻² of chicken manure those that showed the best results. In summary, different sources and doses of poultry manure and nutrients omission influenced significantly the plant production biomass, growth, chlorophyll and phenolic compounds contents and volatile chemical composition of *L. gracilis*. Analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry characterized the carvacrol and thymol as major constituents in samples from both experiments. Therefore, this study contributes to technical information on the nutritional needs of *L. gracilis*, aiming to maximize their crop production and metabolites levels.

Key words: *Lippia grata*. Organic fertilizer. Nutrient solution. Carvacrol.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	9
1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Características botânicas, agronômicas e químico-biológicas de <i>Lippia gracilis</i> Schauer	11
2.2	Nutrição de plantas	13
2.2.1	Adubação orgânica	14
2.2.2	Adubação química	16
2.3	Nutrição mineral de plantas medicinais	17
2.4	Compostos fenólicos	18
	REFERÊNCIAS	21
	CAPÍTULO 2 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES QUÍMICAS POR headspace – CG/EM DE <i>Lippia gracilis</i> Schauer SOB OMISSÃO DE NUTRIENTES	29
1	INTRODUÇÃO	31
2	MATERIAL E MÉTODOS	33
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	51
	CAPÍTULO 3 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES QUÍMICAS DO ÓLEO ESSENCIAL E COMPOSTOS FENÓLICOS DE <i>Lippia gracilis</i> S. EM DIFERENTES TIPOS E DOSES DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA	58
1	INTRODUÇÃO	60

2	MATERIAL E MÉTODOS	62
2.1	Cultivo e análises de crescimento de <i>Lippia gracilis</i>	62
2.2	Extração do óleo essencial	64
2.3	Análises químicas do óleo essencial	64
2.4	Quantificação de pigmentos fotossintéticos	66
2.5	Doseamento de compostos fenólicos	66
2.5.1	Preparo dos extratos de <i>L. gracilis</i>	66
2.5.2	Doseamento de fenóis totais	67
2.5.3	Doseamento de flavonoides (flavonas e flavonóis totais)	67
2.5.4	Doseamento dos dihidroflavonóides totais	68
2.6	Análises estatísticas	68
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
3.1	Crescimento e matéria seca	69
3.2	Teores de pigmentos fotossintetizantes	73
3.3	Análises químicas do óleo essencial	76
3.4	Doseamento de compostos fenólicos	80
4	CONCLUSÕES	84
	REFERÊNCIAS	86

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

Hoje em dia, o cultivo de plantas aromáticas e medicinais tem atraído grande atenção entre os pesquisadores, devido ao aumento da demanda por produtos naturais em todo o mundo (KIAFAR et al., 2013). Um fator de grande influência na elevação da produtividade agrícola e das substâncias bioativas das plantas aromáticas e medicinais é a sua nutrição (COSTA, 2011). As propriedades nutricionais e medicinais das plantas estão ligadas ao conteúdo de N, P, K, Ca, Mg e vitamina C etc, juntamente com as suas propriedades antioxidantes (PANDEY et al., 2016).

Portanto, a nutrição de plantas e do solo é imperativa para atender a produção agrícola e o manejo sustentável das culturas. Nessa linha, a aplicação de resíduos orgânicos como esterco animal ou resíduos de culturas, é a prática ambiental e agrícola contemporânea para a manutenção de matéria orgânica do solo, recuperando solos degradados, e suprindo nutrientes essenciais às plantas (PANDEY et al., 2016).

Embora o cultivo orgânico seja o mais recomendado na produção agrícola de plantas medicinais e aromáticas, a fertilização química também pode ser empregada (CARRUBBA, 2014). Os nutrientes minerais possuem funções essenciais e específicas no metabolismo das plantas, sendo que as espécies vegetais normalmente diferem na exigência nutricional, as quais devem ser conhecidas para uma melhor exploração (BENEDETTI et al., 2009). De acordo com Oliveira et al. (2011), em poucos casos a adubação química é prejudicial aos teores de princípios ativos das plantas, quando usados dentro dos limites

técnicos. Os aumentos de biomassa podem compensar uma redução do teor de metabólitos secundários, mas dependem da análise econômica.

Estudos dedicados às respostas da fertilização orgânica e química sob o crescimento e produção de óleos essenciais e compostos fenólicos em plantas aromáticas bamburral (*Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau) (MAIA et al., 2008), elixir paregórico (*Ocimum selloi* Benth) (COSTA et al., 2008), boldo pequeno (*Plectranthus neochilus* Schlechter) (ROSAL et al., 2009), alecrim de tabuleiro (*Lippia gracilis* Schauer) (Oliveira et al., 2011), menta (*Mentha piperita* L.), (COSTA et al., 2013), melissa (*Melissa officinalis* L.) (LUZ et al., 2014), salva de Marajó (*Lippia origanoides* H.B.K.) (TELES et al., 2014) e mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) (FERRAZ et al., 2014) demonstraram que tais respostas são dependentes da espécie.

Lippia gracilis Schauer, conhecida popularmente, por alecrim-de-tabuleiro, é uma planta típica da região semiárida do Nordeste brasileiro que possui um óleo essencial rico em timol e carvacrol (MELO et al., 2013; OLIVEIRA; CREMASCO, 2014). Timol e carvacrol são dois monoterpênicos fenólicos com reconhecida atividade antimicrobiana e grande importância como preservativos de alimentos (FERNANDES et al., 2015; PORTILLO-RUIZ et al., 2012).

Diante do exposto, o presente trabalho tem dois objetivos. O primeiro visou avaliar o crescimento vegetativo e a composição química por *headspace*-CG/EM de *L. gracilis*, empregando a técnica do elemento faltante, com omissão dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S em solução nutritiva.

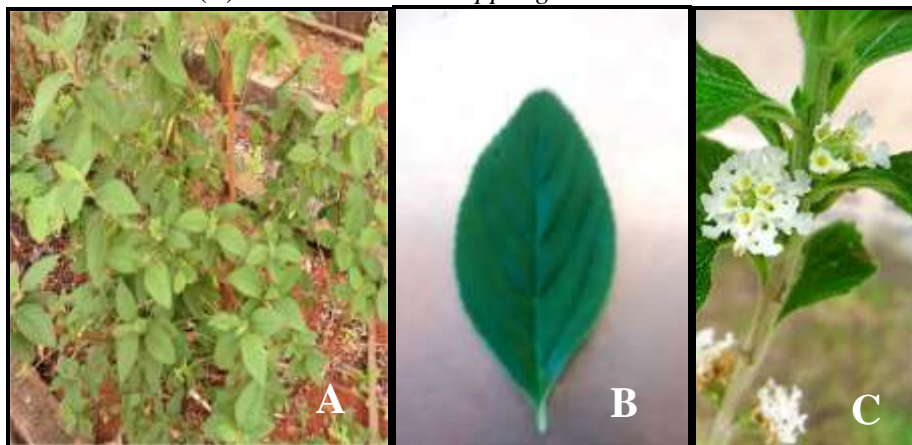
No segundo, propõe-se a avaliar os efeitos de diferentes doses e fontes de esterco avícola, na produção de biomassa, nos teores de pigmentos fotossintéticos e na composição química volátil, bem como avaliar o teor de compostos fenólicos de extratos etanólicos de *Lippia gracilis*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características botânicas, agronômicas e químico-biológicas de *Lippia gracilis* Schauer

Lippia gracilis Schauer (Figura 1) é uma espécie endêmica originária da região semiárida do Nordeste do Brasil, e distribui-se amplamente dentro da caatinga (MARCELINO JR., 2005). Conhecida popularmente por alecrim de tabuleiro, pertence à família Verbenaceae (MELO et al., 2013). No sertão nordestino encontra-se a altitudes de cerca de 450m, já no agreste encontra-se em altitudes de 960m (PRADO et al., 2012). Caracteriza-se por um pequeno arbusto caducifólio ramificado, com caule quebradiço, de até 2 m de altura. Suas folhas com pouco mais de 1 cm, são aromáticas, picantes e apresentam nervação bem visível. As flores são pequenas, esbranquiçadas e reunidas em espiga de eixo curto. Os frutos são do tipo aquênio extremamente pequenos, e suas sementes raramente germinam. Sua propagação pode ser feita via estaquia de ramos mais finos e menos lignificados (LORENZI; MATOS, 2002).

Figura 1 - (A) Hábito da planta *Lippia gracilis* (B) Detalhe morfológico da folha. (C) Inflorescência de *Lippia gracilis* S.



A planta *Lippia gracilis* é usada na medicina popular para o tratamento de tosse, sinusite, bronquite, congestão nasal e gripe (OLIVEIRA; CREMASCO, 2014).

Os óleos essenciais presentes em muitas plantas, denominadas aromáticas, são substâncias derivadas do metabolismo secundário. Entre as diversas funções dos óleos essenciais incluem-se a defesa contra predadores e a atração de polinizadores (BLANK, 2013). São considerados óleos por serem geralmente, líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente. Por apresentarem volatilidade, recebem também o nome de óleos voláteis (BLANK, 2013).

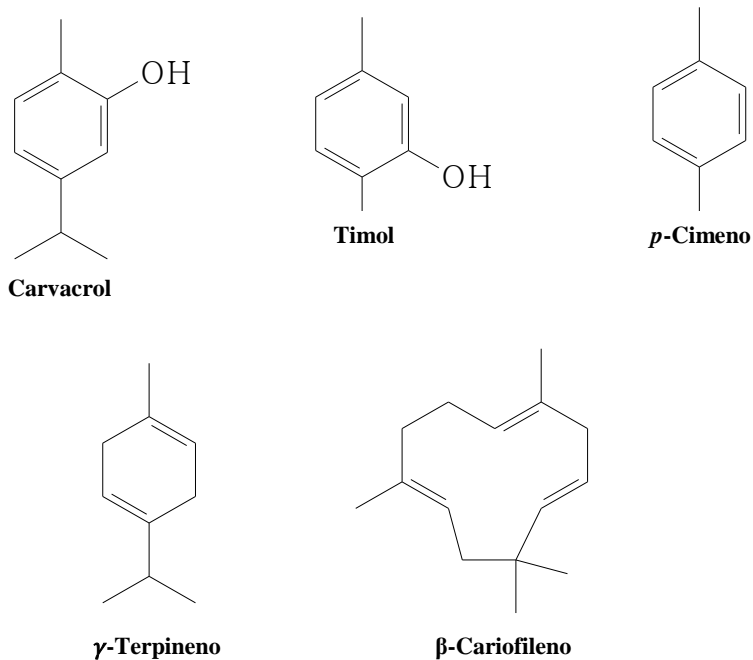
No gênero *Lippia*, a secreção dos óleos essenciais tem sido associada à presença de tricomas, os quais normalmente são de formas variadas entre grupos vegetais, mas em geral uniformes dentro de um mesmo táxon (SANTOS, 2004).

A espécie *L. gracilis* S. produz um óleo essencial cujos principais componentes são o timol e o carvacrol, fenóis com alta atividade antimicrobiana, diante diversos microrganismos de importância médica, veterinária e agrícola.

Estudos relacionam as atividades biológicas e farmacológicas destes fenóis com atividades antibactericida, antioxidante, fungicida e atividades acaricidas (OLIVEIRA; CREMASCO, 2014; SOUZA et al., 2012). É utilizado também como princípio ativo de formulações antissépticas, para o tratamento de infecções na boca, garganta e pele (LAMBERT et al., 2001). Outros compostos de natureza terpênica são encontrados no óleo essencial de *L. gracilis* S. como: *p*-cimeno, e β -cariofileno (CRUZ et al., 2014).

As estruturas químicas de alguns compostos do óleo essencial estão representadas na Figura 2.

Figura 2 - Estruturas químicas de constituintes presentes no óleo essencial da *Lippia gracilis* S.



2.2 Nutrição de plantas

2.2.1 Adubação orgânica

Adubação orgânica consiste no uso de resíduos orgânicos de origem animal, vegetal, agroindustrial e outros com a finalidade de aumentar a produtividade das culturas (COSTA, 2011).

Dentre os materiais orgânicos, o esterco é o mais encontrado em diferentes regiões do Brasil, sendo produzido por diferentes espécies animais, como os bovinos, cavalos, suínos e aves. A produção diária de esterco desses animais é bastante significativa. A vaca, pesando 453 Kg produz 23,5 Kg de esterco por dia, um cavalo de 385 Kg produz 16,3 Kg, um porco de 72 Kg produz 3,4 Kg de esterco e um frango pesando 1,6 Kg produz 100g de esterco mais urina (TRANI et al., 2008).

O uso da adubação orgânica utilizando o esterco proporciona melhorias na estrutura do solo, pois restringe as perdas de minerais por lixiviação, diminui os processos de compactação do solo, aumento da aeração e da drenagem, redução dos efeitos da erosão, elevação do número de microrganismos úteis e melhoria da CTC do solo, viabilizando a produção de uma determinada cultura (PANIAGO, 2006).

Em razão da facilidade de aquisição e seus benefícios, como fonte de matéria orgânica ao solo e nutrientes às plantas, diferentes fontes de esterco têm sido utilizadas em cultivos de plantas. Os de origem avícola têm sido usados como alternativa viável, já que contribui para a melhoria da estrutura física e química do solo, aumentando a atividade microbiana, diminuindo a acidez do alumínio tóxico, reduzindo a fixação do fósforo e fornecendo grandes quantidades de macro e micronutrientes para as plantas (OLIVEIRA, 2014). Segundo Júnior et al. (2012) a adubação com esterco avícola vem sendo

utilizada com excelentes resultados, por ser rica em nitrogênio e também por apresentar fósforo, potássio e micronutrientes necessários em gramíneas. No entanto, o conhecimento dos efeitos dessa adubação no crescimento e produção de metabólitos secundários em plantas medicinais são ainda incipientes.

A adubação orgânica é recomendada para o cultivo de plantas medicinais, pois é a principal fonte de nutrientes, microrganismos e energia para o solo. Proporciona macro e micronutrientes para as plantas e benefícios para a agricultura por possuir baixos custos e retornos altos (SODRÉ, 2012).

Visando preservar os princípios ativos no cultivo de plantas medicinais, recomenda-se a utilização de adubos orgânicos, ao invés de fertilizantes químicos (MAIA et al., 2008).

Luz et al. (2014) concluíram que a adubação orgânica (8,0Kg m⁻² de esterco de curral curtido) aumenta a produção industrial de citral (neral + geranial) e melhora a produção de biomassa em melissa (*Melissa officinalis* L.).

O esterco de aves, por ser bastante rico em nitrogênio, fósforo e outros nutrientes, aumentou a disponibilidade de nutrientes no solo e nas plantas de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau) (MAIA et al., 2008).

Estudos anteriores com elixir paregórico (*Ocimum selloi* Benth) observaram aumento na altura das plantas com o incremento das doses de adubação, atingindo um valor máximo com a aplicação de 8 Kg m⁻² de esterco bovino e 4,7 Kg m⁻² para esterco avícola. Maior produção de biomassa seca total (BST) da planta foi obtida com a dosagem 9,7 Kg m⁻² de esterco bovino e 4,3 Kg m⁻² de esterco avícola (COSTA et al., 2008).

Esterco de galinha e codorna possuem elevados teores de N - NH₄ e N - NO₃, devido os teores mais elevados de N total nesses resíduos, o que mostra que estes podem ser utilizados como fonte imediata de N, pois estas fontes de N são prontamente disponibilizadas para as plantas (MELO; SILVA e DIAS, 2008).

2.2.2 Adubação química

Os adubos químicos proporcionam rápida resposta e desenvolvimento das plantas, uma vez que suas necessidades imediatas são atendidas. Porém, os fertilizantes químicos exigem um alto custo do produtor devido aos gastos energéticos com a produção e transporte até a propriedade rural. Se forem utilizados de forma inadequada, os adubos químicos causam efeitos negativos sobre a vida microbiana do solo, tais como degradação, salinização, acidificação e desertificação do solo (MAIA et al., 2008).

Quando utilizados dentro dos limites técnicos, os adubos químicos incrementam os teores de princípios ativos das plantas. Poucas informações sobre a fertilização química e exigências nutricionais de plantas medicinais são encontradas, principalmente no Brasil (OLIVEIRA et al., 2011).

A nutrição de plantas é um dos fatores que mais afetam a qualidade e quantidade dos metabólitos secundários das plantas (PANDEY et al., 2016).

O rendimento dos óleos essenciais é favorecido pela aplicação de fertilizantes, principalmente o nitrogênio, pois incrementa a produção de biomassa total por unidade de área (ZAMBRANO et al., 2013).

A aplicação de 100 Kg ha⁻¹ de N na forma de ureia aumentou a produção de matéria seca na *Lippia alba* e, mais intensamente, na *Lippia origanoides*, porém, não afetou a composição química do óleo essencial em ambas as espécies (ZAMBRANO et al., 2013).

Em *Tagetes minuta* L. o esterco de galinha (2,5 Kg ha⁻¹) x adubação química (75:30:30 NPK) utilizados em uma combinação de cinquenta por cento cada um, foi ideal para a alta produtividade, rendimento do óleo, melhoria das características do solo e atividade antioxidante (PANDEY et al., 2015).

2.3 Nutrição mineral de plantas medicinais

A nutrição é um dos fatores que interferem na composição química das plantas, uma vez que sua deficiência ou excesso podem interferir na produção de biomassa e na quantidade de princípio ativo (ROSAL et al., 2011).

Nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), são macronutrientes. Ferro (Fe), zinco (Zn), boro (B), manganês (Mn), molibdênio (Mo), cloro (Cl), cobre (Cu) e níquel (Ni), são micronutrientes. Em relação às concentrações dentro das plantas, os nutrientes podem ser classificados em quatro grupos de acordo com as funções fisiológicas e comportamento bioquímico (MARSCHNER, 2012):

- a) 1º grupo: N e S. Estão os nutrientes que fazem parte de compostos de carbono;
- b) 2º grupo: P, B. Composto pelos nutrientes importantes em reações de armazenamento de energia ou na manutenção da integridade estrutural;
- c) 3º grupo: K, Ca, Mg, Cl e Mn. São os que permanecem no tecido vegetal na forma iônica e apresentam importantes funções como: cofatores enzimáticos e regulação de potenciais osmóticos;
- d) 4º grupo: Fe, Zn, Cu, Ni e Mo. Nutrientes com funções importantes em reações que envolvem transporte de elétrons.

Técnicas como a do elemento faltante em solução nutritiva são utilizadas para determinar a função e limitação de determinados nutrientes nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) é a mais completa, a qual disponibiliza todos os nutrientes para o crescimento das plantas, sem causar sintomas de toxidez ou estresse salino. Existem diversas adaptações desta solução, as quais são adequadas a cada cultura em estudo (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Cada espécie necessita de quantidades específicas de nutrientes, variando de acordo com o crescimento e o metabolismo do princípio ativo produzido (ALVARENGA, 2013).

Um dos fatores mais importantes que causam estresse e interfere diretamente no crescimento vegetativo e na produção do óleo essencial é a nutrição mineral de plantas (SILVA, 2015).

O excesso ou a deficiência de nutrientes provoca o estresse e estimula a produção de compostos fenólicos, podendo aumentar e variar entre as espécies de plantas, variando sua rota de biossíntese (SILVA, 2015).

Há diversos trabalhos relacionados com nutrição mineral na literatura como em morango (*Fragaria x ananassa Duch*) (RODAS, 2008), em mil folhas (*Achillea millefolium* L.) (ALVARENGA, 2013), pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) (MAIA et al., 2014) e melissa (*Melissa officinalis* L.) (SILVA, 2015).

Existem poucos estudos das exigências nutricionais das plantas medicinais, aromáticas e condimentares, principalmente sobre quais elementos limitam o crescimento e como os nutrientes afetam a boa produtividade e a produção dos metabólicos secundários (SANTOS et al., 2010; ALVARENGA, 2013).

2.4 Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são produzidos em plantas com metabolismo secundário através da via do ácido chiquímico. A fenilalanina amônioliase (PAL) é a enzima chave para catalisar a biossíntese de compostos fenólicos a partir do ácido amino aromático fenilalanina. São caracterizados por terem pelo menos um anel aromático com um ou mais grupo hidroxila ligados. Podem ser classificados com base no número e arranjo dos seus átomos de carbono em flavonoides (flavonois, flavonas, flavan-3-óis, antocianidinas, flavanonas, as

isoflavononas e outros) e não flavonoides (ácidos fenólicos, hidrocinaamates, estilbenos e outros) e são encontrados geralmente conjugados com açúcares e ácidos orgânicos (CARTEA et al., 2011).

As substâncias fenólicas são reconhecidas por serem detentoras de pronunciada atividade antioxidante, atuando como sequestradoras de radicais livres e como quelantes de metais. Atuam como radicais livres por meio de uma doação de um átomo de hidrogênio (PESSUTO et al., 2009; SUCUPIRA et al., 2012).

REFERÊNCIAS

ALVARENGA, I. C. A. **Lâminas de irrigação e omissão de nutrientes no cultivo *in vivo* e luz e tdz na micropropagação e constituintes voláteis de *Achillea millefolium* L.** 2013. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Departamento de agricultura. UFL, Lavras, MG, 2013.

BENEDETTI, E. L.; WINK, C.; SANTIN, D.; SEREDA, F.; ROVEDA, L. F.; SERRAT, B. M. Crescimento e sintomas em mudas de espinheira-santa com omissão de nitrogênio, fósforo e potássio. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 39, n. 2, p. 335-343, abr./jun. 2009.

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

CARRUBBA, A. Organic and chemical n fertilization on coriander (*Coriandrum sativum* L.) in a Mediterranean environment. **Industrial Crops and Products**, v. 57, p. 174-187, apr./2014.

CARTEA, M.E.; FRANCISCO, M.; SOENGAS, P.; VELASCO, P. Phenolic Compounds in *Brassica* Vegetables. **Molecules** 2011, v. 16, p. 251-280; doi:10.3390/molecules16010251.

CEZAR, R. M.; BARBOSA, J. Z.; PAULETTI, V. Expressão da capacidade de troca de cátions radicular e nutrição de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) sob deficiência de nutrientes. **Científica**, Jaboticabal, v. 44, n. 1, p. 83-90, ago/2016.

COSTA, A. G. **Adubação orgânica níveis de sombreamento e tipos de malhas sobre o crescimento e a produção de óleo essencial de hortelã-pimenta.** 2011. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, MG, 2011.

COSTA, A. G.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CHAGAS, J. H.; FERRAZ, E. O.; PINTO, J. E. B. P. Biomass production, yield and chemical composition of peppermint essential oil using different organic fertilizer sources. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 37, n. 3, p. 202-210, maio/jun., 2013.

COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P.; CASTRO, E. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; REIS, E. S.; ALVES, P. B.; NICULAU, E. S. Sources and doses of organic fertilization in *Ocimum selloi* growth, essential oil yield and chemical composition. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, nov/2008.

CRUZ, E. M. O.; JUNIOR, L. M. C.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. A.; ARAUJO, S. A.; BLANK, M. F. A.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; BLANK, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus)* microplus. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 198-202, 2012.

CRUZ, E. M. O.; PINTO, J. A. O.; FONTES, S. S.; BLANK, M. F. A.; BACCI, L.; JESUS, H. C. R.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. Water Deficit and Seasonality Study on Essential Oil Constituents of *Lippia gracilis* Schauer Germplasm. **The Scientific World Journal**, 2014. Article ID 314626, 9 pages.

FERNANDES, L. C. B.; ALBUQUERQUE, C. C.; SALES JÚNIOR, R.; OLIVEIRA, F. F. M.; GURGEL, E. P.; MESQUITA, M. V.; SILVA, M. D. S. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 2, p.153-155, 2015.

FERRAZ, E. O.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; BRAGA, A. F.; COSTA, A. G. Organic systems in the growth and essential-oil production of the yarrow. **Rev. Ciênc. Agron**, v. 45, n. 1, p. 111-119, jan./mar, 2014.

KIAFAR, R.; ZADEH, M. A.; KHOMMAMI, A. M. Investigation of the Effect of Some Organic Fertilizers on the Oil of Lemon Verbena (*Lippia citriodora* L.) and Its Antibacterial Effects. **Intl J Farm & Alli Sci**, v. 2, n. 20, p. 866-871, 2013.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453-462, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. 544 p.

LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; HABBER, L. L.; MARQUEZ, M. O. M. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 16, n.3, jul./set. 2014.

MAIA, J. T. L. S.; BONFIM, F. P. G.; GUANABENS, R. E. M.; TRENTIN, R.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G. FONTES, P. C. R. Omissão de nutrientes em plantas de pinhão-manso cultivadas em solução nutritiva. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 5, p. 723-731, set./out, 2014.

MAIA, S. S. S.; PINTO, J. E. B. P.; SILVA, F. N.; OLIVEIRA, C. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo do bamburral (*Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau) (Lamiaceae). **Rev.Bras.Ciênc.Agrar.**, Recife, v. 3, n. 4, p. 327-331,2008.

MARCELINO JR, C. A. C.; BARBOSA, R. M. N.; CAMPOS, A. F.; SANTOS, A. P.; LACERDA, C. C.; SILVA, CARLOS, E. G. Utilizando uma cuscuzeira extração de óleo essencial do alecrim-da-chapada (*Lippia gracilis*), uma planta da caatinga. **Química Nova Na Escola**, v. 22, 2005.

MARCELINO JÚNIOR, A. P. O.; ORRICO, A. C. A.; CENTURION, S. R.; SUNADA, N. S.; JUNIOR, F. M. V. Morphogenetic characteristics of palisadegrass Piata fertilized with effluent from poultry processing plant. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2012. ISSN 0103-8478.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Elsevier Ltda. 3. ed. 2012.

MELO, J. O.; BITENCOURT, T. A.; FACHIN, A. L.; CRUZ, E. M. O.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BLANK, M. F. A.; FRANCA, S. C; BELEBON, I R. O.; FERNANDES, R. P. M.; BLANK, A. F.; SCHER, R. Antidermatophytic and antileishmanial activities of essential oils from *Lippia gracilis* Schauer genotypes. **Acta Tropica**, v. 128, p. 110-115, 2013.

MELO, L. C. A.; SILVA, C. A; DIAS, B. O. Caracterização da matriz orgânica de resíduos de origens diversificadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 101-110, jan./fev. 2008.

OLIVEIRA, A. C. L.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK, A. F.; BIANCHINI, F. G. Produção de mudas de dois genótipos de alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis* Schauer) em função de fertilizante mineral, calcário, substratos e recipientes. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.1, p. 35-42, 2011.

OLIVEIRA, C. E. L.; CREMASCO, M. A. Determination of the vapor pressure of *Lippia gracilis* Schum essential oil by thermogravimetric analysis. **Thermochimica Acta**. v. 577, p. 1-4, 2013.

OLIVEIRA, P. P.; COSTA, A. C.; LIMA, W. L. Utilização De Diferentes Dosagens De Esterco Em Variedades De Alface. **Cadernos de Agroecologia**, v.9, n. 4, nov/2014.

PANDEY, V.; PATEL, A.; PATRA, D. D. Integrated nutrient regimes ameliorate crop productivity, nutritive value, antioxidant activity and volatiles in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 87, p; 124-13, apr/2016.

PANDEY, V.; PATEL, A.; PATRA, D. D. Amelioration of mineral nutrition, productivity, antioxidant activity and aroma profile in marigold (*Tagetes minuta* L.) with organic and chemical fertilization. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 378-385, jul/ 2015.

PANIAGO, R. **Qual o valor do esterco de confinamento de bovinos?** 2006. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/sistemas-de-producao/qual-o-valor-do-esterco-de-confinamento-de-bovinos-28974/>>. Acesso em: 18 abr. 2016.

PESSUTO, M. B. et al. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 412-416, 2009.

PRADO, V. M. J.; MORAES, V. R. S.; NOGUEIRA, P. C. L.; CRUZ, E. M. O.; BLANK, A. F.; FILHO, E. R. P.; MARTINS, L. R. R. Caracterização de chás de genótipos de *Lippia gracilis* Schauer através de perfil cromatográfico por claudação combinado com análises quimiométricas. **Quim. Nova**, v. 35, n. 9, p.1814-1818, ago/2012.

RODAS, C. L. **Deficiências nutricionais no morangueiro: caracterização dos sintomas visuais, produção e nutrição mineral.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Solos) - Universidade Federal de Lavras, Departamento de ciência dos solos. UFLA. Lavras, MG, 2008.

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

ROSAL, L. F.; PINTO, J. E. B. P.; BRANT, R. S. Produção de biomassa e óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivado no campo sob níveis crescentes de adubo orgânico. **Pesquisa aplicada & Agrotecnologia**, v. 2, n. 2, maio/ ago, 2009.

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

SANTOS, R. C.; FILHO, A. A. M.; COSTA, H. N. R.; PANERO, F. S.; BARRETO, H. C. S.; COSTA, M. C. G.; TONINI, H.; SOUZA, R. C. P. Influência da adubação NPK no rendimento do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis*. **Orbital the electronic journal of chemistry**, v.2, n. 4, out./dez, 2010.

SILVA, T. C. **Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob omissão de nutrientes e em consórcio com *Achillea millefolium* L.** 2015. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Departamento de agricultura. UFLA, Lavras, MG, 2015.

SODRÉ, A. C. B.; LUZ, J. M. Q.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, C. R. R.; BLANK, A. F. Organic and mineral fertilization and chemical composition of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.**, v. 22, n. 1, jan./fev. 2012.

SOUZA, A. V. V.; SILVA, N. G. B.; SILVA, F. P.; SANTOS, U. S.; SANTOS, M. C.; OLIVEIRA, F. J. V. Produção de alecrim de tabuleiro utilizando diferentes doses de adubação orgânica em condição de estresse hídrico. **Hortic. bras.**, v. 30, n. 2, jul, 2012. (Suplemento).

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, n. 14, v. 4, p. 263-269, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre, 2013.

TRANI, P. E. et al. Superfosfato simples com esterco animal: um bom fertilizante organomineral. **Informações Tecnológicas**, São Paulo, abr. 2008. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/organomineral/index.htm>. Acesso em: 15 set. 2016.

YOUSEFZADEH, S.; MODARRES-SANAVY, S. A. M.; SEFIDKON, F.; ASGARZADEH, A.; GHALAVAND, A.; SADAT-ASILAN, K. Effects of Azocompost and urea on the herbage yield and contents and compositions of essential oils from two genotypes of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in two regions of Iran. **Food Chemistry**, Oxford, v.138, n. 2-3, p. 1407-1413, maio, 2013.

ZAMBRANO, E. L. M.; BUITRAGO, L. A. F.; DURÁN, L. A. G.; SÁNCHEZ, M. S. S. O.; BONILLA, C. R. C. Efecto de la fertilización nitrogenada en el rendimiento y la composición de los aceites esenciales de especies y la composición de los aceites esenciales de especies y accesiones de *Lippia*. **Acta Agronomica.**, v. 62, n. 2, p. 129-135, 2013.

CAPÍTULO 2 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES QUÍMICAS POR *headspace* – CG/EM DE *Lippia gracilis* Schauer SOB OMISSÃO DE NUTRIENTES

RESUMO

O suprimento eficiente de nutrientes para as plantas e solo é fundamental para aumentar a produção agrícola. A *Lippia gracilis* é uma planta produtora de um óleo essencial rico em carvacrol e timol, substâncias com reconhecida propriedade antimicrobiana. Objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo e a composição química por *headspace*-CG/EM de *L. gracilis*, empregando a técnica do elemento faltante com omissão dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S em solução nutritiva. O experimento foi conduzido sob a técnica do elemento faltante em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950). Foram avaliados sete tratamentos, sendo um completo, contendo todos os nutrientes, e seis com omissão individual de nutrientes: -N, -P, -K, -Ca, -Mg e -S. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e três plantas por parcela. Após 60 dias, o experimento foi coletado para avaliação das matérias secas de raízes, caule, folha e total da planta (g vaso⁻¹) e realização das análises químicas por *headspace*-CG/EM. A ausência de Ca, N e K foi limitante ao crescimento vegetativo da planta. A ordem decrescente de limitação dos nutrientes para o crescimento de *L. gracilis* foi Ca>N=K>P=Mg>S. Variações na composição química volátil qualitativas e quantitativas ocorreram dependendo do nutriente omitido. Nas análises químicas por *headspace*-CG/EM, o constituinte químico majoritário identificado em todos os tratamentos foi o carvacrol. Entretanto, queda drástica nos teores deste componente foi observada nos tratamentos sem Ca, Mg e S, pois não houve conversão de *p*-cimeno à carvacrol e timol. Conclui-se que o crescimento e a composição química volátil de *L. gracilis* são alterados em função dos nutrientes essenciais, podendo estabelecer um manejo adequado às exigências nutricionais, interligando o acúmulo de biomassa aos teores desejados de constituintes voláteis.

Palavras-chaves: *Lippia grata*. Deficiência nutricional. Solução nutritiva.

ABSTRACT**Biomass production and chemical analysis by *headspace* - GC / MS of *Lippia gracilis* Schauer under nutrient omission**

The efficient supply of nutrients for plants and soil is essential to increase agricultural production. The *Lippia gracilis* is a production plant of an essential oil rich in carvacrol and thymol, substances with recognized antimicrobial property. This study aimed to evaluate the vegetative growth and chemical composition by *headspace*-GC / MS of *L. gracilis*, employing missing technique element by omitting the macronutrients N, P, K, Ca, Mg and S from complete nutrient solution. The experiment was conducted under the missing element technique in Hoagland and Arnon (1950) nutritive solution. Seven treatments, being one complete, contain all the nutrients, and six with missing nutrients: N, P, K, Ca, Mg and S. The experimental design was completely randomized, with four replications and three plants per plot. After 60 days, the experiment was collected for evaluation of dry matter of roots, stem, leaf and total plant (g pot^{-1}) and the chemical analyzes by *headspace*-GC/MS. Lack of Ca, N, and K was limiting vegetative growth of the plant. The decreasing order of nutrient limitation to *L. gracilis* growth was $\text{Ca} > \text{N} = \text{K} > \text{P} = \text{Mg} > \text{S}$. Variations in the qualitative and quantitative chemical composition of volatile occur depending on the nutrient omitted. In the chemical analysis by *headspace*-GC/MS, the major chemical constituent identified in all treatments was carvacrol. However, drastic drop in the levels of this component was observed in treatments without Ca, Mg and S, as there was no conversion of *p*-cymene to carvacrol and thymol. We conclude that growth and volatile chemical composition of *L. gracilis* are changed to the essential nutrients and may establish a proper management the nutritional requirements, linking the accumulation of biomass to the desired content of volatile constituents.

Key words: *Lippia grata*. Nutritional deficiency. Nutrient solution.

1 INTRODUÇÃO

Lippia gracilis Schauer, conhecida popularmente por alecrim-de-tabuleiro, é um arbusto ramificado capaz de alcançar até 2 metros de altura. É uma planta típica da região semiárida do Nordeste brasileiro. As folhas de *L. gracilis* são ricas em óleo essencial com significativa atividade antimicrobiana, devido ao elevado teor dos monoterpenos fenólicos, tais como carvacrol e timol (MATOS et al., 1999; ALBUQUERQUE et al., 2006; CRUZ et al., 2013). Santos et al. (2014) verificaram o potencial do óleo de *Lippia gracilis* Schauer em inibir o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, *in vitro*, podendo ser uma alternativa no manejo integrado do cancro bacteriano da videira. Fernandes et al. (2015) concluíram que o óleo essencial de *Lippia gracilis* foi eficiente frente ao fungo *M. cannonballus*, abrindo novas possibilidades para a indústria química, no sentido de lançar no mercado, novos produtos químicos de origem vegetal, afim de controlar fungos fitopatogênicos.

Fatores como nutrição mineral, bem como limitação de nutrientes podem influenciar a produção de óleos essenciais em plantas aromáticas. Pesquisas nesta área foram recentemente realizadas em alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) por Tounekti et al., 2011; em sálva-de-marajó (*Lippia organoides* H.B.K) por Teles et al., 2014; em melissa (*Melissa officinalis* L.) por Yadegari et al., 2014; e, em mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) por Alvarenga et al., 2015. Em *L. gracilis*, também já foram demonstradas variações no crescimento vegetativo, rendimento e/ou na composição química do óleo essencial, em função da adubação organomineral (SOUZA et al., 2012); sazonalidade e déficit hídrico com sete genótipos (CRUZ et al., 2014; SANTOS et al., 2016); salinidade (RAGAGNIN et al., 2014) e; horário diurno de colheita (BITU et al., 2015). Embora os estudos agrônômicos já realizados tenham apontado os efeitos da fertilização orgânica e mineral e da salinidade sobre o crescimento e

produção de óleos essenciais sobre plantas de *L. gracilis*, não há relatos na literatura sobre o efeito da omissão de macronutrientes nestes parâmetros.

É sabido que macro e micronutrientes desempenham papéis essenciais no crescimento e desenvolvimento das plantas através da sua associação ou envolvimento com numerosos processos fisiológicos, incluindo respiração, fotossíntese e formação da parede celular. No entanto, esses nutrientes também fornecem os cofatores necessários para a atividade bioquímica de inúmeras enzimas do metabolismo primário e secundário, e a disponibilidade limitada ou ausência de um elemento pode induzir a alterações nas vias biossintéticas e/ou capacidade catabólica de uma planta (ALVARENGA et al., 2015).

Além de afetarem o crescimento vegetativo, a deficiência ou toxidez de nutrientes minerais pode manifestar quadros sintomatológicos, muitas vezes característicos para cada nutriente, sendo dependente da espécie estudada e dos fatores ambientais (OLIVEIRA et al., 2009; DAFLON et al., 2014).

Objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo e a composição química por *headspace*-CG/EM de *L. gracilis*, empregando a técnica do elemento faltante com omissão dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S em solução nutritiva.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG, no período de dezembro de 2014 a fevereiro de 2015.

O material vegetal foi herborizado e a exsicata encontra-se depositada no herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), sob registro PAMG 57859. Foi identificada com o nome válido *Lippia grata* Schauer, no entanto, nesse trabalho será utilizado seu sinônimo *Lippia gracilis* Schauer, devido a maior disponibilidade de trabalhos publicados.

As mudas de *L. gracilis* foram produzidas a partir de propagação vegetativa por meio de estacas apicais (± 5 cm) coletadas de plantas matrizes do Horto de Plantas Medicinais do DAG/UFLA. Enraizadas em bandeja de polipropileno de 128 células utilizando-se substrato comercial Tropstrato HA.

Mudas com 60 dias de idade foram padronizadas e transferidas para uma bandeja plástica contendo 20L de solução nutritiva de Hogland e Arnon (1950) na concentração de 25%, na primeira semana e a 50% na semana posterior, para adaptação. Na terceira semana o experimento foi instalado. As plantas de *L. gracilis* foram cultivadas em solução nutritiva, sendo esta, completa no tratamento controle e, para os demais tratamentos empregou-se a técnica do elemento faltante, com omissão individual dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, da solução de Hogland e Arnon (1950).

As soluções nutritivas foram preparadas com os sais puros, e a concentração de nutrientes da solução nutritiva completa foi de 210,1 mg L⁻¹ de N; 31 mg L⁻¹ de P; 234,6 mg L⁻¹ de K; 200,4 mg L⁻¹ de Ca; 48,6 mg L⁻¹ de Mg; 64,2 mg L⁻¹ de S; 500 µg L⁻¹ de B; 20 µg L⁻¹ de Cu; 648 µg L⁻¹ de Cl; 5,022 µg L⁻¹ de Fe; 502 µg L⁻¹ de Mn; 11 µg L⁻¹ de Mo e 50 µg L⁻¹ de Zn por litro de solução. Para as demais soluções foi omitido por tratamento um dos

seguintes nutrientes: -N, -P, -K, -Ca, -Mg, -S.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos, quatro repetições e três plantas/vaso por unidade experimental.

As mudas foram cultivadas por 60 dias, em vasos com capacidade de 6,0 L de solução, com sistema permanente de aeração, sendo as soluções trocadas semanalmente e completadas diariamente com água deionizada para manter o nível constante da solução. Foram utilizadas placas de isopor de 4 cm de espessura como suporte para as plantas.

O experimento foi monitorado todos os dias, ao final de 60 dias, as plantas de *L. gracilis* foram colhidas, separadas em raiz, caule e folha e, individualmente, desidratadas em estufa com ventilação forçada a 40°C, até peso constante. As massas dos materiais vegetais secos foram mensuradas, sendo as biomassas secas de raiz, caule, folha e total da planta expressas em g vaso⁻¹.

Os dados de crescimento foram submetidos à análise de variância pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

As análises químicas por *headspace*-CG/EM foram realizadas no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Agricultura da UFLA. Utilizou-se um sistema de cromatografia em fase gasosa Agilent® 7890A acoplado a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, California, EUA), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1 scan/s, com intervalo de aquisição de matérias de 40-400 m/z., equipado com um extrator “*headspace*” automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG, Switzerland).

As amostras constituíram-se de 100 mg de folhas secas de *L. gracilis*, acondicionadas em *vials* de 20 mL, vedados com septo de silicone/PTFE, os quais foram incubados, individualmente, pelo amostrador automático, a 110°C

por 60 min. Após esse período, um volume de 500 μL da fase de vapor foi injetado em modo *split* na razão 50:1, com seringa *gas-tight* na temperatura de 120°C.

Utilizou-se uma coluna capilar de sílica fundida HP5-MS (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 μm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). O gás hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min; as temperaturas do injetor e da linha de transferência para o EM foram mantidas em 240 °C. A temperatura inicial do forno foi de 50°C, seguido por uma rampa de temperatura de 3°C por minuto até 240°C, seguida de uma rampa de 10°C por minuto até 280°C. As concentrações dos constituintes da análise química foram expressas pela porcentagem de área relativa dos sinais do cromatograma total de íons \pm o desvio padrão ($n=3$).

Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos seus índices de retenção relativos à coinjeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C₈-C₂₀, Sigma-Aldrich®, St. Louis USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST, 2008) e de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) e para as atribuições foram consultados índices de retenção de literatura (ADAMS, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ausência dos nutrientes Ca, N e K foram limitantes para o crescimento das plantas *Lippia gracilis*, quando comparados com o tratamento completo. Os menores acúmulos de biomassas secas foram observados nestes tratamentos quando comparado aos demais nutrientes. A omissão do N e Ca também foram limitantes para produção de matéria seca para mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) (ALVARENGA et al., 2015), pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) (VIÉGAS et al., 2013) e melissa (*Melissa officinalis* L.) (SILVA, 2015).

A deficiência de Ca causou má formação nas folhas jovens, encurvamento dos ápices, clorose marginal que evolui para necrose, levando a folha a morrer da margem para o centro. O cálcio foi o nutriente mais limitante para o crescimento das plantas de *L. gracilis*. A menor biomassa total foi observada nesse tratamento (Tabela 1). A permeabilidade da membrana e a integridade celular dependem da adequada concentração de Ca nos tecidos (TAIZ; ZEIGER, 2013). O cálcio desempenha um importante papel no crescimento e desenvolvimento das plantas, particularmente em relação à formação da parede celular e nas regiões meristemáticas (VIEGAS et al., 2013; KUDLA et al., 2010). Sintomas similares de deficiência de Ca foram observados por Mascarenhas et al. (2013) em plantas de soja, os quais relataram a importância desse nutriente no processo da divisão celular, cuja deficiência pode causar a morte gradual dos ápices.

Tabela 1 - Valores médios da biomassa seca de órgãos e total e relação raiz/parte aérea de *Lippia gracilis* sob omissão de nutriente e completa em solução nutritiva. Lavras, 2016. ⁽¹⁾

Tratamento	Biomassa seca (g vaso ⁻¹)				Relação raiz/ parte aérea
	Folhas	Caule	Raiz	Total	
Completo	1,05d	0,93b	1,78c	3,76c	0,90b
-N	0,43e	0,49c	0,49e	1,41d	0,53c
-P	1,89c	0,63c	3,39a	5,92b	1,34a
-K	0,28e	0,62c	0,62e	1,53d	0,69c
-Ca	0,20e	0,25c	0,27f	0,52e	0,60c
-Mg	2,90b	1,24b	1,47d	5,62b	0,36d
-S	5,15a	5,85a	2,79b	13,79a	0,25d
CV (%)	27,15	16,61	8,74	13,53	22,27

⁽¹⁾ Médias seguidas com letras iguais, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

A omissão de nitrogênio causou clorose generalizada nas folhas velhas, evoluindo para necrose e queda das folhas. Analisando os parâmetros de acúmulo de biomassa, o nitrogênio, assim como o cálcio, também foi limitante para o crescimento da espécie em estudo. Nota-se pela razão raiz/parte aérea que o crescimento das raízes foi mais prejudicado que o da parte aérea (Tabela 1).

Sintomas de deficiência de nitrogênio, como coloração verde-claro, estão associados com a menor produção de clorofila (MARSCHNER, 2012; MALAVOLTA, 2006). Plantas sob omissão de nitrogênio prontamente o redistribui via floema, exibindo coloração amarela em suas partes mais velhas (MALAVOLTA, 2006), como observado no presente trabalho. O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas plantas, o mesmo participa de diversos compostos indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento vegetal, dentre eles a biossíntese de aminoácidos, proteínas e enzimas, presentes na estrutura dos ácidos nucleicos e das proteínas (FREITAS et al., 2011; KOVACIK; BACKOR, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A omissão de potássio causou clorose e posterior necrose das folhas mais velhas. O acúmulo de biomassa de órgãos e total e a relação raiz/parte aérea nas plantas cultivadas sem potássio tiveram respostas estatisticamente equivalentes àsquelas observadas para as plantas cultivadas sem nitrogênio (Tabela 1). Sintomas similares foram observados em chicória (*Cichorium endivia* L.) por Puga et al. (2010). O potássio é indispensável na abertura e fechamento dos estômatos, na expansão celular, na produção e transporte de açúcares e na regulação do potencial osmótico das células das plantas (MARSCHNER, 2012). A abertura e fechamento dos estômatos afeta a fotossíntese, pois quando esses não funcionam normalmente, há menor entrada de CO₂, o que diminui a intensidade fotossintética (FAQUIN, 2005). Por atuar nos processos fisiológicos do vegetal, a ausência de potássio provoca distúrbios no metabolismo das plantas (FERNANDES, 2006; VIEGAS et al., 2014).

Na omissão de fósforo observou-se uma coloração verde escura e tamanho reduzido nas folhas mais velhas. Bergmann (1992) explica que isso ocorre devido ao aumento da concentração de clorofila por unidade de área foliar, já que as folhas ficam menores, porém, não afetando, inicialmente, a síntese de clorofila.

O fósforo não foi limitante para o crescimento vegetativo de *L. gracilis*. Nota-se pela Tabela 1 que o acúmulo de biomassa seca de folha, raiz e total foram superiores àquelas do tratamento completo. Grant et al. (2001) explicam que as plantas apresentam alguns mecanismos de adaptação para melhorar seu acesso aos estoques de P em condições de deficiência desse elemento, um deles é o aumento do sistema radicular, desenvolvendo rapidamente raízes laterais com abundantes pelos radiculares. Conforme Mengel e Kirkby (1987), plantas com deficiência em fósforo têm a síntese de proteínas e a de ácidos nucleicos comprometida. O fósforo é o elemento químico importante do trifosfato de adenosina (ATP), importante para diversos processos bioquímicos, incluindo dentre outros a respiração e a fotossíntese (FAQUIN, 2005; FERNANDES, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A omissão de magnésio causou clorose seguida de bronzeamento nas folhas velhas e clorose internerval. Os mesmos sintomas foram observados em pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), por Maia et al. (2014). O magnésio tem participação na ativação de enzimas no processo de respiração, fotossíntese e síntese de DNA e RNA, é também carreador de P e compõe a molécula da clorofila, as quais são porfirinas magnesianas (FAQUIN, 2005; MALAVOLTA, 2006; MARCHNER, 2012). No que tange ao crescimento, assim como observado para a omissão de fósforo, a falta de magnésio também não prejudicou o crescimento de *L. gracilis*. Ambos nutrientes apresentaram valores de acúmulo de biomassa seca total, estatisticamente iguais, sendo ambos maiores

que o do controle. Entretanto, pode-se notar pela razão raiz/parte aérea que na omissão de magnésio houve maior incremento do crescimento da parte aérea.

A omissão de enxofre causou encarquilhamento das folhas novas de *L. gracilis*. Os mesmos sintomas foram observados em manjerição (*Ocimum* sp.) por Amaral et al. (1999). Conforme Malavolta (2006), a sintomatologia da carência de enxofre se deve ao fato de ser o nutriente absorvido pelas plantas, na forma SO_4^{2-} , e transportado da base da planta para cima, em direção acrópeta, com pouca mobilidade, sendo por isso, observado primeiro em órgãos mais novos. O S é um elemento químico essencial para síntese dos aminoácidos metionina e cisteína, importantes na produção de enzimas e proteínas (FERNANDES, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). O crescimento de *L. gracilis* sob omissão de enxofre incrementou a biomassa seca total em 72% em relação ao tratamento completo. Os maiores acúmulos de biomassas secas de folhas, caule e total foram observados na carência desse macronutriente. No entanto, comparado ao tratamento completo houve uma queda de cerca 36% no teor de carvacrol, constituinte majoritário da fração volátil (Tabela 2).

Nesse contexto, as análises por *headspace*-CG/EM das folhas de *L. gracilis* indicaram diferenças químicas quantitativas e qualitativas expressivas, em função do cultivo com nutrição completa e faltante em solução nutritiva (Tabela 2). Dependendo do tratamento, os monoterpenos *p*-cimeno (não detectado a 43,41%) (Figura 1), timol (3,86% a 7,95%) e carvacrol (44,09% a 76,69%) (Figura 3) foram os constituintes químicos majoritários. No entanto, diferenças quantitativas foram mais expressivas para os constituintes químicos *p*-cimeno e carvacrol.

Figura 1 - Porcentagem relativa de *p*-Cimeno em relação à omissão de nutrientes e na solução completa de Hoagland e Arnon (1950). Lavras, 2016.

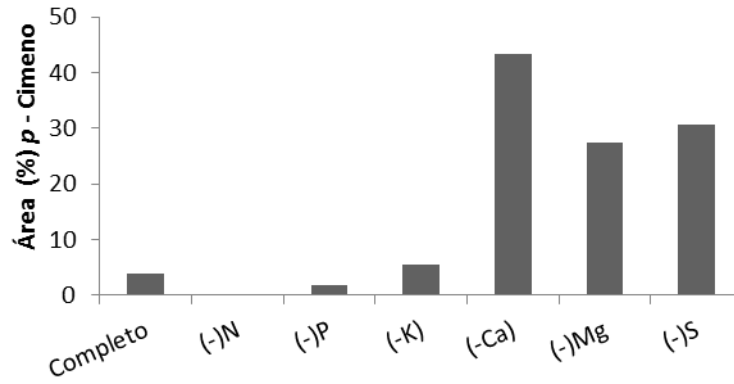


Figura 2 - Porcentagem relativa de Timol em relação à omissão de nutrientes e na solução completa de Hoagland e Arnon (1950). Lavras, 2016.

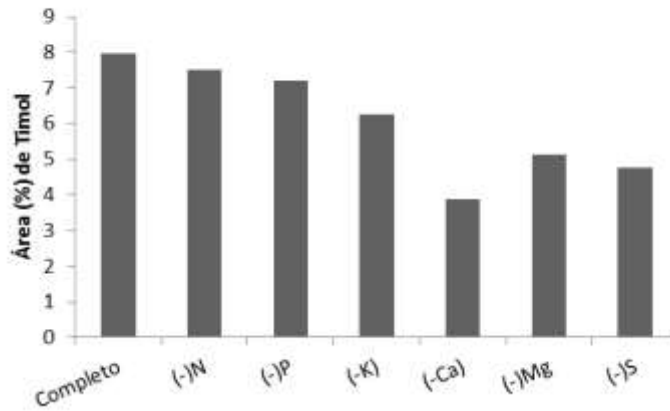


Figura 3 - Porcentagem relativa de Carvacrol em relação à omissão de nutrientes e na solução completa de Hoagland e Arnon (1950). Lavras, 2016.

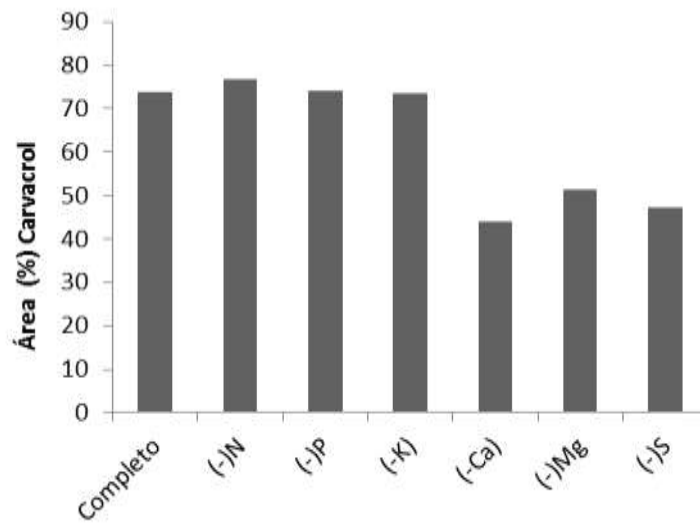


Tabela 2 - Análises químicas por *headspace*-CG/EM das folhas de *Lippia gracilis* cultivada sob omissão de nutrientes e solução completa de Hoagland e Arnon (1950). Lavras, 2016. (continua)

Constituinte	IR*	Área (%) ± DP						
		Completo	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
α -Tujeno	926	0,08±0,01	0,05±0,00	nd	nd	0,50±0,01	0,60±0,07	0,88±0,19
α -Pineno	932	nd	nd	nd	nd	0,24±0,00	0,21±0,03	0,27±0,04
Mirceno	991	0,17±0,02	0,16±0,02	0,06±0,05	0,13±0,02	1,17±0,00	1,22±0,10	1,51±0,06
α -Felandreno	1004	nd	nd	nd	nd	nd	0,16±0,00	0,15±0,02
α -Terpineno	1016	0,12±0,03	nd	nd	0,09±0,00	0,30±0,03	0,64±0,14	0,83±0,11
<i>p</i> -Cimeno	1023	3,86±0,02	nd	1,87±0,14	5,38±0,46	43,41±1,02	27,41±1,54	30,75±1,16
Limono	1027	nd	nd	nd	0,08±0,00	0,45±0,00	0,41±0,03	0,51±0,03
γ -Terpineno	1057	0,41±0,76	nd	0,09±0,00	0,20±0,11	0,57±0,11	1,46±0,67	1,40±0,35
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1065	0,20±0,07	0,10±0,00	0,22±0,01	0,16±0,00	nd	0,27±0,04	0,25±0,04
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1097	0,20±0,01	0,10±0,03	0,22±0,02	0,22±0,01	nd	0,19±0,03	0,16±0,02
Linalol	1100	0,17±0,00	0,14±0,03	0,17±0,01	0,17±0,00	nd	0,17±0,01	0,16±0,01
Ipsdieol	1146	0,14±0,01	0,09±0,06	0,11±0,01	nd	nd	0,13±0,00	nd
Terpinen-4-ol	1176	0,89±0,01	0,66±0,01	0,92±0,04	1,11±0,02	0,23±0,01	0,74±0,10	0,64±0,03
Timol	1293	7,95±0,32	7,50±0,00	7,21±0,15	6,24±0,17	3,86±0,30	5,12±0,12	4,76±0,16
Carvacrol	1304	73,95±1,25	76,69±1,15	74,11±0,84	73,60±1,03	44,09±0,44	51,39±1,40	47,27±1,67
Acetato de carvacrol	1374	nd	nd	nd	0,13±0,07	0,57±0,34	0,30±0,09	0,23±0,03
<i>E</i> -Cariofileno	1418	4,47±0,52	1,02±0,00	6,00±0,37	4,49±0,00	0,52±0,01	3,24±0,49	5,03±0,31
α - <i>Trans</i> -bergamoteno	1436	0,20±0,03	0,15±0,27	0,30±0,01	0,19±0,03	nd	0,14±0,00	0,21±0,01
α -Humuleno	1452	0,22±0,08	0,07±0,02	0,33±0,02	0,21±0,03	nd	nd	0,18±0,01

Constituinte	IR*	Área (%) ± DP						
		Completo	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
2,5-Dimetoxiacetofenona	1485	2,50±0,09	1,61±,00	2,95±0,05	2,66±0,26	0,40±0,00	0,77±0,04	0,55±0,04
α -Bulneseno	1505	0,27±0,02	0,07±0,05	0,34±0,02	0,17±0,06	nd	nd	0,15±0,00
β -Bisaboleno	1509	0,42±0,02	0,34±0,05	0,49±0,03	0,35±0,04	nd	0,18±0,02	0,26±0,00
Óxido de cariofileno	1581	1,20±0,09	1,80±0,41	1,44±0,10	1,91±0,23	0,37±0,05	0,27±0,03	0,25±0,04
Número de constituintes presentes		19	16	17	19	14	21	22

*Índice de retenção em coluna HP-5MS na ordem de eluição. nd: não detectado. DP: desvio padrão (n=3). (Conclusão)

Pela análise da Tabela 2, nota-se que os teores de *p*-cimeno nos tratamentos completo e sem os nutrientes (N, P e K) apresentaram teores entre não detectado a 5,38%, enquanto que para os tratamentos sem Ca, Mg e S foram de 27,41% a 43,41%. Por outro lado, os teores de carvacrol nos tratamentos completos e sem macronutrientes corresponderam à faixa de 44,09% a 76,69%.

Conforme relatos da literatura, em plantas da família Lamiaceae, timol e carvacrol são biossintetizados a partir do *p*-cimeno, α -terpineno ou γ -terpineno (POULOSE; CROTEAU, 1978; CROCOLL, 2010; CROCOLL et al., 2010; STEFANAKI et al., 2016). A carência dos macronutrientes Ca, Mg e S nas plantas cultivadas com omissão destes, pode estar diretamente relacionada com uma provável inibição enzimática, que pode ter impedido a bioconversão de *p*-cimeno a carvacrol. Os macronutrientes (Ca, Mg e S) desempenham funções biossintéticas importantes no metabolismo de plantas. O cálcio é cofator enzimático para muitas enzimas e importante na síntese da parede celular; o magnésio também é crítico para a atividade enzimática e é parte integral da molécula de clorofila e; o enxofre é importante para as estruturas protéicas, onde ligações dissulfeto entre cisteína e metionina vizinhas contribuem para a estrutura terciária das enzimas. O enxofre também está presente nas moléculas das vitaminas tiamina e biotina e da coenzima A, um componente importante da respiração e do metabolismo de ácidos graxos.

O fósforo também está intimamente relacionado à síntese dos terpenos, constituintes químicos comuns dos óleos essenciais. A produção de compostos terpenóides pode ser reduzida quando há deficiência de fósforo, por consequente, redução da taxa de fosforilação (SANTOS et al., 2010).

A deficiência de fósforo não prejudicou a síntese de monoterpenos e sesquiterpenos em *L. gracilis* durante o período de avaliação experimental, pois a composição química volátil das plantas cultivadas com omissão desse macronutriente foi similar àquela do tratamento controle (Tabela 2).

Variações químicas qualitativas também podem ser claramente apontadas através do número total de constituintes químicos presentes nas amostras, os quais alteraram entre 14 a 22 constituintes químicos detectados (Tabela 2). Assim, como na visualização dos sintomas de deficiência nutricional e no acúmulo de biomassa dos órgãos e total, as plantas que foram cultivadas com omissão de nitrogênio e cálcio foram as que apresentaram os perfis químicos menos complexos, com 16 e 14 constituintes químicos identificados, respectivamente. Já as plantas cultivadas com omissão de enxofre que apresentaram os sintomas visuais mais tardios e maiores acúmulos de biomassa de partes aéreas e total, apresentaram o perfil químico mais complexo (22 constituintes químicos presentes), sendo maior inclusive ao do controle (19 constituintes presentes).

No que se refere, aos tratamentos com omissão de nitrogênio e cálcio, destaca-se ainda que, mesmo entre ambos, o perfil químico foi bastante diferenciado. Os constituintes α -pineno, α -terpineno, *p*-cimeno, limoneno, γ -terpineno, acetato de carvacrol estavam presentes na composição química volátil das plantas cultivadas com omissão de cálcio e ausentes naquelas cultivadas com omissão de nitrogênio. Enquanto que, reciprocamente, os hidratos de *cis* e *trans*-sabineno, linalol, ipsdieol, α -*trans*-bergamoteno, α -humuleno, α -bulneseno, β -bisaboleno foram detectados na fração volátil das plantas cultivadas com omissão de nitrogênio, mas não foram detectados naquelas com omissão de cálcio.

A composição química volátil de *L. gracilis* e variações observadas nos teores de seus componentes químicos são corroboradas por outros estudos brasileiros. Estudos realizados no Nordeste do Brasil caracterizaram o timol (30,6%) e o *p*-cimeno (19,2%) como constituintes majoritários no Ceará; o carvacrol (47,7%) e o *p*-cimeno (19,2%) no Piauí; o carvacrol (23,52%), o *p*-cimeno (15,82%), o γ -terpineno (14,17%) e o mentol (10,97%) no Sergipe

(GOMES et al., 2011). Estudos realizados em Sergipe, com sete genótipos de *L. gracillis* coletados nas estações chuvosa e seca, observaram expressivas diferenças nos teores de *p*-cimeno (6,70% a 14,03%), timol (3,20% a 59,26%) e carvacrol (0,64% a 48,99%), além de outros constituintes comuns identificados também no presente estudo (CRUZ et al., 2014).

4 CONCLUSÕES

O crescimento e a composição química volátil de *L.gracilis* S. são alterados em função dos nutrientes, podendo estabelecer um manejo adequado às exigências nutricionais interligando o acúmulo de biomassa aos teores desejados de constituintes voláteis.

A ausência de Ca, N e K é limitante ao crescimento vegetativo da planta. A ordem decrescente de limitação dos nutrientes para o crescimento de *L. gracilis* é Ca>N=K>P=Mg>S.

Variações nas composições químicas voláteis qualitativas e quantitativas ocorrem dependendo do nutriente omitido. Nas análises químicas por *headspace*-CG/EM o constituinte químico majoritário identificado em todos os tratamentos foi o carvacrol. Entretanto, queda drástica nos teores deste componente é observada nos tratamentos sem cálcio, sem magnésio e sem enxofre, pois não houve conversão de *p*-cimeno à carvacrol e timol.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Illinois: Allured, 2007. 804 p.

ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brasilian archives of biology and technology**, v. 49, p. 527-535, 2006.

ALVARENGA, I. C. A.; BOLDRIN, P. F. PACHECO, F. V. SILVA, S. T. BERTOLUCCI, S. K. V. PINTO, J. E. B. P. Effects on growth, essential oil content and composition of the volatile fraction of *Achillea millefolium* L. cultivated in hydroponic systems deficient in macro- and microelements. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 329–338, oct/2015.

AMARAL, J. F. T. FONSECA, A. F. A. MARTINEZ, H. E. P. PEREIRA, P. R. FONTES, P. C. R. Deficiências de macronutrientes, Fe e B em Manjeriçao (*Ocimum* sp.), em cultivo hidropônico. **Revista Ceres**, v. 46, n. 265, p. 297-308, mar/1999.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis**. New York: G. Fischer, 1992. 741 p.

BITU, V. C. N.; COSTA, J. G. M.; ROGRIGUES, F. F. G.; COLARES, A. V., COUTINHO, H. D. M.; BOTELHO, M. A.; PORTELA, A. C.; SANTANA, N. M. MENEZES, I. R. A. Effect of Collection Time on Composition of Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae) Growing in Northeast Brazil. **TEOP 18**, v. 3, p. 647- 653, 2015.

CROCOLL, C. **Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450s in oregano and thyme**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Max-Planck-Institut für chemische Ökologie. Disponível em: <<http://www.db-thueringen.de/servlets/DerivateServlet/Derivate-23478/Crocoll/Dissertation.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2015.

CROCOLL, C.; ASBACH, J.; NOVAK, J.; GERSHENZON, J.; DEGENHARDT, J. Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis. **Plant Molecular Biology**, v. 73, p. 587-603, 2010.

CRUZ, E. M. O.; JUNIOR, L. M. C.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. A.; ARAUJO, S.A.; BLANK, M. F. A.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; BLANK, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 198-202, jan/2013.

CRUZ, E. M. O. PINTO, J. A. O. FONTES, S. S. BLANK, M. F. A. BACCI, L. JESUS, H. C. R.; SANTOS, D. A. ALVES, P. B. BLANK, A. F. Water Deficit and Seasonality Study on Essential Oil Constituents of *Lippia gracilis* Schauer Germplasm. **The Scientific World Journal**, 2014. Article ID 314626. 9 p.

DAFLON, D. S. G.; FREITAS, M. S. M.; CARVALHO, A. J. C.; MONNERAT, P. H.; PRINS, C. L. Sintomas visuais de deficiência de macronutrientes e boro em coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 28-34. Jan/2014.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005.

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

FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG. 2006.

FERNANDES, L. C. B.; ALBUQUERQUE, C. C.; SALES JÚNIOR, R.; OLIVEIRA, F. F. M.; GURGEL, E. P.; MESQUITA, M. V.; SILVA, M. D. S. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 2, p. 153-155, 2015.

FREITAS, M. S. M.; MONNERAT, P. H. ; CARVALHO, A. J. C.; ASCONCELLOS, M. A. S. Sintomas visuais de deficiência de macronutrientes e boro em maracujazeiro doce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p.1329-1341. 2011.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Ecl. Quím.**, São Paulo, v. 36, 2011.

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. Piracicaba: **POTAFOS**, 2001.5 p. (Informações Agronômicas, 95).

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, Calif. **Agric. Exp. Station**, p. 32, (Circular), n. 347. 1950.

KOVACIK, J.; BACKOR, M. Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants. **Plant and Soil**, v. 297, p. 255–265, 2007.

KUDLA, J., BATISTIC, O., HASHIMOTO, K. Calcium signals: the lead currency of plant information processing. **Plant Cell**, v. 22, p. 541–563, 2010.

MAIA, J. T. L. S.; BONFIM, F. P. G.; GUANABENS, R. E. M.; TRENTIN, R.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G.; FONTES, P. C. R. Omissão de nutrientes em plantas de pinhão-mansão cultivadas em solução nutritiva. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 5, p. 723-731, set./out, 2014.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006, 638 p.

MARSCHNER, P. Marschner's mineral nutrition of higher plants. **Elsevier Ltd**. 3. ed. 2012.

MASCARENHAS, H. A. A.; ESTEVES, J. A. F.; WUTKE, E. B.; RECO, P. C.; LEÃO, P. C. L. Deficiência e toxicidade visuais de nutrientes em soja. **Nucleus**, v.10, n. 2, out/2013.

MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W.; SILVA, M. G. V. Medicinal plants Northeast Brazil containing Thymol and Carvacrol-Lippia sidoides Cham. and *L. gracillis* H. B. K (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Research**, Wheaton, v. 11, p. 666-668, 1999.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. Principles of plant nutrition. Bern: **potash** Institute, 1987. 697 p.

NIST-NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library. **Gaithersburg**. Software. 2008.

OLIVEIRA, A. R.; OLIVEIRA, S. A.; GIORDANO, L. B.; GOEDERT, W. J. Absorção de nutrientes e resposta à adubação em linhagens de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 498-504, 2009.

POULOSE, A. J.; CROTEAU, R. Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of γ -terpinene to *p*-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L Arch. **Biochem. Biophys.**, v.187, p. 307–314, 1978.

PUGA, A. P.; PRADO, R. M.; CORREIA, M. A. R.; ALMEIDA, T. B. Omissão de macronutrientes no crescimento e no estado nutricional da chicória cultivada em solução nutritiva. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 3, n. 7, p. 56-62, jul/2010.

RAGAGNIN, R. C. G.; ALBUQUERQUE, C. C.; OLIVEIRA, F. F. M. O.; SANTOS, R. G.; GURGEL, E. P.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A. S.; VIANA, F. A. Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta bot. bras.**, v. 28, n. 3, p. 346-351. 2014.

SANTOS, C. P.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, C. A.; CRUZ, E. M. O.; BLANK, M. F. A.; ANDRADE, T. M.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. Harvest time and geographical origin affect the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 205-210, 2016.

SANTOS, R. C.; FILHO, A. A. M.; COSTA, H. N. R.; PANERO, F. S.; BARRETO, H. C. S.; COSTA, M. C. G.; TONINI, H.; SOUZA, R. C. P. Influência da adubação NPK no rendimento do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis*. **Orbital the electronic journal of chemistry**, v. 2, n. 4, out./dez, 2010.

SILVA, T. C. **Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob omissão de nutrientes e em consórcio com *Achillea millefolium* L.** 2015. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Departamento de agricultura. UFLA, Lavras, MG, 2015.

SOUZA, A. V. V.; SOUZA, D. D.; SILVA, F. P.; SANTOS, U. S.; SANTOS, M. C.; OLIVEIRA, F. J. V. Cultivo do alecrim do mato no Vale do São Francisco em função da adubação organo-mineral. **Hortic. bras.**, v. 30, n. 2, (Suplemento - CD Rom), jul/ 2012.

SANTOS, M. M.; PEIXOTO, A. R.; PESSOA, E. S.; NEPA, H. B. S.; PAZ, C. D.; SOUZA, A. V. V. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* "in vitro". **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 3, p. 277-280, 2014.

STEFANAKI, A.; COOK, C. M.; LANARAS, T.; KOKKINI, S. The oregano plants of Chios Island (Greece): Essential oils of *Origanum onites* L. growing wild in different habitats. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 107-113, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre, 2013.

TELES, S.; PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, L. M.; MALHEIRO, R. MACHADO, S. S.; LUCCHESI, A. M.; SILVA, F. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia origanoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 169-176, may, 2014.

TOUNEKTI, T. et al. Ionic interactions and salinity affect monoterpene and phenolic diterpene composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 174, n. 3, p. 504-514, 2011.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. J. A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, n. 4, p. 463-471, 1963.

VIEGAS, I. J. M.; GALVÃO, J. R.; JÚNIOR, M. L. S.; MELO N. C.; OLIVEIRA, M. S. Crescimento, composição mineral e sintomas visuais de deficiência nutricional em ipeca. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 1, p. 141-147, jan./mar, 2014.

VIEGAS, I. J. M.; SOUZA, G. O.; SILVA, A. F.; CARVALHO, J. G.; LIMA, M. M. Composição mineral e sintomas visuais de deficiências de nutrientes em plantas de pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.). **Acta Amazonica**, v. 43, n. 1, p. 43-50, fev/2013.

YADEGARI, M.; SHAKERIAN, A. Effects of micronutrients foliar application on essential oils of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.). **Advances in Environmental Biology**, Iran, v. 8, n. 4, p. 1063-1068, 2014.

CAPÍTULO 3 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES QUÍMICAS DO ÓLEO ESSENCIAL E COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Lippia gracilis* S. EM DIFERENTES TIPOS E DOSES DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA

RESUMO

Lippia gracilis S., conhecida como alecrim de tabuleiro, tem emergido como uma das mais importantes plantas medicinais do gênero *Lippia*. Sistema de produção orgânica tem adquirido importância em termos da concepção de produção vegetal sustentável e que possui grande aceitação de mercado. Objetivou-se verificar os efeitos de diferentes doses e fontes de esterco avícola, na produção de biomassa, nos teores de pigmentos fotossintéticos e na composição química volátil, bem como avaliar o teor de compostos fenólicos de extratos etanólicos de *Lippia gracilis* S. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x4, com dois tipos de esterco avícola (codorna e galinha), e quatro doses (0,0; 1,5; 3,0 e 6,0 Kg m⁻²), em vasos com 10L de capacidade. As plantas de *L.gracilis* cultivadas com esterco de codorna e galinha desenvolveram-se mais que àquelas do controle. Plantas adubadas com esterco de codorna na dose 1,5 Kg⁻² acumularam mais biomassa seca total (50,69g), enquanto, para o esterco de galinha os maiores ganhos de biomassa de partes aéreas foram observados nas doses 3,0 kg⁻² e 6,0 kg⁻². Nas análises químicas o constituinte químico majoritário identificado em todos os tratamentos foi o carvacrol. Entretanto, o seu maior teor foi observado no tratamento controle (sem esterco). Em conclusão, plantas de *L. gracilis* incrementam sua biomassa em cultivo com 1,5 Kg m⁻² de esterco de codorna ou 3,0 Kg m⁻² de esterco de galinha. No entanto, a adubação reduz os teores de carvacrol.

Palavras-chave: *Lippia grata*. Esterco de codorna. Esterco de galinha.

ABSTRACT

Biomass production and chemical analysis of essential oil and compounds of phenolic *Lippia gracilis* S. in different types and fertilizer doses of organic

Lippia gracilis S., known as board rosemary, has emerged as one of the most important medicinal plants of the genus *Lippia*. organic production system has gained importance in terms of the design of sustainable plant production which has great market acceptance. This study aimed to examine the effects of different doses and sources of poultry manure in the biomass production, photosynthetic pigments content and volatile chemical composition, and also evaluate phenolic compounds content in the ethanol extracts of *L. gracilis*. The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD), in a 2x4 factorial design, with two types of poultry manure (quail and chicken) and four doses (0.0, 1.5, 3.0 and 6.0 kg m⁻²) in vessels with 10L capacity. *L. gracilis* plants grown with quail and chicken manure developed more than those of control. Plants fertilized with 1.5 kg m⁻² of quail manure accumulated the major total dry biomass (50.69 g), while plants fertilized with 3.0 kg m⁻² and 6.0 kg m⁻² of chicken manure increase aerial parts biomass. Chemical analyzes identified carvacrol, as major compound, in all treatments. However, its highest content was observed in the control treatment (without manure). In conclusion, *L. gracilis* plants increase biomass, under 1.5 kg m⁻² of quail manure or 3.0 kg m⁻² of chicken manure. However, the fertilizer reduces carvacrol contents.

Key words: *Lippia grata*. Quail manure. Chicken manure.

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que o potencial produtivo e a síntese de princípios ativos são fortemente afetados por fatores ambientais e de manejos culturais (ROSAL, 2011; RAGAGNIN et al., 2014). O cultivo intensivo e a qualidade físico-química de plantas medicinais, aromáticas e condimentares requerem adequadas estratégias de manejo fitotécnico. Nesse contexto, a demanda mundial por produtos orgânicos e naturais tem incentivado a adoção da agricultura orgânica na produção dessas espécies (SUJATHA et al., 2011).

A adubação orgânica é fonte de nutrientes para as plantas e causa melhoria da estrutura física, química e biológica do solo (COSTA, 2011). Estudos com adubação orgânica em plantas aromáticas buscam esclarecer as alterações que esses adubos podem causar no crescimento vegetativo, no teor, rendimento e composição química do óleo essencial e de seu potencial antioxidante (ROSAL, 2011; FERRAZ et al., 2011).

Pesquisas nesta área já foram realizadas em mil folhas (*Achillea millefolium*) por Ferraz et al. (2014), em orégano (*Origanum vulgare* L.) por Correa et al. (2010), em cidrão (*Aloysia triphylla* (L' Hérít) Britton) por Brant et al. (2010), em hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.) por Chagas et al. (2011), em hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) por Costa et al. (2013), *Lippia organoides* H.B.K por Teles et al. (2014 a,b), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) por Pandey et al. (2016), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), sálvia (*Salvia officinalis* L.), e manjerona (*Origanum majorana* L.) por Roby et al. (2012) e em *Morus* spp. por Kostic et al. (2013).

L. gracilis Schauer (Verbenaceae) é uma espécie aromática arbustiva, endêmica no Nordeste do Brasil, popularmente conhecida como alecrim da chapada (RAGAGNIN et al., 2014). De acordo com Santos et al. (2016), *L. gracilis* tem emergido como uma das mais importantes plantas medicinais do

gênero *Lippia*. O óleo essencial desta espécie demonstrou atividades antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 2006; BITU et al., 2014), larvicida (SILVA et al., 2008), analgésica (MENDES et al., 2010), antinociceptiva (GUIMARÃES et al., 2012), acaricida (CRUZ et al., 2013) e citotóxica (MELO et al., 2014). A atividade antimicrobiana é atribuída à presença de timol e carvacrol no óleo essencial extraído das folhas de *L. gracilis* (BITU et al., 2015).

Nesse contexto, o presente estudo objetivou verificar os efeitos de diferentes doses e fontes de esterco avícola na produção de biomassa, nos teores de pigmentos fotossintéticos e na composição química volátil, bem como avaliar o teor de compostos fenólicos de extratos etanólicos de *Lippia gracilis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cultivo e análises de crescimento de *Lippia gracilis*

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

O material vegetal foi herborizado e a exsicata encontra-se depositada no herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), sob registro PAMG 57859. Foi identificada com nome válido *Lippia grata* Schauer, no entanto, nesse trabalho será utilizado seu sinônimo *Lippia gracilis* Schauer, devido a maior disponibilidade de trabalhos publicados.

As mudas foram produzidas a partir de propagação vegetativa por meio de estacas apicais (± 5 cm), coletadas de plantas matrizes do Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Enraizadas em bandejas de prolipropileno de 128 células utilizando-se substrato comercial Tropstrato HA.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4 com dois tipos de esterco avícola (codorna e galinha) e quatro doses (0,0; 1,5; 3,0 e 6,0 Kg m⁻²), com 4 repetições, uma planta por vaso e três vasos por parcela. As doses de ambos os esterços foram: 1) solo + areia na proporção 3:1 (controle); 2) solo + areia na proporção 3:1 + 1,5 Kg m⁻² de esterco; 3) solo + areia na proporção 3:1 + 3,0 Kg m⁻² de esterco e 4) solo + areia na proporção 3:1 + 6,0 Kg m⁻² de esterco.

Os tratamentos foram misturados e colocados em vasos com 10 L de capacidade, porém, o transplântio das mudas com 60 dias de idade somente foi realizado 15 dias depois, para se evitar a fitotoxidez das mudas, durante esses 15 dias os vasos foram irrigados conforme necessidade.

O solo empregado no experimento foi classificado como sendo do horizonte B do latossolo vermelho distroférrico (textura argilosa) com as seguintes características químicas: pH em água= 6,0; P e K (mg dm^{-3}) = 1,13 e 26,0 ; Ca, Mg, Al e H^+ Al (cmol dm^{-3}) = 1,20; 0,20; 0,00 e 1,86; saturação de bases V (%) = 44,04; matéria orgânica (dag Kg^{-1}) = 1,41; teor de argila (dag Kg^{-1}) = 64.

As análises dos adubos (Tabela 1) foram realizadas no laboratório de análises químicas da Cooperativa Regional de Cafeicultores em Guaxupé Ltda – Cooxupé.

Tabela 1 - Análise química dos esterco de codorna e galinha curtidos utilizados para adubação orgânica do experimento de *Lippia gracilis*. Lavras, 2016.

Análises	Unidade	Codorna	Galinha
		Valor	
pH CaCl_2 0,01M	1:2,5	7,4	8,0
Nitrogênio Total	g Kg^{-1}	26,0	21,0
Fósforo (P_2O_5 Total)	g Kg^{-1}	17,9	20,0
Potássio (K_2O Total)	g Kg^{-1}	40,3	7,3
Cálcio (Ca Total)	g Kg^{-1}	57,2	4,6
Magnésio (Mg Total)	g Kg^{-1}	7,8	2,6
Enxofre (S Total)	g Kg^{-1}	7,1	3,1
Boro (B Total)	mg Kg^{-1}	66,0	17,0
Cobre (Cu Total)	mg Kg^{-1}	71,0	74,0
Ferro (Fe Total)	mg Kg^{-1}	811,0	760,0
Manganês (Mn Total)	mg Kg^{-1}	515,0	315,0
Zinco (Zn Total)	mg Kg^{-1}	680,0	314,0
Sódio (Na Total)	g Kg^{-1}	2,9	2,2

As plantas foram irrigadas manualmente 2 a 3 vezes por semana. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente ao longo do ciclo.

Aos 120 dias de cultivo, as plantas foram colhidas para as análises de crescimento. Mediu-se a altura das plantas e particionou-se as raízes, caules e folhas, que foram desidratados em estufa de ventilação forçada a 40° C, até peso constante. O peso do material vegetal seco foi obtido para determinação da biomassa seca de folhas (BSF, g planta⁻¹), caule (BSC, g planta⁻¹), raízes (BSR, g planta⁻¹) e total (BST, g planta⁻¹).

2.2 Extração do óleo essencial

O óleo essencial das folhas de *L. gracilis* foi extraído por hidrodestilação em aparelho Clevenger, por 120 minutos, a partir de 20g de matéria seca. O hidrolato foi recolhido e o óleo essencial purificado por partição líquido-líquido com diclorometano (3 × 25 mL). As frações orgânicas foram reunidas e tratadas com sulfato de magnésio anidro. A fração orgânica foi reunida, tratada com sulfato de magnésio anidro, seguida de filtração simples e evaporação do solvente orgânico em capela de exaustão de gases a temperatura ambiente. O óleo essencial purificado foi armazenado sob refrigeração (4±0,5 °C), até as análises químicas.

2.3 Análises químicas do óleo essencial

As análises da composição química foram realizadas por meio de uma amostra composta de alíquotas equivalentes do óleo volátil das repetições de cada tratamento.

As análises quantitativas do óleo foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplado a um detector de ionização em chama (CG-DIC) em um sistema Agilent® 7890A, equipado com coluna capilar de sílica fundida HP-5 (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura

do filme) (Califórnia, EUA). O gás hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min; as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250°C e 240°C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 50°C, isotérmico por 1,5 min, seguido por uma rampa de temperatura de 4°C/min até 200°C, seguida de uma rampa de 15°C/min até 250°C, mantendo-se isotérmico por 5 min. O óleo foi diluído em acetato de etila (1%, v/v) e injetado automaticamente no cromatógrafo empregando volume de injeção de 1,0 µL, no modo *split* a uma razão de injeção de 1:50. As concentrações dos constituintes foram expressas pela média da porcentagem de área relativa dos picos cromatográficos \pm o desvio padrão de três amostras analisadas para cada tratamento.

As análises qualitativas do óleo foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando-se um equipamento Agilent® 5975C, operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, com um intervalo de aquisição de massas de 40 a 400 *m/z*, a uma velocidade de 1,0 scan/s. As condições cromatográficas foram as mesmas empregadas nas análises quantitativas.

Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos seus índices de retenção relativos à coinjeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C₈-C₂₀, Sigma-Aldrich®, St. Louis USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST, 2008) e de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van den Dool e Kratz (1963) e para as atribuições foram consultados índices de retenção de literaturas (ADAMS, 2007).

2.4 Quantificação de pigmentos fotossintéticos

Folhas de *L. gracilis*, completamente expandidas localizadas entre o segundo e terceiro nó abaixo do ápice foram colhidas aos 120 dias para quantificar os pigmentos fotossintéticos (mg g^{-1} de matéria fresca de folhas): clorofila *a* e *b*, clorofila total e carotenoides. As análises de clorofila e carotenoides foram realizadas conforme metodologia de Lichtenthaler (1987) com pequenas modificações. Foram pesados 0,50 g de amostra das folhas, em seguida foram trituradas utilizando gral e pistilo, contendo 2 mL de acetona 80% (v/v) e CaCO_3 no escuro e sob luz verde. Em seguida, filtrou-se o extrato e o volume para 10 mL foi completado com acetona 80%.

As leituras de absorção molecular no ultravioleta foram realizadas em um leitor TECAN infinity[®] M200 PRO, operado com sistema de processamento de dados I-control[®] versão 3.37. Foram medidas as absorbâncias a 663 nm para clorofila *a*, 647 nm para clorofila *b* e 470 nm para carotenoides para cada amostra.

2.5 Doseamento de compostos fenólicos

2.5.1 Preparo dos extratos de *L. gracilis*

Folhas de *L. gracilis* de cada tratamento foram pulverizadas em moinho de facas Marconi[®] modelo MAO 48. As soluções extrativas foram preparadas por maceração dinâmica, na concentração de 10% (p/v). Para isso, cerca de 20 g do material vegetal pulverizado foi extraído em Erlenmeyer com 200 mL de etanol a 70%, empregando-se um Gio Gyrotory *Shaker*, onde os Erlenmeyers foram mantidos em agitação constante a 146 rpm, durante 24 horas na ausência de luz. Em seguida, os extratos foram filtrados a vácuo. Em frascos, previamente

tarados, cerca de 20,0 g dos extratos líquidos foram evaporados à secura em rotavapor, e levados à estufa a 100 ± 5 °C, para a sua dessecação até peso constante. Os resultados foram expressos em percentagem de resíduo seco/100 g de folhas secas (m/m). Quantificação de compostos fenólicos e atividades antioxidantes dos extratos foram determinados empregando técnicas espectrofotométricas de absorção molecular no ultravioleta, conforme descrito nos itens 2.5.1 a 2.5.7. Para as leituras empregou-se um leitor TECAN infinity ® M200 PRO operado pelo *software* I-control ® versão 3.37.

2.5.2 Doseamento de fenóis totais

Os fenóis totais foram quantificados pelo método de Slinkard e Singleton (1977). Um volume de 50 µL dos extratos foram misturados com 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu (10% p/v) e 125 µL de Na₂CO₃ (7% p/v), após duas horas em repouso ao abrigo de luz, a absorbância foi mensurada a 760 nm. A curva de calibração ($y = 5,8937x + 0,2134x$ $R^2 = 0,993$) compreendeu a faixa de concentração de 0,03 a 0,41 mg/mL de solução etanólica de ácido gálico. Os teores de fenóis totais foram expressos em miligramas equivalente em ácido gálico por grama de folha seca (mg EAG/g).

2.5.3 Doseamento de flavonoides (flavonas e flavonóis totais)

Os flavonoides foram quantificados pelo método de Ahn et al. (2007). Um volume de 100 µL dos extratos foram misturados com 100 µL de solução de AlCl₃ (10% p/v). Após 40 minutos em repouso, em temperatura ambiente, a absorbância foi mensurada a 420 nm. A curva de calibração ($y = 3,5028x + 0,0589$, $R^2 = 0,9999$) compreendeu a faixa de concentração de 0,01 a 0,16 mg/mL de solução etanólica de quercetina. Os teores dos extratos de

flavonoides foram expressos em miligrama equivalentes em quercetina por g de folha seca (mg EQ/g).

2.5.4 Doseamento dos dihidroflavonóides totais

Os dihidroflavonóides totais foram quantificados pelo método Popova, Bankova e Butovska (2004) modificado. Na primeira fase, 200 μ L dos extratos (nas diluições $\frac{1}{4}$) foram misturados com 400 μ L de solução metanólica de DNP (1% p/v) e aquecido a 50°C por 50 minutos em banho maria. Após arrefecimento à temperatura ambiente, foram adicionados 1400 μ L de KOH (10% v/v) em metanol à solução reagente (amostra+DNP). Em seguida, 50 μ L da solução reagente (amostra+DNP+KOH) foram diluídos em 950 μ L de metanol e centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos. Um volume de 200 μ L de cada amostra foi transferido para os poços da microplaca. A absorbância foi mensurada a 486 nm. A curva de calibração ($y = 0,162x + 0,0651$, $R^2 = 0,9989$) compreendeu a faixa de concentração de 0,08 a 2,6 mg/ mL de solução metanólica de naringenina. Os teores de dihidroflavonóides dos extratos foram expressos em miligrama equivalentes em naringenina por g de folha seca (mg EN/g).

2.6 Análises estatísticas

Os dados de crescimento, produção de matéria seca total, clorofila *a,b* e carotenoides e compostos fenólicos foram submetidos a análise de variância e quando significativos submetidos ao teste de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento e matéria seca

Independente das doses e fontes de adubação orgânica, as plantas de *L. gracilis* cultivadas com esterco de codorna e galinha desenvolveram-se mais em comparação àquelas do controle. As plantas cresceram mais quando se usou a dose 1,5 Kg m⁻² do adubo de galinha e a dose de 6,0 Kg m⁻² para o de codorna (Figura 1).

Comparando diferentes fontes de adubos orgânicos, em bamburral (*Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau), Maia et al. (2008) observaram diferenças na altura da planta quando fizeram aplicação de adubação mineral, vermicompostos, esterco de aves e composto orgânico, os quais se mostraram superiores ao esterco bovino e à testemunha. Observaram também, menor altura das plantas no tratamento controle sem adubação.

No que se refere aos parâmetros biométricos de crescimento houve diferenças estatisticamente significativas em relação às doses e fontes de adubos utilizadas (Tabela 1).

O crescimento das plantas adubadas foi maior que o observado no tratamento controle, sendo este dependente da dose e da fonte de esterco empregado. Plantas adubadas com esterco de codorna na dose de 1,5 Kg m⁻² acumularam mais biomassa seca total (50,69g), de folha, caule e raízes. Doses de esterco de codorna superiores a 3,0 Kg m⁻² mostraram ser tóxicas para o crescimento da planta. Plantas adubadas com esterco de galinha, independente da dose, apresentaram biomassa seca de raízes e total e relação raiz/parte aérea equivalentes estatisticamente. No entanto, maiores ganhos de biomassa de partes aéreas foram observados nas doses de 3,0 Kg m⁻² e 6,0 Kg m⁻² de esterco de galinha.

Quanto à relação raiz/parte aérea, as plantas adubadas com esterco de codorna na dose $6,0 \text{ Kg m}^{-2}$ investiu mais na formação de raiz do que na parte aérea. Para as outras doses o investimento foi semelhante ao do controle. Em relação ao esterco de galinha todas as doses de esterco investiram mais na produção de biomassa da raiz em relação ao controle.

Analisando o ganho da biomassa seca total, aplicando $1,5 \text{ Kg m}^{-2}$ do esterco de codorna em relação ao controle, foi de dez vezes mais, e de galinha, as doses $1,5$ a $6,0 \text{ Kg m}^{-2}$ foram de 6 a 8 vezes superior.

Portanto, a dose de $1,5 \text{ Kg m}^{-2}$ de esterco de codorna foi a melhor dose do esterco e superior à melhor dose do esterco de galinha que foi de $3,0 \text{ Kg m}^{-2}$. Este efeito positivo do esterco de codorna se deve provavelmente à maior concentração de nutrientes neste esterco em relação ao esterco de galinha.

A diferença de resposta de cada espécie pode ser explicada pela influência do genótipo e a variação no teor de nutrientes que ocorre nos adubos orgânicos provido de diferentes fontes e locais (CORRÊA et al., 2010).

Figura 1- Plantas de *Lippia gracilis* sob diferentes doses (0,0; 1,5; 3,0 e 6,0 Kg m⁻²) de esterco de galinha e codorna. Controle: sem adubação. Lavras, 2016.



Foto: José Eduardo Brasil. UFLA, Lavras, 2016.

Tabela 2 - Valores médios da matéria seca de folha (BSF), de caule (BSC), de raiz (BSR), relação raiz/parte aérea e matéria seca total (BST) de *L.gracilis* S. sob diferentes fontes e doses de adubo orgânico. Lavras, 2016. ⁽¹⁾

Adubo	Doses (Kg m ⁻²)			
	0	1,5	3,0	6,0
BSF (g planta⁻¹)				
Codorna	2,08 aD	15,56 aA	13,25 aB	11,04 bC
Galinha	2,08 aC	10,58 bB	13,45 aA	13,05 aA
CV (%)	20,89			
BSC (g planta⁻¹)				
Codorna	1,17 aD	20,00 aA	15,54 aB	11,83 bC
Galinha	1,17 aC	13,20 bB	18,77 aA	17,48 aA
CV (%)	35,38			
BSR (g planta⁻¹)				
Codorna	1,72 aC	15,13 aA	15,80 aA	5,34 bB
Galinha	1,72 aB	9,41 bA	9,00 bA	9,82 aA
CV (%)	43,01			
Relação raiz/parte aérea				
Codorna	0,52 aA	0,42 aB	0,54 aA	0,23 bC
Galinha	0,52 aA	0,39 bB	0,27 bC	0,32 aA
CV (%)	42,98			
BST (g planta⁻¹)				
Codorna	4,98 aC	50,69 aA	44,61 aA	28,22 bB
Galinha	4,98 aC	33,20 bB	41,23 aA	40,35 aA
CV (%)	28,54			

⁽¹⁾ Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, nas colunas, ou maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

3.2 Teores de pigmentos fotossintetizantes

Efeito significativo ($p < 0,05$) nos níveis de esterco avícola para as clorofilas *a*, *b*, *b/a* e total foram observados (Tabela 2). Maior teor de clorofila *a* ($0,40 \text{ mg g}^{-1}$), clorofila *b* ($0,13 \text{ mg g}^{-1}$) e clorofila total ($0,53 \text{ mg g}^{-1}$) foi obtido na dose $1,5 \text{ Kg m}^{-2}$ de esterco de codorna, o qual apresentou também maior biomassa seca total (BST). Com relação ao esterco de galinha, observou-se um efeito diferente ao esterco de codorna. Maior teor de clorofila *a* ($0,50 \text{ mg g}^{-1}$; e clorofila total ($0,65 \text{ mg g}^{-1}$) foram observados na dose $6,0 \text{ Kg m}^{-2}$. Para a clorofila *b*, maior teor ($0,25 \text{ mg g}^{-1}$) foi observado na dose $3,0 \text{ Kg m}^{-2}$. A dose de $3,0 \text{ Kg m}^{-2}$ de esterco de galinha proporciona maiores teores de clorofila total. Já o maior teor de clorofila na razão *b/a* ($0,77 \text{ mg g}^{-1}$) foi obtido na dose $3,0 \text{ Kg m}^{-2}$ do esterco de galinha.

Em relação aos carotenoides o maior teor ($0,20 \text{ mg g}^{-1}$) foi observado na dose $6,0 \text{ Kg m}^{-2}$ do esterco de galinha. Já para o esterco de codorna o maior teor foi observado na dose $3,0 \text{ Kg m}^{-2}$.

Tanto a clorofila quanto os carotenoides estão presentes nas membranas dos cloroplastos, mais especificamente nos tilacóides, estão ligados não covalentemente a moléculas de proteínas e possuem um importante papel no processo fotossintético. Uma planta com alta concentração de clorofila é capaz de atingir altas taxas fotossintéticas, os carotenoides são acessórios os quais dissipam na forma de calor o excesso de radiação. Um dos fatores mais importantes para o crescimento e adaptação das plantas aos mais variados tipos de ambientes é este sistema (LINS et al., 2015; NOGUEIRA et al., 2013).

Os carotenoides protegem o aparelho fotossintético contra a fotodegradação dos fotossistemas, por interconversões entre as moléculas de xantofila, por isso, são muito importantes para as plantas (NOGUEIRA et al., 2013).

Lins et al. (2015), na determinação de carotenoides totais em *Melissa officinalis* L. e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., verificaram um teor de $1,81 \pm 0,25 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e $0,96 \pm 0,06 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente. Para clorofila total $5,22 \pm 0,47 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ para *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. e $4,52 \pm 1,14 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ para *Melissa officinalis* L.. Já para as clorofila a e b os teores encontrados foram $4,17 \pm 0,95 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e $0,18 \pm 0,17 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ para *Melissa officinalis* L. e $3,68 \pm 0,17 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e $1,38 \pm 0,29 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ para *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.

Pandey et al. (2016) estudando manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) adubado com esterco de galinha misturado com fertilizantes químicos, observaram valor médio máximo de clorofila a ($0,55 \text{ mg g}^{-1}$) e clorofila b ($0,063 \text{ mg g}^{-1}$). A alta de clorofila pode estar diretamente relacionada com os nutrientes e seu fornecimento equilibrado no solo a partir da aplicação combinada de fertilizantes orgânicos e químicos (PANDEY et al., 2016).

A oferta de nitrogênio durante o período de crescimento das folhas aumenta a formação de cloroplastos, aumentando, portanto, o teor de clorofila das folhas (SINGH et al., 2014).

Os maiores valores de clorofila obtidos em função de diferentes fontes e doses de adubo avícola podem ser explicados pela maior disponibilidade de nutrientes como nitrogênio e magnésio na solução do solo, os quais fazem parte da molécula de clorofila (CORRÊA et al., 2009).

Corrêa et al. (2009) estudando plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) observaram maior teor de clorofila a ($2,32 \text{ mg g}^{-1}$) na dose $2,54 \text{ Kg m}^{-2}$ de esterco avícola; para a clorofila b, maior teor ($3,30 \text{ mg g}^{-1}$) foi obtido em plantas cultivadas com $2,94 \text{ Kg m}^{-2}$ de esterco e para clorofila total, maior teor ($5,21 \text{ mg g}^{-1}$) foi obtido em $2,52 \text{ kg m}^{-2}$.

Tabela 3 - Valores médios dos teores de pigmentos fotossintéticos de *L.gracilis* S. sob diferentes fontes e doses (Kg m^{-2}) de adubo orgânico ⁽¹⁾.

Adubo	Doses (Kg m^{-2})			
	0	1,5	3,0	6,0
Clorofila a (mg g^{-1} de MF)				
Codorna	0,25 aB	0,40 aA	0,35aA	0,36 bA
Galinha	0,25 aC	0,22 bC	0,33 aB	0,50 aA
CV (%)	12,87			
Clorofila b (mg g^{-1} de MF)				
Codorna	0,08 aB	0,13 aA	0,05 bB	0,11 aA
Galinha	0,08 aC	0,05 bC	0,25 aA	0,15 aB
CV (%)	28,26			
Razão b/a (mg g^{-1} de MF)				
Codorna	0,31 aA	0,31 aA	0,17 bA	0,30 aA
Galinha	0,31 aA	0,22 aB	0,77 aA	0,31 aB
CV (%)	26,63			
Clorofila total (mg g^{-1} de MF)				
Codorna	0,33 aC	0,53 aA	0,40 bB	0,47 bB
Galinha	0,33 aD	0,27 bC	0,58 aB	0,65 aA
CV (%)	5,44			
Carotenoides (mg g^{-1} de MF)				
Codorna	0,15 aA	0,17 aA	0,18 aA	0,16 aA
Galinha	0,15 aA	0,08 bB	0,16 aA	0,20 aA
CV (%)	18,80			

⁽¹⁾ Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, nas colunas, ou maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

3.3 Análises químicas do óleo essencial

O teor e rendimento do óleo essencial não puderam ser determinados porque ocorreu uma cristalização muito rápida do óleo.

Óleo essencial foi extraído em triplicata para todos os tratamentos, exceto para o controle, pois não havia material suficiente.

Análises por CG e CG/EM do óleo essencial das folhas de *L. gracilis* caracterizaram 15 constituintes químicos que representaram mais de 93% da composição química total (Tabela 4). Diferenças qualitativas foram evidentes entre o controle e as plantas adubadas. No controle, foram caracterizados 10 constituintes químicos, enquanto que para as plantas adubadas, entre 13 a 15 constituintes. Cinco constituintes não detectados nas amostras do tratamento controle foram o 1-octen-3-ol, o hidrato de *trans*-sabineno, o acetato de timol, o humuleno e o δ -cadineno. Enquanto que o acetato de timol e/ou o δ -cadineno foram os responsáveis por diferenças qualitativas nas plantas adubadas.

Independente dos tratamentos, carvacrol e timol, constituíram juntos mais que 83% da composição química total do óleo essencial de *L. gracilis*. O tratamento controle, apesar de ter apresentado o menor acúmulo de biomassa dos órgãos e total, expressou a maior síntese de carvacrol (81,82%) menor síntese de timol (8,87%) e bem menos na síntese de β -cariofileno (1,27%). Houve uma tendência de aumento de timol e β -cariofileno com o incremento nas doses de esterco avícola, e para o carvacrol uma diminuição (Figura 2). Nas plantas adubadas com esterco avícola o teor médio de carvacrol foi de 77,93% e de timol de 9,87%. Estes valores estão de acordo com Santos et al. (2014) onde o carvacrol estava na faixa de 73,9 a 77% e o timol entre 4,9 a 10,3% nos óleos essenciais extraído de *L. gracilis* cultivada sob a presença e ausência de irrigação e NPK.

Os demais constituintes identificados no óleo essencial das plantas de *L. gracilis* adubadas e não adubadas apresentaram teores abaixo de 4,03%. Cita-se β -cariofileno (1,27 a 4,03%), óxido de cariofileno (0,63 a 1,50%) e 2,5-dimetoxiacetofenona (1,12 a 1,62%), dentre outros. Dentre os constituintes minoritários, os teores de β -cariofileno nas plantas adubadas com diferentes doses de esterco de codorna e galinha aumentaram mais que 60% em relação as plantas não adubadas. Melo et al. (2014) estudando três genótipos diferentes de *Lippia gracilis* identificaram timol (40,52%), γ -terpineno (8,29%), *p*-cimeno (8,00%), metil timol (7,94%) e β -cariofileno (6,45%) para o genótipo LGRA-106. Para o genótipo LGRA-109 foram identificados o carvacrol (45,84%), *p*-cimeno (12,47%), γ -terpineno (12,81%), β -cariofileno (5,38%) e metil timol (5,11%) e para o genótipo LGRA-201 carvacrol (32,60%), γ -terpineno (25,91%), *p*-cimeno (12,40%), β -cariofileno (5,79%), e timol (5,57%).

Figura 2 - Porcentagem relativa de Carvacrol do óleo essencial de folhas de *Lippia gracilis* em relação a diferentes fontes e doses de esterco de codorna e galinha. Lavras, 2016.

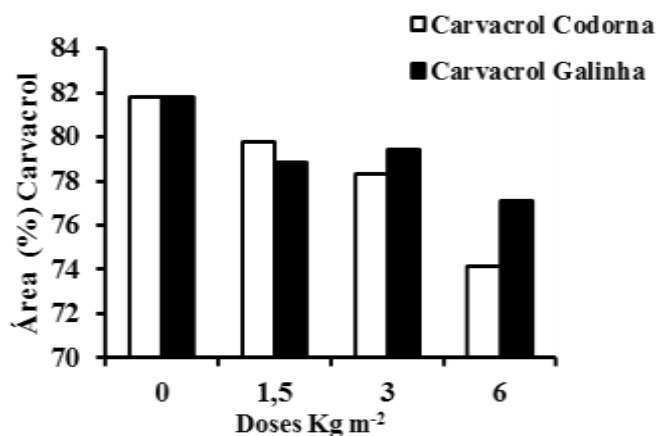


Figura 3 - Porcentagem relativa de Timol do óleo essencial de folhas de *Lippia gracilis* em relação a diferentes fontes e doses de esterco de codorna e galinha. Lavras, 2016.

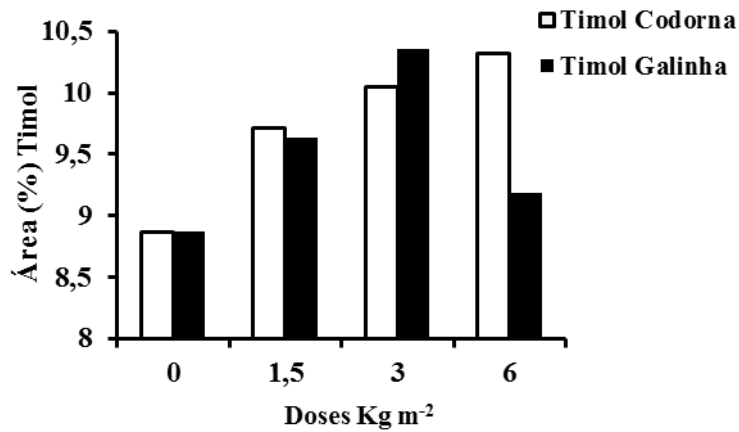


Figura 4 - Porcentagem relativa de Cariofileno do óleo essencial de folhas de *Lippia gracilis* em relação a diferentes fontes e doses de esterco de codorna e galinha. Lavras, 2016.

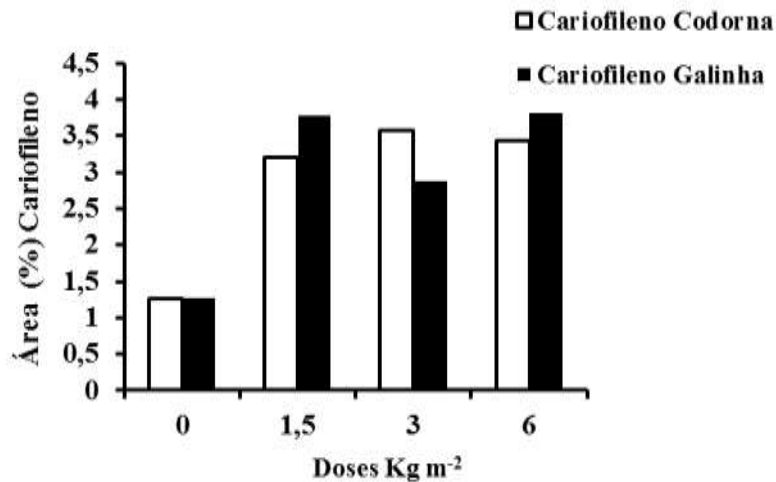


Tabela 4 – Porcentagem relativa dos compostos do óleo essencial de folhas de *Lippia gracilis* S. sob diferentes doses (Kg m⁻²) de esterco de codorna e galinha. Lavras, 2016.

Constituinte	IR*	Área (%) ±DP						
		Codorna				Galinha		
		0,0	1,5	3,0	6,0	1,5	3,0	6,0
1-octen-3-ol	978	nd	0,19±0,01	0,38±0,00	0,61±0,00	0,22±0,05	0,53±0,09	0,44±0,09
Hidrato de <i>trans</i> - sabineno	1068	nd	0,27±0,01	0,31±0,00	0,31±0,00	0,29±0,02	0,29±0,03	0,35±0,06
Linalol	1100	0,23	0,40±0,02	0,43±0,00	0,42±0,00	0,40±0,03	0,43±0,04	0,44±0,08
Ipsdienol	1147	0,42	0,45±0,02	0,43±0,00	0,43±0,00	0,42±0,01	0,45±0,03	0,39±0,05
Terpineno-4-ol	1179	0,54	0,59±0,03	0,62±0,17	0,53±0,02	0,51±0,04	0,56±0,06	0,52±0,10
Timol	1293	8,87	9,71±0,01	10,05±0,03	10,32±0,00	9,63±0,17	10,35±0,03	9,19±0,26
Carvacrol	1306	81,82	79,78±0,05	78,32±0,17	74,15±0,12	78,82±0,17	79,43±0,59	77,10±3,45
Acetato de timol	1356	nd	nd	0,16±0,00	nd	0,23±0,00	nd	0,32±0,03
Acetato de carvacrol	1375	1,28	1,52±0,09	1,50±0,00	1,00±0,01	1,68±0,50	0,94±0,05	2,52±0,37
β -cariofileno	1426	1,27	3,20±0,20	3,58±0,02	3,43±0,00	3,77±0,44	2,87±0,27	3,81±1,54
Humuleno	1460	nd	0,24±0,01	0,25±0,00	0,22±0,00	0,27±0,03	0,20±0,01	0,27±0,09
2,5-dimetoxiacetofenona	1485	1,23	1,30±0,07	1,23±0,00	1,12±0,00	1,16±0,44	1,12±0,13	1,28±0,09
β -bisaboleno	1512	0,29	0,34±0,02	0,34±0,00	0,34±0,00	0,44±0,06	0,31±0,01	0,39±0,14
δ -cadineno	1528	nd	nd	0,14±0,00	0,16±0,00	0,18±0,00	0,14±0,00	0,18±0,00
Óxido de cariofileno	1590	1,50	1,20±0,02	0,89±0,07	0,85±0,00	0,91±0,16	1,19±0,07	1,33±0,08
Área Total (%)		97,45	99,19	98,63	93,89	98,93	98,81	98,53
Nº de constituintes presentes		10	13	15	14	15	14	15

*Índice de retenção relativo à série n-alcanos (C₈-C₂₀) em coluna HP5-5MS na ordem de eluição. DP: desvio padrão (n=3).

3.4 Doseamento de compostos fenólicos

O resíduo seco dos extratos obtidos por maceração dinâmica em etanol 70% das folhas desidratadas de *L. gracilis* compreenderam a faixa de 27 a 33%, denotando baixos rendimentos (Tabela 5). Apesar da maceração dinâmica não ser um processo de extração exaustivo, geralmente é mais eficiente que a maceração estática. A agitação exerce influência acentuada na extração dos constituintes químicos de uma matéria prima vegetal. Visto que, sob repouso, o solvente em contato direto com a matéria prima vegetal alcança a concentração de saturação muito mais rápida que sob agitação, por depender exclusivamente do coeficiente de difusão dos constituintes químicos (PRISTA et al., 1995). Em extratos hidroetanólicos (12,5%, m/v) de flores de *Calendula officinalis* obtidos por maceração estática, Costa et al. (2010) determinaram 2,89% de resíduo seco. Os maiores rendimentos foram observados na dose 1,5 Kg m² do esterco de codorna (33,43%) e 3,0 Kg m² do esterco de galinha (32,05%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Rendimento extrativo e teores de compostos fenólicos do extrato etanólico a 70% de folhas de *L. gracilis* sob diferentes fontes e doses (kg m⁻²) de adubo orgânico ⁽¹⁾. (continua)

Adubo	Doses (Kg m ⁻²)			
	0	1,5	3,0	6,0
RENDIMENTO (%)				
Codorna	28,09 aB	33,43 aA	29,17 bB	27,27 aC
Galinha	28,09 aB	27,80 bC	32,05 aA	27,47 aC
FENÓIS TOTAIS (mg EAG/g)				
Codorna	19,01±0,08 aB	19,67±0,03 aA	18,02±0,25 aC	18,87±0,07 aB
Galinha	19,01±0,08 aB	19,27±0,07 aA	18,44±0,02 aB	18,78±0,52 aB
CV (%)	1,12			
FLAVONOIDES (mg EQ/g)				
Codorna	0,95±0,06 aC	1,31±0,04 aB	1,56±0,03 bA	1,53±0,00 bA

Galinha	0,95±0,06 aC	1,19±0,01 bB	1,74±0,02 aA	1,74±0,02 aA
CV (%)	3,17			
DIHIDROFLAVONOIDES				
(mg EN/g)				
Codorna	10,79±0,3 aB	10,31±0,3 bA	6,54±0,2 bC	10,88±0,05 aB
Galinha	10,79±0,3 aB	12,17±0,4 aA	11,38±0,06 aB	11,31±0,3 aB
CV (%)	3,10			

⁽¹⁾ Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, nas colunas, ou maiúsculas nas linhas não diferem significativamente para a mesma classe de composto fenólico, segundo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. **Fenólicos totais:** expressos em mg equivalente de ácido gálico/g de folha seca (mg EAG/g). **Flavonoides:** expressos em mg equivalente de quercetina/g de folha seca (mg EQ/g). **Dihidroflavonóides:** expressos em mg equivalente de naringenina/g de folha seca (mg EN/g). Os dados representam a média ± desvio padrão ($n=3$). (conclusão)

Houve diferenças estatisticamente significativas nos teores de compostos fenólicos das amostras de *L. gracilis*. Os teores de fenóis totais variaram de 18,02 a 19,67 mg EAG/g, os de flavonoides de 0,95 a 1,74 mg EQ/g e os de dihidroflavonóides de 6,54 a 12,17 mg EN/g (Tabela 5). Apenas para os teores de fenóis totais, não houve diferenças estatísticas significativas entre os tipos de adubos. No entanto, na menor dose de adubação, as plantas adubadas com esterco de codorna apresentaram maiores teores de flavonoides totais do que naquelas adubadas com esterco de galinha. A recíproca é verdadeira, quanto aos teores de dihidroflavonóides. Plantas adubadas na dose de 1,5 Kg m⁻² de esterco de galinha apresentaram maior teor de dihidroflavonóides que as adubadas com esterco de codorna. As plantas sob estes mesmos tratamentos quando comparadas ao controle, apresentaram teores estatisticamente inferiores às plantas adubadas para os teores de fenóis e flavonoides totais. Os teores de dihidroflavonóides não diferiram do controle para estas plantas (1,5 Kg m⁻² de adubos de codorna ou galinha). As maiores doses de esterco de codorna incrementaram os teores de flavonoides, mas reduziram os teores de fenóis totais (Tabela 5).

A variabilidade nos teores fenólicos está associada à natureza do solvente, o método de extração e a parte da planta utilizada (MIGUEL et al., 2014; STANKOVIC et al., 2012; TURKMEN et al., 2006).

4 CONCLUSÕES

O crescimento, os teores fotossintéticos, as análises químicas do óleo essencial e compostos fenólicos de *L.gracilis* S. são alterados em função das diferentes fontes e doses de esterco avícola, em que a melhor dose foi de 1,5 Kg m⁻² de esterco de codorna e 3,0 Kg m⁻² de esterco de galinha.

Variações nas análises químicas do óleo essencial, qualitativas e quantitativas, ocorrem dependendo do adubo e da dose utilizada. Nas análises químicas o constituinte químico majoritário identificado em todos os tratamentos foi o carvacrol. Entretanto, a maior síntese foi observada no tratamento controle, sem adubação.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Illinois: Allured. 2007. 804 p.
- ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brasilian archives of biology and technology**, v. 49, p. 527-535, 2006.
- BITU, V. C. N.; COSTA, J. G. M.; ROGRIGUES, F. F. G.; COLARES, A. V., COUTINHO, H. D. M.; BOTELHO, M. A.; PORTELA, A. C.; SANTANA, N. M. MENEZES, I. R. A. Effect of Collection Time on Composition of Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae) Growing in Northeast Brazil. **TEOP**, v. 18, n. 3, p. 647-653, 2015.
- BITU, V. C.; FECUNDO, H. D.; COSTA, J. G.; COUTINHO, H. D.; RODRIGUES, F. F.; SANTANA, N. M.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R. Chemical composition of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer leaves and its potential as modulator of bacterial resistance. **Nat Prod Res.**, v. 28, n. 6, p. 399-402, 2014.
- CORRÊA, R. M. et al. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 80-89, jan./mar, 2010.
- COSTA, A. G. Adubação orgânica níveis de sombreamento e tipos de malhas sobre o crescimento e a produção de óleo essencial de hortelã-pimenta. 2011. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG, 2011.
- COSTA, A. G.; BERTOLUCCI, S. K.V.; CHAGAS, J. H.; FERRAZ, E. O.; PINTO, J. E. B. P. Biomass production, yield and chemical composition of peppermint essential oil using different organic fertilizer sources. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 37, n. 3, p. 202-210, maio/jun, 2013.

CRUZ, E. M. O.; JUNIOR, L. M. C.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. A.; ARAUJO, S. A.; BLANK, M. F. A.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; BLANK, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 198-202, 2013.

FABRI, R. L.; NOGUEIRA, M. S.; MOREIRA, J. R.; BOUZADA, M. L. M.; SCIO, E. Identification of Antioxidant and Antimicrobial Compounds of *Lippia* Species by Bioautography. **Journal of medicinal food.**, v. 14, n. 7/8, p. 840-846, 2011.

FERRAZ, E. O.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; RIBEIRO, A. S.; SILVEIRA, H. R. O.; CHAGAS, J. H. Tipos e doses de adubação orgânica no teor e rendimento de óleo essencial de *Achillea millefolium* L. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA. 19., **Anais...** 27 de setembro a 01 de outubro de 2010.

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

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909-930, 2010.

GUIMARÃES, A. G.; GOMES, S. V. F.; MORAES, V. R. S.; NOGUEIRA, P. C. L.; FERREIRA, A. G.; BLANK, A. F.; SANTOS, A. D. C.; VIANA, M. D.; SILVA, G. H.; LUCINDO, J.; JÚNIOR, Q. Phytochemical characterization and antinociceptive effect of *Lippia gracilis* Schauer. **J Nat Med**, v. 66, p. 428-434, 2012.

JAYAPRAKASHA, G. K.; GIRENAVAR, B.; PATIL, B. S. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 10, p. 4484-4494, aug. 2008.

KOSTIC, D.A.; DIMITRIJEVIC, D.S.; MITIC, S.S.; MITIC, M.N.; STOJANOVIC, G.S.; ZIVANOVIC, A.V. A survey on macro- and micro-elements, phenolic compounds, biological activity and use of *Morus* spp. (Moraceae). **Fruits**, v. 68, p. 333-347, 2013.

LINS, A.D.F.; OLIVEIRA, M.N.; FERNANDES, V. O.; ROCHA, A.P.T.; SOUSA, F.C.; MARTINS, A.N.A.; NUNES, E.N. Quantificação de compostos bioativos em erva cidreira (*Melissa officinalis* L.) e capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.]. **GAIA SCIENTIA**, v. 9, n. 1, p. 17-21, 2015.

MELO, J. O.; BITENCOURT, T. A.; FACHIN, A. L.; CRUZ, E. M. O.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BLANK, M. F. A.; FRANCA, S. C; BELEBON, I. R. O.; FERNANDES, R. P. M.; BLANK, A. F.; SCHER, R. Antidermatophytic and antileishmanial activities of essential oils from *Lippia gracilis* Schauer genotypes. **Acta Tropica**, v. 128, p. 110-115, 2013.

MELO, J. O.; FACHIN, A. L.; RIZO, W. F. JESUS, H. C. R. ARRIGONI-BLANK, M. F.; ALVES, P. B.; MARINS, M. A. FRANÇA, S. C, BLANK, A. F. Cytotoxic effects of essential oils from three *Lippia gracilis* Schauer genotypes on HeLa, B16, and MCF-7 cells and normal human fibroblasts. **Genetics and Molecular Research** 13 (2): 2691-2697 (Apr - 2014).

MENDES, S. S.; BOMFIM, R. R.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; THOMAZZI, S. M. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, p. 391-397, 2010.

MIGUEL, M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, Washington, v. 15, n. 12, p. 9252-9287, Dec. 2010.

MIGUEL, M. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholine sterase activities of eleven extracts of moroccan plants. **Fresenius Environmental Bulletin**, Washington, v. 6, n. 24, p. 1-14, feb. 2014.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 2B, p. 553-556, abr./jun. 2009.

NIST-NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library. **Gaithersburg**. Software. 2008.

NOGUEIRA, N.O.; MARTINS, L.D.; TOMAZ, M.A.; ANDRADE, F.V.; PASSOS, R.R. Teor de nitrogênio, clorofila e relação clorofila-carotenoide em café arábica em solo submetido a diferentes corretivos de acidez. **Rev. Bras. Ciênc. Agrár.** Recife, v. 8, n. 3, p. 390-395, 2013.

PANDEY, V.; PATEL, A.; PATRA, D. D. Integrated nutrient regimes ameliorate crop productivity, nutritive value, antioxidant activity and volatiles in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 124-131, apr./2016.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R.; LOBO, J. S. **Tecnologia Farmacêutica**. 7. ed. Lisboa: Fundação Calouste, 1995. v. 2. p. 1442.

RAGAGNIN, R. C. G.; ALBUQUERQUE, C. C.; OLIVEIRA, F. F. M. O.; SANTOS, R. G.; GURGEL, E. P.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A.; VIANA, F. A. Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta bot. bras.**, v. 28, n. 3, p. 346-351, 2014.

ROSAL, L. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; BRANT, R. S.; NICULAU, E. S.; ALVES, P. B. Produção vegetal e de óleo essencial de boldo pequeno em função de fontes de adubos orgânicos¹. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 58, n.5, p. 670-678, set/out, 2011.

ROBY, M.H.H.; SARHAN, M. A.; SELIM, K.A.H.; KHALEL, K.I. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 827-831, 2013.

SANTOS, M. M.; PEIXOTO, A. R.; PESSOA, E. S.; NEPA, H. B. S.; PAZ, C. D.; SOUZA, A.V.V. Studies of chemical compounds and antibacterial activity of the essential oil from *Lippia gracilis* against *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* "in vitro". **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 3, p. 277-280, 2014.

SANTOS, C. P.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, C. A.; CRUZ, E. M. O.; BLANK, M. F. A.; ANDRADE, T. M.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. Harvest time and geographical origin affect the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Industrial Crops and Products**, v. 79. p. 205-210, 2016.

SANTOS, E. H.; KAMIMURA, J. A.; HILL, L. E.; GOMES, C. L. Characterization of carvacrol beta-cyclodextrin inclusion complexes as delivery systems for antibacterial and antioxidant applications. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 583-592, 2014.

SILVA, W. J.; DÓRIA, G. A. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. H. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3251-3255, 2008.

SINGH, K., CHAND, S., YASEEN, M. Integrated nutrient management in Indianbasil (*Ocimum basilicum*). **Ind. Crops Prod.**, v. 55, p. 225-229, 2014.

SUJATHA, S.; BHAT, R.; KANNAN, C.; BALASIMHA, D. Impact of intercropping of medicinal and aromatic plants with organic farming approach on resource use efficiency in arecanut (*Areca catechu* L.) plantation in India. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 78-80, 2011.

TELES, S.; PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, L. M.; MALHEIRO, R. MACHADO, S. S.; LUCCHESI, A. M.; SILVA, F. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia origanoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 169-176, may/2014.

TELES, S.; PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, L. M.; MALHEIROS, R.; LUCCHESI, M. A.; SILVA, F. *Lippia origanoides* H.B.K. essential oil production, composition, and antioxidant activity under organic and mineral fertilization: Effect of harvest moment. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 217-225, 2014.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, n. 4, p. 463-471, 1963.