

**CONDIÇÕES CULTURAIS, ANATOMIA FOLIAR,
PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE
Ocimum selloi EM RELAÇÃO AO ÓLEO ESSENCIAL**

LARISSA CORRÊA DO BOMFIM COSTA

2008

LARISSA CORRÊA DO BOMFIM COSTA

**CONDIÇÕES CULTURAIS, ANATOMIA FOLIAR,
PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE
Ocimum selloi EM RELAÇÃO AO ÓLEO ESSENCIAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Curso de Pós
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Costa, Larissa Corrêa do Bomfim

Condições culturais, anatomia foliar, processamento e armazenamento de
Ocimum selloi em relação ao óleo essencial / Larissa Corrêa do Bomfim Costa. -
Lavras: UFLA, 2008.

161p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

Bibliografia.

1. Atroveran. 2. Planta medicinal. 3. Óleo essencial. 4. Telas coloridas. 5.
Composição química. 6. Adubação orgânica. 7. Armazenamento. 8. Época de
colheita. 9. Atividade fungitóxica. 10. Poda das inflorescências. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.88396

LARISSA CORRÊA DO BOMFIM COSTA

**CONDIÇÕES CULTURAIS, ANATOMIA FOLIAR,
PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE
Ocimum selloi EM RELAÇÃO AO ÓLEO ESSENCIAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Pós Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 12 de fevereiro de 2008.

Prof. Dr. Daniel Melo de Castro - UFLA/DBI

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA/DBI

Prof. Dr. Marçal Henrique Amici Jorge - EMBRAPA/Pantanal - CPAP

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA/DAG

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

UFLA / DAG

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

2008

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter iluminado o meu caminho.

Aos meus familiares, em especial meu marido, João e filhos, Lucas e Matheus, pelo carinho, companhia, paciência e compreensão.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e aos professores do Departamento de Agricultura (DAG), pelos ensinamentos e a oportunidade de cursar o doutorado.

À Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) e aos colegas do Departamento de Ciências Biológicas (DCB), pela liberação e incentivo à minha formação profissional.

À FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro do projeto.

Ao professor José Eduardo Brasil Pereira Pinto, meu orientador, a quem aprendi a admirar, pelo seu otimismo, determinação e perseverança.

Ao professor Evaristo Mauro de Castro, pela atenção, auxílio, incentivo e amizade.

Aos colegas que deixei por todos os laboratórios em que passei: Carlos Vinício, Cynthia, Giuslan e Tales, na Anatomia Vegetal; Eloísa, na Microscopia Eletrônica; Ana Monteiro, Ariana, Bruno, Carla, Daniel, Eliane Fabrício, Jadir, Jessica, Pedro, Ricardo e Rute, na Fitopatologia; Alisson, Ana Luíza, Carolina, Érika, Jorge, Louise, Luciana, Renata, Ricardo, Priscila e Rose na Cultura de Tecidos, pela convivência e amizade.

Aos servidores técnico-administrativos do Laboratório e Horto de Plantas Medicinais Evaldo, Luiz e Dico, pela amizade e ajuda incondicional.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização de mais esta importante etapa da minha vida profissional.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
1. Introdução Geral	1
2. Referencial Teórico	3
2.1. Caracterização botânica	3
2.2. Morfoanatomia	5
2.3. Óleo essencial	7
2.4. Efeito da poda e adubação sobre a produção de princípios ativos	9
2.5. Efeito do ambiente sobre a produção de princípios ativos	10
2.6. Atividade tóxica sobre fungos fitopatogênicos	12
2.7. Pós-colheita e armazenamento	13
3. Referências Bibliográficas	14
ARTIGO 1: Viabilidade de sementes de <i>Ocimum selloi</i> Benth. sob condições de luz, temperatura e tempo de armazenamento	20
1. Resumo	20
2. Abstract	20
3. Introdução	21
4. Material e Métodos	22
5. Resultados e Discussão	24
5.1. Efeito da luz e temperatura	25
5.2. Efeito do tempo de armazenamento e temperatura de conservação	26
6. Conclusões	32
7. Referências Bibliográficas	32

ARTIGO 2: Comprimento da estaca e tipo de substrato na propagação vegetativa de <i>O. selloi</i> Benth.	35
1. Resumo	35
2. Abstract	36
3. Introdução	36
4. Material e Métodos	38
5. Resultados e Discussão	40
6. Conclusões	42
7. Referências Bibliográficas	42
ARTIGO 3: Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita	45
1. Resumo	45
2. Abstract	46
3. Introdução	47
4. Material e Métodos	48
5. Resultados e Discussão	50
5.1. Crescimento e produção de biomassa	50
5.2. Produção de óleo essencial.....	55
6. Conclusões	56
7. Referências Bibliográficas	56
ANEXO	61
ARTIGO 4: Tipos e doses de adubação orgânica no crescimento, no rendimento e na composição química do óleo essencial de <i>Ocimum selloi</i> Benth... ..	63
1. Resumo	63
2. Abstract	64
3. Introdução	64
4. Material e Métodos	65
5. Resultados e Discussão	68

6. Conclusões	77
7. Referências Bibliográficas	77
ARTIGO 5: Efeitos do sombreamento com telas coloridas no crescimento vegetativo e estrutura foliar de <i>ocimum selloi</i>	80
1. Resumo	80
2. Abstract	81
3. Introdução	82
4. Material e Métodos	83
4.1. Cultivo das plantas	83
4.2. Análises biométricas	84
4.3. Análises microscópicas	85
4.4. Delineamento experimental e análise estatística	86
5. Resultados e Discussão	86
6. Conclusões	101
7. Referências Bibliográficas	101
ARTIGO 6: Aspectos da anatomia foliar de <i>ocimum selloi</i> benth. (lamiaceae), em diferentes condições de qualidade de luz	105
1. Introdução	105
2. Material e Métodos	106
3. Resultados e Discussão	108
4. Conclusões	112
5. Referências Bibliográficas	112
ARTIGO 7: Tricomas foliares, rendimento e composição do óleo essencial de <i>ocimum selloi</i> cultivada sob telas coloridas	115
1. Resumo	115
2. Abstract	116
3. Introdução	116
4. Material e Métodos	118

4.1. Cultivo das plantas	118
4.2. Características espectrais das telas coloridas	119
4.3. Anatomia foliar	119
4.4. Óleo essencial	120
4.5. Cromatografia gasosa.....	120
4.6. Análise estatística.....	121
5. Resultados e Discussão	122
5.1. Influência da luz na densidade dos tricomas foliares.....	122
5.2. Influência da luz na composição do óleo essencial.....	124
6. Conclusões	128
7. Referências Bibliográficas	128
ARTIGO 8: Variação no rendimento e na composição química do óleo essencial de folhas de <i>ocimum selloi</i> benth. sob condições de processamento e armazenamento	132
1. Resumo	132
2. Abstract	133
3. Introdução	133
4. Material e Métodos	135
4.1. Localização	135
4.2. Cultivo das plantas	135
4.3. Beneficiamento e armazenamento	136
4.4. Extração e quantificação do óleo essencial.....	136
4.5. Análise química do óleo essencial	137
4.6. Análise estatística.....	138
5. Resultados e Discussão	138
6. Conclusões	142
7. Referências Bibliográficas	143

ARTIGO 9: Atividade tóxica in vitro de óleo essencial de <i>ocimum selloi</i> sobre fungos fitopatogênicos	145
1. Resumo	145
2. Abstract	146
3. Introdução	146
4. Material e Métodos	147
4.1. Localização e material botânico.....	147
4.2. Extração do óleo essencial	148
4.3. Análise química do óleo essencial	148
4.4. Isolados fúngicos.....	149
4.5. Crescimento micelial.....	149
4.6. Germinação dos esporos	150
4.7. Análise estatística.....	151
5. Resultados e Discussão	151
6. Conclusões	155
7. Referências Bibliográficas	156
ARTIGO 10: Mancha foliar de <i>Pseudocercospora ocimicola</i> em <i>Ocimum selloi</i>	
158	
1. Abstract	158
2. Referências Bibliográficas	160

RESUMO GERAL

COSTA, Larissa Corrêa do Bomfim. **Condições culturais, anatomia foliar, processamento e armazenamento de *Ocimum selloi* em relação ao óleo essencial.** 2008. 161p. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Ocimum selloi Benth., conhecida popularmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran, é uma espécie medicinal nativa do Brasil, encontrada na forma silvestre ou cultivada, pouco explorada comercialmente, mas representa uma fonte potencial de produção de óleo essencial. Trabalhos de domesticação de plantas medicinais são escassos, sendo necessários maiores estudos de adaptação dessas plantas às condições de cultivo, devido à demanda das indústrias farmacêutica e cosmética. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de diferentes características culturais sobre o crescimento, a produção de óleo essencial e a conservação pós-colheita de *O. selloi*. Verificou-se que a espécie pode ser propagada tanto por sementes quanto por estaquia. Suas sementes são pequenas, leves, fotoblásticas positivas e mantêm sua viabilidade por até 12 meses de armazenamento em condições de temperatura ambiente ou refrigerada. Para a propagação vegetativa recomenda-se a utilização de estacas com 20 cm de comprimento independentemente do substrato (areia, Plantmax® e casca de arroz carbonizada). A poda das inflorescências não afeta a altura das plantas, mas aumenta a biomassa seca da parte aérea, influenciando diretamente o rendimento de óleo essencial. A observação de folhas amarelas com manchas foi o sintoma que levou ao primeiro relato de cercosporiose em *O. selloi*, causada por *Pseudecercospora ocimicola*. Quanto à utilização de adubação orgânica, observou-se influência positiva do uso de esterco bovino e avícola sobre o crescimento da planta, anatomia foliar, rendimento e composição química do óleo essencial, efeitos estes também observados pela interferência da intensidade e qualidade espectral da luz incidente. Na pós-colheita, verificou-se que o tipo de fragmentação (folhas inteiras ou moídas) e o tempo de armazenamento da matéria seca interferem claramente no rendimento e na composição do óleo essencial de *O. selloi*. O óleo essencial apresenta atividade fungitóxica com maior eficiência sobre *Crinipellis pernicioso*, constituindo, portanto, mais uma fonte biológica potencial para o controle da vassoura-de-bruxa do cacaueteiro.

¹ Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (Orientador); Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA (Co-Orientador).

GENERAL ABSTRACT

COSTA, Larissa Corrêa do Bomfim. **Cultural conditions, leaf anatomy, processing and storage of *Ocimum selloi* associated to essential oil.** 2008. 161p. Thesis (Doctor in Crop Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Ocimum selloi Benth. popularly known as elixir-paregórico, alfavaquinha and atroveran is a Brazilian medicinal plant, found in wild and cultivated form in domestic yards. It is little commercially explored but it represents a potential source of essential oil. Researches with medicinal plant domestication are scarce, being necessary more studies of the adaptation from these plants to crop conditions, mainly because the increase demands of the pharmaceutical and cosmetic industries. The objective of this work was to evaluate the effect of different aspects on the growth, essential oil production and the post harvest conservation of *O. selloi*. The species can be propagated by seeds or shoot cuttings. Its seeds are small, positive photoblastic and are viable for up to 12 months of storage in room temperature or cold chamber. The vegetative propagation is recommended with 20 cm length cuttings using any substrate types tested (washed sand, carbonized rice hulls and commercial substrate Plantmax®). Pruning of the *O. selloi* inflorescences did not interfere in plant height, but increases the dry weight of stems and leaves, influencing directly the essential oil yield. The presence of yellow leaves with spots in adult plants had been the symptoms that had taken to the first report of *O. selloi* as a host of *Pseudocercospora ocimicola*. About the use of organic fertilization, it was observed a positive influence of cattle and chicken manure doses on plant height characteristics, leaf anatomy and essential oil yield and composition. Alterations in plant growth and anatomy were observed with the intensity and quality light. The post harvest was verified that the fragmentation type (whole and powdered leaves) and storage time interfere in the essential oil yield and composition of *O. selloi*. The essential oil showed fungi toxic activity been more efficiency on *Crinipellis pernicioso* consisting a potential biological source to control witches' broom cocoa disease.

¹ Guidance Committee: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA (Major Professor), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA (Co-Major Professor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, entre os anos de 1999 e 2000, houve um aumento das vendas de fitoterápicos na ordem de 15%, enquanto que o mercado de medicamentos sintéticos cresceu apenas 3% a 4%. Atualmente, as vendas anuais de fitoterápicos no país atingem US\$ 260 milhões, enquanto que na Europa o mercado alcança a cifra de US\$ 6 bilhões e nos Estados Unidos, onde os fitoterápicos são comercializados na forma de *Dietary Supplements*, representam um mercado de US\$ 5,1 bilhões anuais (Agnol, 2002).

A demanda por óleos essenciais derivados de plantas está em franca ascensão na utilização na indústria farmacêutica, visando produzir medicamentos; na indústria alimentícia, para conferir sabor aos alimentos; na indústria química, como aromatizante e na indústria cosmética, para a composição de perfumes.

Ocimum selloi Benth. é uma planta anual herbácea, pertencente à família Lamiaceae, que ocorre nas regiões sul e sudeste do Brasil (Schmidt, 1858, citado por Martins, 1998), conhecida popularmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran. A planta tem largo uso popular como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório, propriedades estas já confirmadas em testes pré-clínicos (Vanderlinde et al., 1994a; Vanderlinde et al., 1994b).

A família Lamiaceae é rica em espécies aromáticas (Simões & Spitzer, 2000) de grande importância econômica. As espécies mais cultivadas e estudadas normalmente são exóticas, originárias da Europa e da Ásia e que foram introduzidas e bem adaptadas no Brasil. Muitas espécies desta família secretam seus óleos essenciais em tricomas glandulares localizados em órgãos vegetativos aéreos e em órgãos reprodutivos, sendo que a maior parte dos estudos com tricomas tem se restringido a características químicas e estruturais (Werker et al., 1993; Serrato-Valenti et al., 1997; Ascensão & Pais, 1998; Corsi

& Bottega, 1999; Gersbach et al., 2001; Moraes et al., 2002; Wagner et al., 2004).

Trabalhos de domesticação de plantas medicinais são escassos ou inexistentes para a maioria das espécies, sendo necessário o desenvolvimento de estudos relacionados à adaptação destas plantas às condições de cultivo (Kamada, 1998). Além do mais, pesquisas agronômicas com plantas medicinais, direcionadas ao estabelecimento de técnicas de cultivo organizado que incrementem o seu potencial produtivo, tornam-se um instrumento indireto de preservação das espécies nativas.

Entre as poucas informações que existem a respeito da influência de práticas culturais sobre o rendimento do óleo essencial nas plantas do gênero *Ocimum*, Hertwig (1991) afirma que a supressão das inflorescências em *O. basilicum* é capaz de aumentar a concentração de óleo essencial nas folhas remanescentes. Também na área de pós-colheita de plantas medicinais, as pesquisas concentram-se, principalmente, no efeito de métodos de secagem e das embalagens sobre a contaminação microbiológica da matéria seca (Costa et al., 1999a; Costa et al., 1999b; Silva et al., 1999).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar diferentes características do cultivo de *O. selloi*, envolvendo as formas de propagação (sexuada e assexuada), fitossanidade, tipos e doses de adubação orgânica, poda das inflorescências e época de colheita, efeito da qualidade e intensidade luminosa, o tipo de fragmentação e o tempo de armazenamento da droga sobre o crescimento, desenvolvimento e alterações anatômicas foliares, mas principalmente sobre o rendimento e a composição química do óleo essencial na biomassa seca, bem como a atividade fungitóxica do óleo essencial sobre fitopatógenos *in vitro*.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Caracterização botânica

Existem várias espécies do gênero *Ocimum*, denominadas popularmente de manjeriço ou alfavaca, caracterizadas pelo seu aroma ou pelo uso medicinal, as quais estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América do Sul (Corrêa Júnior et al., 1994; Martins et al., 1995). No Brasil, presume-se a existência 27 gêneros e 512 espécies (Harley, 2000). A folhagem é a parte econômica, possuindo muitos tricomas glandulares, nos quais ocorrem a síntese e o armazenamento do óleo essencial.

A espécie *Ocimum selloi* Benth., sinônimo de *Ocimum carnosum* (Spreng.) Link & Otto ex Benth.) (Paton et al., 1999), pertencente à família Lamiaceae, é conhecida vulgarmente como elixir-paregórico nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia, e como anis ou alfavaquinha em Minas Gerais. Estes termos populares se referem às suas propriedades farmacológicas (elixir-paregórico, por ter uso semelhante ao medicamento de mesmo nome comercial), químicas (anis, pela semelhança de odor com os aquênios de *Pimpinella anisum* ou *Foeniculum vulgare*, erva-doce ou funcho, respectivamente) e à semelhança com outras espécies do gênero *Ocimum* (alfavaquinha, diminutivo de alfavaca, que é um termo empregado popularmente para designar inúmeras espécies do gênero) (Martins, 1998).

A planta é um subarbusto perene, aromático, ereto, ramificado, de 40-80 cm de altura, nativa do sul e sudeste do Brasil (Figura 1A). As folhas são simples, opostas, pecioladas a subsésseis, ovadas a ovado-lanceoladas, membranáceas, de 4 a 7 cm de comprimento, com aroma semelhante ao de essência de anis. Inflorescências com 7 a 30 cm de comprimento, flores pequenas, de cor branca, dispostas em racemos terminais curtos (Figura 1B). Os

frutos são aquênios de cor escura que não se separam facilmente da semente (Lorenzi & Matos, 2002; Sobti et al., 1981).

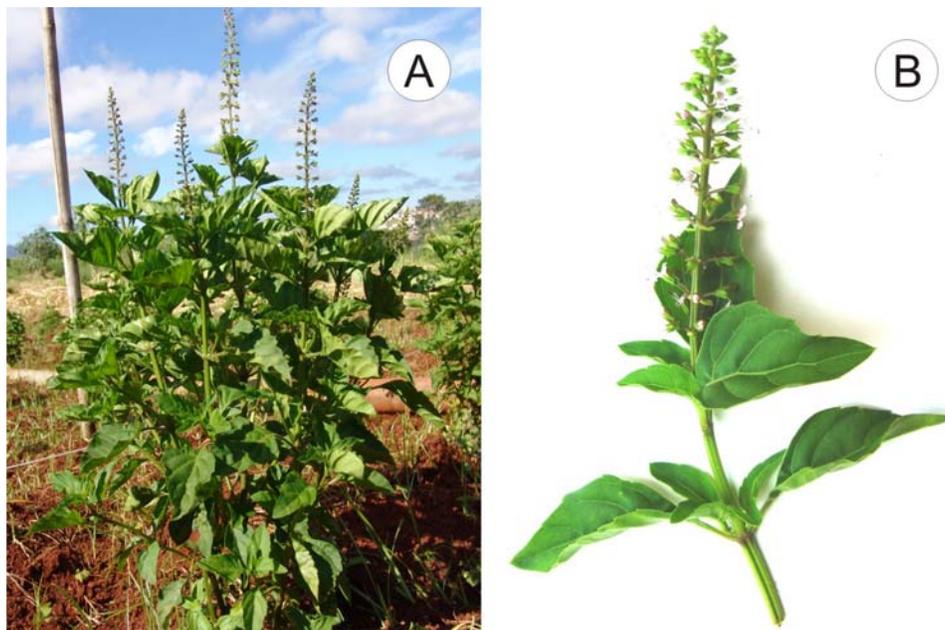


FIGURA 1. A) Planta adulta; B) detalhe da inflorescência de *Ocimum selloi*.

É uma planta cultivada nos jardins e hortas domésticas, pela sua utilidade condimentar e medicinal. Multiplica-se tanto por sementes quanto por estacas, preferindo para o seu desenvolvimento terrenos bem drenados e sombreados.

Suas folhas e inflorescências frescas são consideradas digestivo-estomacais e hepático-biliares, sendo empregadas como carminativo e contra gastrite, vômito, tosse, bronquite, gripe, febre e resfriado (Lorenzi & Matos, 2002).

2.2. Morfoanatomia

A grande importância da família Lamiaceae deve-se, principalmente, aos óleos essenciais produzidos nos tricomas glandulares (Fahn, 1975).

Estudos anatômicos verificaram que *O. selloi* possui folhas com organização dorsiventral formada por epiderme unisseriada e mesofilo composto por uma camada de células no parênquima paliçádico e quatro a seis no parênquima lacunoso. As folhas são anfihipoestomáticas, possuindo estômatos do tipo diacítico ligeiramente acima do nível das demais células epidérmicas. Nas duas faces foliares pode ser observada a presença de tricomas tectores unicelulares e tricomas glandulares (Costa, 2007).

Tricomas glandulares são anexos epidérmicos que ocorrem em muitos órgãos aéreos vegetativos e reprodutivos do vegetal e podem secretar substâncias lipofílicas. Geralmente, são formados por uma “cabeça” de células secretoras, uni ou multicelular e um pedúnculo não glandular (Esau, 1977). A superfície externa da glândula é fortemente cutinizada. Normalmente, o tricoma é completamente revestido por uma espessa camada de cutícula sob a qual acumula-se o óleo essencial (Svoboda & Svoboda, 2000). O número de células secretoras, o número e o comprimento da(s) célula(s) do pedúnculo, a densidade, a localização e o arranjo desses tricomas na epiderme podem ser variáveis (Metcalf & Chalk, 1950).

Em *O. selloi* foram encontrados dois tipos de tricomas glandulares: peltado e capitado (Figura 2), sendo este último subdividido em capitado subséssil e capitado pedunculado, exclusivo da superfície adaxial das sépalas. A diferenciação desses tricomas ocorre muito cedo no desenvolvimento da folha, do caule e da inflorescência (Gonçalves, 2001). Padrões semelhantes de precocidade na diferenciação e na fixação do número de tricomas ocorrem em *Ocimum basilicum* (Werker et al., 1993) e em *Leonotis leonorus* (Ascensão & Pais, 1998). No entanto, em espécies da mesma família, isto não foi observado,

como no caso de *Mentha x piperita*, em que o número total de tricomas peltados foi maior (Maffei et al., 1989 citado por Gonçalves, 2001).

Ainda não se conhece o efeito da poda de uma planta medicinal estimulando a brotação de novos ramos, sobre a frequência do número de tricomas nas folhas novas. Contudo, a maximização da produção de óleos essenciais pelas plantas pode estar relacionada, muitas vezes, ao aumento do número de estruturas secretoras de óleo (Gonçalves, 2001).

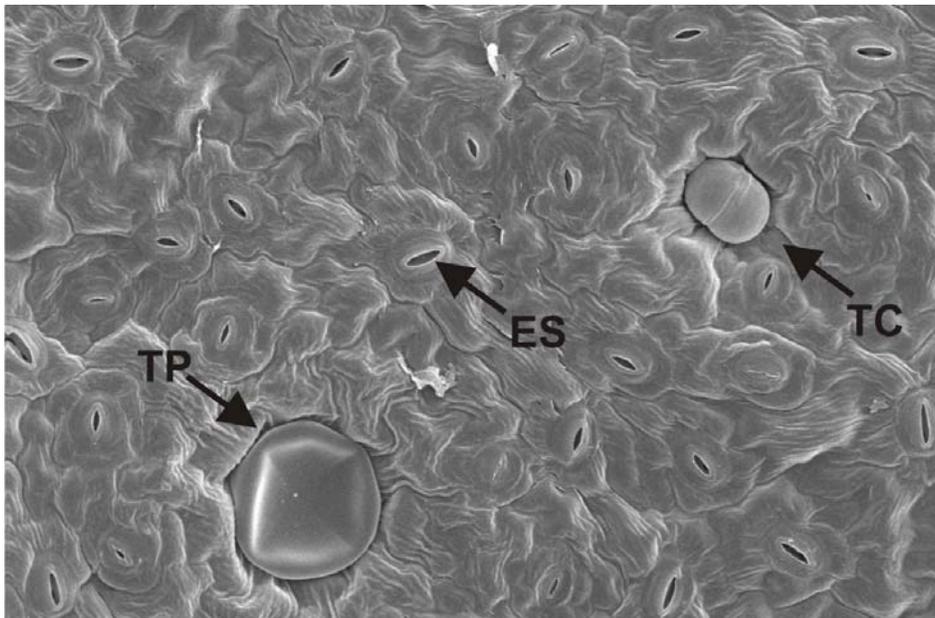


FIGURA 2. Fotomicrografia eletrônica de varredura da superfície abaxial da folha de *Ocimum selloi* evidenciando tricomas glandulares peltados (TP), tricomas glandulares capitados (TC) e estômatos (ES).

2.3. Óleo essencial

Os óleos essenciais, ou também conhecidos como óleos voláteis, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Nessas misturas, os compostos apresentam-se em diferentes concentrações. Normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssima quantidade (traços). Quimicamente, a grande maioria dos óleos voláteis é constituída de derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides, dos quais os últimos preponderam. Os compostos terpênicos mais freqüentes nos óleos voláteis são os monoterpenos e os sesquiterpenos (Simões & Spitzer, 2000).

Os óleos essenciais que apresentam maior demanda comercial quase sempre são provenientes de espécies européias e/ou asiáticas domesticadas. Nestes países, ainda há estudos que visam identificar e preservar os recursos genéticos existentes dessas espécies e de espécies silvestres, que possuam algum potencial para a produção de óleo e possam ser incluídas entre as espécies utilizadas na produção comercial. Nas regiões tropicais e subtropicais, onde a diversidade vegetal é muito maior, o conhecimento do potencial dos recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas e sua preservação devem ser uma busca constante (Martins, 1998).

Dependendo da família, os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como em tricomas glandulares (Lamiaceae), células oleíferas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pianaceae, Rutaceae). Os óleos voláteis podem estar estocados em certos órgãos, tais como nas flores (laranjeira), folhas (capim-limão, eucalipto) ou, ainda, nas cascas dos caules (canela), madeira (sândalo), raízes (vetiver), rizomas (curcuma, gengibre), frutos (funcho, erva-doce) ou sementes (noz-moscada). Embora todos os órgãos de

uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a sua localização (Simões & Spitzer, 2000).

A composição química do óleo essencial nas espécies do gênero *Ocimum* apresenta predominantemente, monoterpenos e sesquiterpenos. Em decorrência da grande diversidade química dentro das espécies, é comum a denominação de quimiotipos ou raças químicas, que caracterizam populações quimicamente distintas (Kamada, 1998). Estudando dois acessos de *O. selloi* originários de Minas Gerais, Martins (1998), estabeleceu duas variedades taxonômicas com base nas suas diferenças morfológicas, bioquímicas e químicas. O acesso A apresentou como principal constituinte químico, o estragol, enquanto que, no acesso B, foi o metileugenol. Por sua vez, Moraes et al. (2002), investigando outro material originário de Botucatu (São Paulo), descobriram que a sua constituição química diferiu dos anteriores, sendo formada principalmente por anetol e metil chavicol, considerando-o, então, como um terceiro quimiotipo. Pesquisas anteriores realizadas na Índia com *Ocimum carnosum* (Spreng.) Link & Otto ex Benth., sinônimo de *Ocimum selloi* Benth. já haviam identificado um acesso com óleo essencial composto principalmente por elemicina (Sobti et al., 1981).

A composição do óleo essencial de uma planta é determinada geneticamente, sendo, geralmente, específica para um determinado órgão e característica para o seu estágio de desenvolvimento, mas as condições de cultivo, do ambiente e os tratos culturais adotados são responsáveis por grandes variações.

Em vista disso, muitos estudos têm tido como principal objetivo, aperfeiçoar os tratos culturais visando maximizar a produção de óleo essencial, como por exemplo, a determinação do melhor momento para a colheita, isto é, quando as plantas apresentam maior conteúdo de óleo essencial e seus constituintes mais importantes (Martins, 1998).

2.4. Efeito da poda e adubação sobre a produção de princípios ativos

Entre as poucas informações que existem a respeito da influência de práticas culturais sobre o rendimento do óleo essencial nas plantas do gênero *Ocimum*, Hertwig (1991) afirma que a supressão das inflorescências em *O. basilicum* é capaz de aumentar a concentração de óleo essencial nas folhas remanescentes. A supressão das flores evita o envelhecimento precoce das plantas, pois a fecundação e a frutificação subseqüentes à florada ocasionam uma queda do teor de essência em toda a planta (Hertwig, 1991). Segundo Larcher (1986), este fato ocorre porque há maior translocação de fotoassimilados das regiões de síntese (folhas) para os locais em que serão consumidos, no caso as inflorescências e os frutos em formação.

Apesar de Mattos (1996) afirmar que a poda da florada é uma prática freqüente em plantas aromáticas com a finalidade de exaltar a folhagem, para incrementar o aroma das folhas e aumentar o número de colheitas, ainda não se tem conhecimento de que isto seja adotado por produtores brasileiros. Além disso, há escassez de pesquisas que apontem o intervalo mais apropriado de colheita das folhas e qual o efeito sobre o rendimento de óleo nestas plantas.

A adubação também pode apresentar efeito sobre o crescimento das plantas e o rendimento e qualidade do óleo essencial. A espécie *Ocimum gratissimum* L. cultivada em hidroponia apresentou resposta positiva na produção de massa total de folhas e no rendimento de óleo, dependendo da proporção de Mg e N diluídos na solução (Maia et al., 2001). Por outro lado, *Baccharis trimera* Less., submetida a diferentes tratamentos de adubação mineral, não mostrou resposta em relação à produção de fitomassa, produção de droga e produção de flavonóides (Borella et al., 2001). Em *Mentha arvensis* L., o nitrogênio aumentou significativamente a produção da planta. A aplicação somente de esterco de curral não trouxe aumento significativo na produtividade,

mas quando a cultura recebeu esterco associado a nitrogênio, a produtividade aumentou. O rendimento de óleo essencial, entretanto, tendeu a diminuir com a aplicação de esterco, esterco + nitrogênio e NPK, comparado ao controle, apesar deste decréscimo não ser significativo. Visto que o teor de óleo não foi afetado pela aplicação de nitrogênio + esterco de curral, o aumento no rendimento de óleo poderia se principalmente devido ao aumento no rendimento ou produtividade da espécie (Singh et al., 1988).

2.5. Efeito do ambiente sobre a produção de princípios ativos

O momento da coleta durante o dia pode alterar a concentração e a composição do óleo essencial (Mattos, 1996). Martins (1988), avaliando horários de coleta para a extração de óleo essencial de *O. selloi*, verificou que no período da manhã foram obtidas maiores concentrações. Entre as partes colhidas, as inflorescências tiveram maior conteúdo de óleo essencial em relação aos ramos com folhas, o que foi confirmado também por Moraes et al. (2002).

A temperatura pode influenciar o crescimento e desenvolvimento da planta, pois para cada cultura existe uma faixa de temperatura mínima, máxima e ótima para o seu pleno desenvolvimento. O cultivo de plantas medicinais em regiões de temperatura mais elevada normalmente ocasiona maior volatilização dos óleos essenciais (Hertwig, 1991). Contudo, plantas de *Artemisia annua* L. submetidas a tratamentos de amplitudes térmicas de 18°/28°C e de 11°/20°C (dia/noite), não apresentaram diferenças de rendimento de artemisina por planta (Marchese & Rehder, 2001).

A idade da planta pode ser um fator importante quando se pretende buscar o maior teor de princípios ativos de uma planta. A dedaleira (*Digitalis purpurea*), aos quatro meses após o plantio, possui 0,0014% de digitoxina (glicosídeo cardioativo); aos oito meses, próximo do florescimento, este teor pode chegar até a 0,08% (cerca de 57 vezes maior que o anterior). O jaborandi

(*Pilocarpus microphyllus*) possui baixo teor de pilocarpina (alcalóide) quando jovem. O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) possui maior teor de óleos essenciais após a floração, sendo uma das exceções dentre as plantas medicinais de modo geral (Martins et al., 1995).

A intensidade e a qualidade da luz incidente podem ter efeitos variados sobre a produção de metabólitos secundários dependendo da espécie. Plantas de confrei (*Symphytum officinale* L.) submetidas a fotoperíodos crescentes (8, 12 16 e 20 horas) tiveram um aumento no teor médio de alantoína em raízes (0,06%, 0,303%, 1,213% e 4,78%) e uma redução no acúmulo de alantoína em rizomas (9,65%, 7,14% e 0,55%), demonstrando que as condições de fotoperíodo influenciaram tanto a síntese dessa substância nesses órgãos, como o seu acúmulo nos rizomas (Castro et al., 2001). Quanto à intensidade luminosa, plantas de *Catharanthus roseus* cultivada a pleno sol cresceram significativamente mais do que aquelas mantidas a 50% de radiação, entretanto a concentração foliar de vincristina não foi alterada (Tebet et al., 1996). O teor de óleo essencial em *Salvia officinalis* L. cultivada a pleno sol, foi menor do que nas plantas cultivadas sob sombreamento de 45%, enquanto que para o tomilho (*Tymus vulgaris* L.) foi observado o efeito inverso com maior teor de óleo nas plantas a pleno sol e diminuição da concentração de óleo com a redução da intensidade luminosa (Li & Creker, 1996). Para a babosa (*Aloe vera* L.) submetida a três níveis de irradiância, o aumento da irradiância não induziu aumento do teor de alantoína. A limitação na disponibilidade de luz afetou primariamente a produção e alocação de biomassa seca, sem efeitos substanciais na produção de metabólitos primários ou secundários (Paez et al., 2000). Plantas de *O. selloi* mantidas a pleno sol e sob 50% de sombreamento não tiveram diferença significativa no teor de óleos essenciais (Gonçalves, 2001).

A plasticidade fenotípica em acessos de manjerição (*Ocimum* spp.) demonstra que a influência do ambiente é determinante na produção quantitativa

dos constituintes químicos, sendo necessário então, avaliar os efeitos fitoterápicos de cada espécie cultivada, de acordo com o ambiente em que a planta se desenvolveu (Kamada et al., 1999).

2.6. Atividade tóxica sobre fungos fitopatogênicos

Atualmente, em todos os lugares do mundo onde se pratica uma agricultura econômica, a intervenção para o controle de doenças de plantas é largamente realizada por meio de pesticidas (Kimati et al., 1997). Sem dúvida, o uso racional desses produtos pode ter, a curto prazo, um efeito positivo para o produtor. No entanto, a longo prazo, além da possibilidade do surgimento de isolados resistentes dos fitopatógenos às substâncias químicas utilizadas, os resultados para a sociedade como um todo e para o meio ambiente podem se tornar negativos devido à poluição causada pelos resíduos (Stangarlin et al., 1999).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários existentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais pode constituir mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (Stangarlin et al., 1999). A possibilidade do uso de produtos de origem natural que têm baixa toxicidade no controle de fitopatógenos se traduz em vantagem por ser um procedimento menos agressivo ao meio ambiente (Silva & Bastos, 2007).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial obtidos a partir de plantas medicinais da flora nativa têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com característica de elicitador(es). O fracionamento dos metabólitos secundários dessas plantas, bem como a determinação da atividade biológica dessas moléculas com respeito à

atividade elicitora ou antimicrobiana, poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como um método alternativo de controle de doença de plantas (Stangarlin et al., 1999).

2.7. Pós-colheita e armazenamento

Para a obtenção da qualidade desejável, a produção de drogas vegetais deve ser controlada nos diferentes níveis de produção, de forma a permitir a coleta em época de maior teor de princípios ativos, manipulação adequada durante e após a coleta, garantindo o seu processamento, embalagem e armazenamento apropriados (Martins et al., 1995).

Os processos pós-colheita de secagem e armazenamento são fundamentais para a qualidade final do produto. As plantas medicinais, em sua grande maioria, são comercializadas na forma dessecada, pois a secagem visa impedir a deterioração do material por meio da redução do teor de água, impedindo a ação de enzimas pela desidratação. O órgão vegetal, como folha, flor, raiz ou casca, quando recém-colhido, possui elevado teor de umidade, o que contribui para que a ação enzimática seja aumentada. Esta ação compreende oxidações, reduções, rearranjos moleculares, hidrólises e remoção ou adição de radicais que implicam alterações dos princípios ativos. A redução do teor de umidade também faz com que a atividade das enzimas seja diminuída, prevenindo a perda de qualidade das plantas quanto mais rapidamente for realizada (Hertwig, 1991; Martins et al., 1995).

Apesar de ser evidente que o período de armazenagem deve ser o menor possível, para reduzir as perdas de princípios ativos, não se têm muitas informações a respeito do período de conservação do material. Por isso, é importante que se conheça bem o comportamento de cada espécie durante a fase de armazenamento (Martins et al., 1995). A maior parte dos trabalhos de conservação pós-colheita focam apenas na qualidade microbiológica do material

armazenado, sem observar também a redução no teor do óleo essencial presente na matéria seca.

Costa et al. (1999b) constataram que a secagem das folhas de guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) sem prévia lavagem resulta em maior contaminação microbiológica, mas que não houve diferença entre os tipos de embalagem avaliados na preservação da matéria-prima, pois a carga fúngica manteve-se dentro dos padrões aceitáveis. Em outro estudo com assa-peixe (*Vernonia polyanthes* L.), Costa et al. (1999a) descobriram que, além da utilização da lavagem precedente à etapa de secagem, também a época de coleta pode influenciar na carga fúngica do material.

Os procedimentos que podem levar a incrementos no rendimento final de óleo essencial, gerando maiores lucros ao produtor de plantas medicinais, muitas vezes não requerem custos adicionais à produção, mas apenas um manejo adequado das práticas culturais durante o cultivo, colheita e processamento, possibilitando, dessa forma, o controle e a redução de desperdícios na produção.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNOL, L.D. A indústria brasileira de fitoterápicos: desafios e perspectivas. In: ROBERTO F.V. et al. **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas**: resultados da 1ª reunião técnica. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2002. p.14.

ASCENÇÃO, L.; PAIS, M.S. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. **Annals of Botany**, Oxford, n. 81, p. 263-271, 1998.

BORELLA, J.C.; FONTOURA, A.; MENEZES, Jr.A.; FRANÇA, S.C. Influência da adubação mineral (N-P-K) e sazonalidade no rendimento e teor de flavonóides em indivíduos masculinos de *Baccharis trimera* Less (Asteraceae) – Carqueja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.4, n.1, p.101-104, 2001.

CASTRO, A.H.F.; YOUNG, M.C.M.; ALVARENGA, A.A.; ALVES, J.D. Influence of photoperiod on the accumulation of allantoin in comfrey plants. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.49-54, 2001.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162p.

CORSI, G.; BOTTEGA, S. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. **Annals of Botany**, Oxford, v. 84, p.657-664, 1999.

COSTA, C.C.; CASALI, V.W.D.; ANDRADE, N.J. Avaliação da droga *Vernonia polyanthes* L. – “Assa-peixe” obtida a partir de dois métodos de secagem e em duas épocas de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.1, n.2, p.7-11, 1999a.

COSTA, C.C.; CASALI, V.W.D.; MACEDO, J.A.B. Qualidade de folhas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) após secagem e embalagem. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.1, n.2, p.1-5, 1999b.

COSTA, L.C.B. **Anatomia foliar de plantas aromáticas com ênfase nas estruturas produtoras de óleo essencial**. 2007. 79 p. Monografia (Especialização) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2.ed. New York: J. Willey, 1977. 550p.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Toronto: Pergamon, 1975. 611p.

GERSBACH, P.V.; WYLLIE, S.G.; SARAFIS, V. A new histochemical method for localization of the site of monoterpene phenol accumulation in plant secretory structures. **Annals of Botany**, Oxford, n.88, p.521-525, 2001.

GONÇALVES, L.A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae).** 2001. 95p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

HARLEY, R. In search of Labiatae in eastern Brazil. **Vitex**, London: Royal Botanical Gardens Kew, v.1, p. 5-7, 2000.

HERTWIG, I.F.V. **Plantas aromáticas e medicinais:** plantio, colheita, secagem, comercialização. 2.ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414p.

KAMADA, T. **Plasticidade fenotípica da morfologia e do óleo essencial em acessos de manjeriço (*Ocimum sp.*).** 1998. 59p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

KAMADA, T.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; FORTES, I.C.P.; FINGER, F.L. Plasticidade fenotípica do óleo essencial em acessos de manjeriço (*Ocimum manjeriço* L). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.1, n.2, p.13-22, 1999.

KIMATI, H.; GIMENEZ FERNANDES, N.; SOAVE, J.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; BETTIOL, W. **Guia de fungicidas agrícolas:** recomendações por cultura. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. v.1, 225p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1986. 319p.

LI, Y.; CREKER, E. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, v.426, p.419-426, 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil:** nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 254p.

MAIA, N.B.; BOVI, O.A.; PERECIN, M.B.; GARNJA, N.P. Crescimento e qualidade do óleo essencial de alfavaca-cravo em hidroponia. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 5., 2001, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2001. p.70.

MARCHESE, J.A.; REHDER, V.L.G. Influência da temperatura na produção de artemisina em *Artemisia annua* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.4, n.1, p.89-93, 2001.

MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais e aromáticas condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v.2, p.97-126.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 220p.

MATTOS, J.K. de A. **Plantas medicinais: aspectos agronômicos**. Brasília: [s.n.], 1996. 51p.

MORAES, L.A.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, n.1, p.183-186, 2002.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon, 1950. 1500 p.

PAEZ, A.A.; GEBRE, G.M.; GONZALEZ, M.E.; TSCHAPLINSKI, T.J. Growth, soluble carbohydrates and aloin concentration of *Aloe vera* plants exposed to three irradiance levels. **Environmental and Experimental Botany**, v.44, p.133-139, 2000.

PATON, A.; HARLEY, R.M.; HARELY, M.M. Ocimum: an overview of classification and relationship. In: HILTUNEN, R.; HOLM, Y. (Ed.). **Basil: the genus Ocimum**. Amesterdan, Netherlands: Harwood Academic, 1999. p.1-38.

SERRATO-VALENTI, G.; BISIO, A.; CORNARA, L.; CIARALLO, G. Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L.: leaves, and chemical analysis of the essential oil. **Annals of Botany**, Oxford, n.79, p.329-336, 1997.

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

SILVA, F.; CASALI, V.W.D.; LIMA, R.R.; ANDRADE, N.J. Qualidade pós-colheita de *Achillea millefolium* L., *Origanum vulgare* L. e *Ptroselinum crispum* (Miller) A.W. Hill em três embalagens. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.2, n.1, p.37-41, 1999.

SIMÕES, C.M. de O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M. de O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. p.387-416.

SINGH, K.; SINGH, V.; RAM, P. Effect of manure and fertilizers on herb, oil and yield of *Mentha arvensis* L. **Indian Journal Agronomy**, v.33, n.3, p.287-289, 1988.

SOBTI, S.N.; KHOSLA, M.K.; PUSHANGADAN, P.; THAPA, R.K. Search for new aroma chemicals from *Ocimum* species. II. Essential oil of american species *O. carnosum* Lk. Et Otto. **Herba Hungarica**, v.20, n.1-2, p.49-56, 1981.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.11, p.16-21, 1999.

SVOBODA, K.P.; SVOBODA, T.G. **Secretory structures of aromatic and medicinal plants: a review and atlas of micrographs**. Knighton, Powys: Microscopix, 2000. 60p.

TEBET, M.S.; DEMATTÊ, M.E.S.P.; BASTOS, J.K.; SARTI, S.J.; CHURATA-MASCA, M.G.C. Crescimento de *Catharanthus roseus* e concentração foliar de alcalóide vincristina sob influência de adubação nitrogenada, quantidade de luz e idade da planta. **Científica**, São Paulo, v.24, n.2, p.407-418, 1996.

VANDERLINDE, F.A.; COSTA, E.A.; D'ANGELO, L.C.A. Atividades farmacológicas gerais e atividade antiespasmódica do extrato etanólico de *Ocimum selloi* Benth. (elixir-paregórico). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, CE: UFCE, 1994a.

VANDERLINDE, F.A.; COSTA, E.A.; D'ANGELO, L.C.A. Atividade antiinflamatória e analgésica do extrato etanólico de *Ocimum selloi* Benth. (elixir-paregórico). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, CE: UFCE, 1994b.

WAGNER, G.J.; WANG, E.; SHEPHERD, R.W. New approaches for studying an old protuberance, the plant trichome.. **Annals of Botany**, Oxford, n.93, p.3-11, 2004.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; DUDA, N.; KATZIR, I. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Annals of Botany**, Oxford, n.71, p.43-50, 1993.

ARTIGO 1

VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Ocimum selloi* BENTH. SOB CONDIÇÕES DE LUZ, TEMPERATURA E TEMPO DE ARMAZENAMENTO

(Preparado de acordo com as normas da Revista Ciência Rural)

**Larissa Corrêa do Bomfim Costa¹, José Eduardo Brasil Pereira Pinto²,
Suzan Kelly Vilela Bertolucci², Renato Mendes Guimarães²**

¹Universidade Estadual de Santa Cruz/Departamento de Ciências Biológicas, 45650-000, Ilhéus, BA – larissacbc@uol.com.br; ²Universidade Federal de Lavras / Departamento de Agricultura, 37200-000, Lavras, MG.

1. RESUMO

O atroveran, ou elixir-paregórico (*Ocimum selloi*), é uma espécie aromática nativa do Brasil, produtora de óleo essencial rico em metil-chavicol. Este trabalho objetivou avaliar a influência da temperatura, da luz e do tempo de armazenamento em diferentes ambientes sobre a germinação e o vigor de sementes de *O. selloi*. Inicialmente testou-se o efeito da presença e da ausência de luz branca, sob fotoperíodo de 12 horas, para determinar o fotoblastismo das sementes em diferentes temperaturas (20°, 25°, 30° e 35°C). Em seguida, testou-se a viabilidade das sementes conservadas sob duas temperaturas (ambiente e câmara fria), aos 0, 2, 4, 6, 8 10 e 12 meses de armazenamento. A espécie foi classificada como fotoblástica neutra, apresentando germinação máxima a 25°C. A viabilidade das sementes foi mantida por doze meses de armazenamento, sendo maior nas sementes mantidas sob refrigeração do que naquelas conservadas à temperatura ambiente.

Palavras-chave: *Ocimum selloi*, germinação, armazenamento, longevidade

2. ABSTRACT

Seeds viability of *Ocimum selloi* Benth. under light, temperature and storage time conditions. “Atroveran or elixir-paregórico” (*Ocimum selloi*) is a brazilian species, rich in methyl chavicol oil. This work aimed to evaluate the influence of light, temperature and storage time in different environments on the

germination and vigor of *O. selloi* seeds. Initially was tested the influence of presence and absence of white light and photoperiod of 12 hours to determine the seeds photoblastism under different temperatures (20, 25, 30 and 35°C). Seeds viability were conserved under two temperatures (room temperature and cold chamber) at 0, 2, 4, 6, 8 10 and 12 months of storage. The species was classified as neutral photoblastic with maximum germination at 25°C. Seeds viability was maintained for twelve months of storage and was higher in the seeds kept under refrigeration.

Key-words: *Ocimum selloi*, germination, storage, longevity

3. INTRODUÇÃO

A família Lamiaceae tem grande importância econômica devido à sua abundância em espécies aromáticas. O gênero *Ocimum*, com várias plantas denominadas popularmente de manjerição ou alfavaca, se destaca pelo aroma e uso medicinal.

Ocimum selloi Benth., conhecida vulgarmente como elixir-paregórico, anis ou alfavaquinha, é um subarbusto perene, aromático, ereto e ramificado, nativo do sul e sudeste do Brasil. É uma planta cultivada nos jardins e hortas domésticas pela sua utilidade condimentar e medicinal. Multiplica-se tanto por sementes quanto por estacas, preferindo, para o seu desenvolvimento, terrenos bem drenados à meia-sombra. Suas folhas e inflorescências frescas são consideradas digestivo-estomacais e hepático-biliares, sendo empregadas para eliminar gases intestinais e conta gastrite, vômitos, tosse, bronquite, gripe, febre e resfriado (Lorenzi & Matos, 2002).

A exploração de plantas medicinais da flora nativa por meio do extrativismo tem levado a reduções drásticas das suas populações naturais, tanto pelo processo predatório quanto pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação dessas espécies. O cultivo das plantas medicinais envolve a possibilidade de domesticação da espécie a ser utilizada, implicando no domínio tecnológico de todas as etapas de desenvolvimento da espécie desde o

conhecimento da forma de propagação, adaptação ao ambiente de cultivo, forma de crescimento, senescência, etc. (Reis & Mariot, 2000).

Considerando a importância de *O. selloi* como fonte potencial de óleo essencial rico em estragol (Martins, 1998), a espécie vem sendo caracterizada com relação aos aspectos morfológicos (Martins, 1998), fitoquímicos (Moraes et al., 2002) e produtivos (Costa et al., 2007b). Quanto às suas formas de propagação, estudos comprovam a viabilidade da produção assexuada por meio de mudas produzidas a partir de estacas (Costa et al., 2007a), mas ainda não há relatos sobre características da propagação sexuada desta espécie, como germinação, vigor e longevidade das sementes. A capacidade de uma semente manter sua qualidade fisiológica durante o armazenamento depende da longevidade inerente à espécie e da sua qualidade inicial, mas as condições de armazenamento podem alterar esse potencial de conservação (Carvalho & Pinho, 1997).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da temperatura, da luz e do tempo de armazenamento, em diferentes ambientes, na germinação e vigor de sementes de *O. selloi*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *O. selloi* foram coletadas em setembro de 2006, de plantas matrizes (depósito Herbário ESAL n° 7474) cultivadas em casa de vegetação do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Inicialmente, determinou-se o grau de umidade pelo método da estufa, a 105°C, por 24 horas e a massa de mil sementes com a utilização de oito subamostras de 100 sementes cada, seguindo-se as recomendações da RAS (Brasil, 1992).

Foram realizados dois experimentos. O experimento I, delineado em esquema fatorial 4X2, avaliou o efeito da temperatura e da condição de luz na germinação e vigor das sementes de *O. selloi* e o experimento II, delineado em esquema fatorial 7X2, avaliou o efeito do tempo de armazenamento e da temperatura de conservação na germinação, emergência e vigor das sementes da mesma espécie.

Para o experimento I, sementes de *O. selloi* foram germinadas em caixas plásticas transparentes “gerbox”, sobre papel do tipo mata-borrão umedecido com 2,5 vezes o seu peso em água e mantidas em germinadores tipo BOD, com temperaturas constantes de 20°, 25°, 30° e 35°C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações e as contagens das sementes germinadas foram feitas aos 2, 4, 6, 8 e 10 dias após a semeadura. Para verificar a germinação na ausência de luz (escuro), as caixas transparentes foram envoltas em papel de alumínio para vedar totalmente a passagem de luz e as contagens foram feitas em câmara escura, sob luz verde, nos mesmos períodos.

Utilizando-se a melhor temperatura para germinação do experimento I, montou-se o experimento II, constando de 7 épocas de armazenamento (0, 2, 4, 6, 8 10 e 12 meses) das sementes, em duas temperaturas, ambiente (25°C±2) e câmara fria (4°C±2). As sementes permaneceram embaladas em frascos de vidro envoltos por papel alumínio durante toda a fase de armazenamento.

O experimento foi instalado em germinador de sala com temperatura constante e iluminação artificial mantida com lâmpadas fluorescentes, em regime de 16 horas claro e 8 horas escuro. As avaliações de germinação, emergência e vigor foram realizadas com quatro repetições de 50 sementes cada uma, diariamente, por 10 dias, em cada época de armazenamento.

Para o teste de emergência, as sementes foram distribuídas em caixas plásticas transparentes “gerbox”, sobre substrato formado por areia e solo, na

proporção de 2:1 e umedecidas com um volume de 70% da sua capacidade de campo.

O critério de germinação foi a protrusão de radícula, enquanto que na areia foi a emergência visível da plântula. O IVG e o índice de velocidade de emergência (IVE) foram calculados conforme a metodologia recomendada por Maguire (1962).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para os dois experimentos e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *O. selloi* são pequenas e leves e após determinação do peso de mil sementes, obteve-se o valor de 1,34 g a 7,3% de umidade, característico de sementes ortodoxas.

As sementes umedecidas formaram uma camada mucilaginosa ao seu redor (Figura 1), confirmando descrição anterior para a espécie (Sobti et al., 1981). As mucilagens localizam-se nas mesmas espécies ou grupos de espécies de forma constante. Nas plantas, encontram-se geralmente nos tecidos parenquimatosos, em células isoladas ou em pequenos grupos, nas raízes, caules, folhas, etc (Costa, 1972) e também nas membranas exteriores dos tegumentos das sementes de algumas plantas (Strasburguer et al., 1984). Na planta, a mucilagem exerce várias funções, destacando-se a alimentar, de reservatório de água, e ainda a função de proteção contra certos microrganismos, quando se localiza externamente (Costa, 1978). A função desta mucilagem em *O. selloi* possivelmente é de absorver água para manutenção da umidade em torno da semente e favorecer a germinação. Além disso, parece também estar envolvida na dispersão das sementes, uma vez que possui capacidade de aderência.

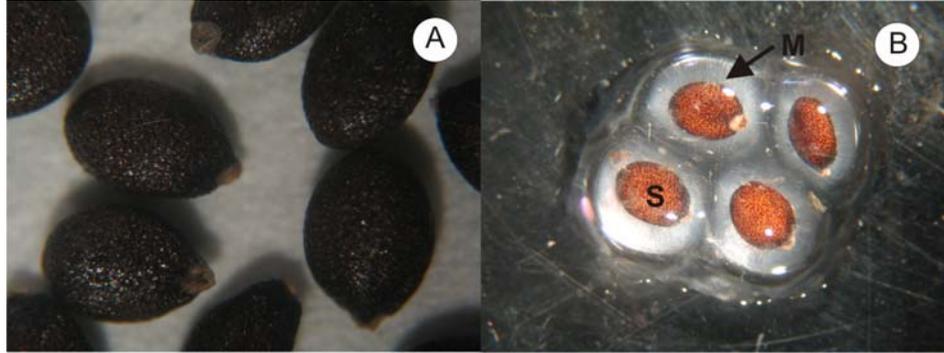


FIGURA 1. A) Sementes secas e B) umedecidas evidenciando camada de mucilagem (M) que envolve a semente (S).

5.1. Efeito da luz e temperatura

Houve respostas diferenciadas e interação entre os fatores quanto à porcentagem de germinação das sementes em diferentes temperaturas.

De acordo com os resultados da Tabela 1, as porcentagens de germinação tanto na presença quanto na ausência de luz, nas temperaturas de 20°, 25° e 30°C foram elevadas e não diferiram entre si, mas foram significativamente superiores aos valores obtidos a 35°C. Esta indiferença quanto à exigência de luz sugere que as sementes de *O. selloi* são fotoblásticas neutras. A mesma resposta ao estímulo luminoso pôde ser observada em sementes de espécies silvestres como *Tabebuia aurea* (Cabral et al., 2003) e *Hyptis marrubioides* (Sales, 2006).

A capacidade de germinação dentro de uma ampla faixa de temperatura (20°-30°C) também encontrada para *Tabebuia aurea* pode representar um caráter adaptativo que aumenta a capacidade de estabelecimento da espécie e as suas chances de sobrevivência no ambiente natural (Cabral et al., 2003).

TABELA 1. Efeito da temperatura e luz sobre a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Ocimum selloi*.

Temperatura (°C)	Germinação (%)		IVG	
	Com luz	Sem luz	Com luz	Sem luz
20	96 aA	98 aA	7,15 aB	7,22 aA
25	99 aA	94 aA	10,45 aA	8,07 bA
30	98 aA	94 aA	8,32 aB	7,92 aA
35	38 aB	00 bB	2,27 aC	0,00 bB
CV(%)		5,83		11,04

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na temperatura de 35°C a germinabilidade foi muito reduzida na presença de luz e completamente nula na ausência de luz provavelmente devido à uma dormência secundária induzida por esse estresse (Tabela 1).

A determinação do vigor das sementes medida pelo índice de velocidade de germinação, também apresentou comportamentos distintos em função dos níveis de luz e temperatura. Pela Tabela 1, o maior valor foi obtido a 25°C na presença de luz, condição esta adotada na execução do experimento seguinte.

5.2. Efeito do tempo de armazenamento e temperatura de conservação

No segundo experimento, não houve interação significativa entre o tempo de armazenamento e a temperatura de conservação sobre a germinação das sementes, tendo ocorrido efeito apenas dos fatores isoladamente. A porcentagem de germinação de *O. selloi* manteve-se elevada durante todo o período de armazenamento, sendo significativamente maior para as sementes

mantidas sob refrigeração (99%) do que para aquelas armazenadas à temperatura ambiente (96%). Geralmente, a longevidade das sementes é aumentada quando são conservadas com baixo teor de umidade e baixa temperatura (Popinigis, 1977).

A germinação das sementes armazenadas nos dois ambientes foi rápida, ocorrendo protrusão da radícula no terceiro dia após a semeadura, com o máximo de germinação entre o terceiro e o quinto dia, terminando aos sete dias nas sementes mantidas em temperatura ambiente e aos seis dias para aquelas armazenadas sob refrigeração (Figura 2). Sementes armazenadas por 12 meses sob refrigeração germinaram mais rapidamente do que as outras que ficaram menos tempo armazenadas nesta mesma condição. O maior tempo de armazenamento associado à baixa temperatura parece influenciar a quebra de uma dormência secundária nestas sementes.

O índice de velocidade de germinação das sementes apresentou um comportamento oscilatório com pequenas variações ao longo do tempo, mas, a partir do quinto mês, o vigor das sementes mantidas sob refrigeração superou o das armazenadas em temperatura ambiente (Figura 3). Nos dois tratamentos, a viabilidade foi mantida durante todo o período experimental, indicando que estas condições são suficientes para a conservação das sementes, pelo menos por doze meses. Da mesma forma, sementes de erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.) armazenadas a baixas temperaturas (câmara fria e congelador) mantiveram a sua viabilidade durante todo o período experimental (730 dias de armazenamento), quando comparadas às sementes que permaneceram no solo ou em armazém convencional (Guimarães et al., 2004). A preservação do potencial de germinação das sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) também foi mantida por 12 meses quando foram armazenadas em câmara fria, independente da embalagem utilizada (Teófilo et al., 2004).

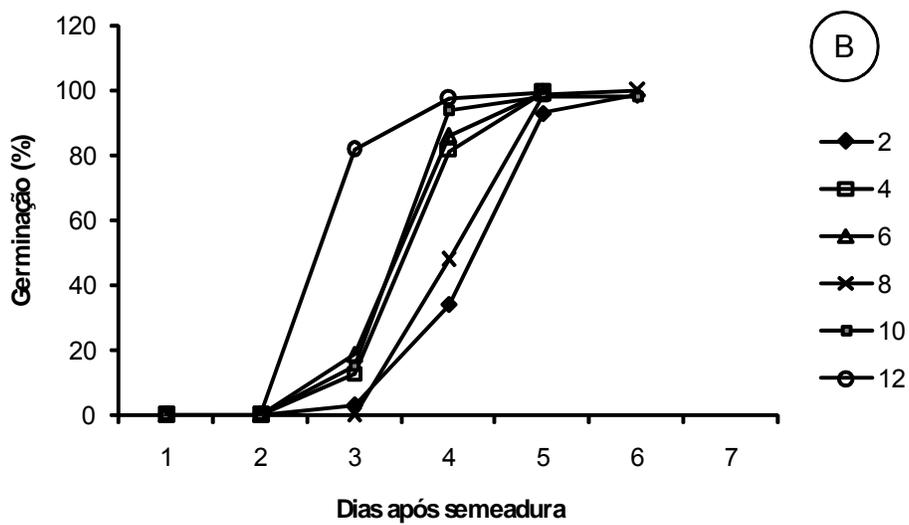
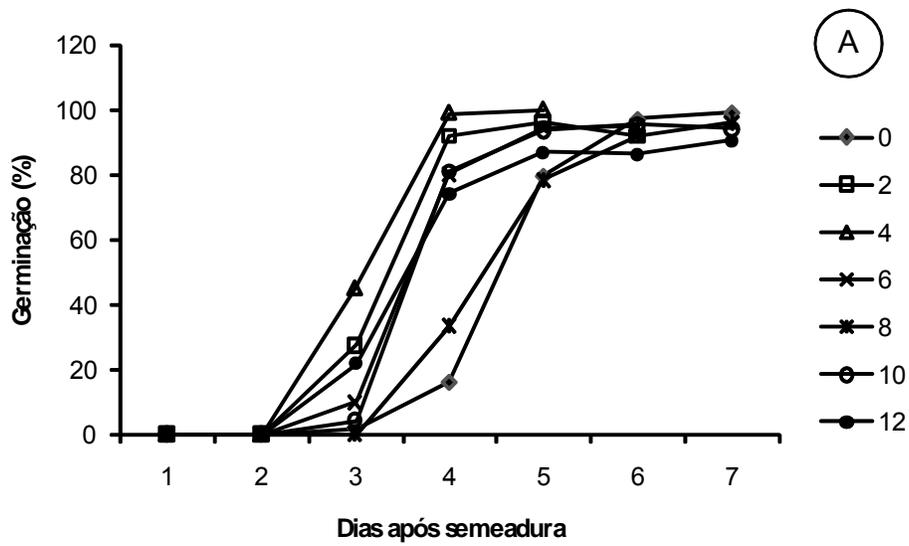


FIGURA 2. Germinação de sementes de *Ocimum selloi* em diferentes períodos de armazenamento sob temperatura ambiente (A) e refrigeração (B).

Quanto à emergência da parte aérea, o tratamento controle (sem armazenamento) foi o que demorou mais para iniciar e se prolongou por mais tempo. Nas duas condições de armazenamento, a emergência iniciou no quinto dia, sendo antecipada para o quarto dia a partir do décimo mês de armazenamento. O máximo de emergência foi observado entre o quinto e o sexto dia, encerrando aos sete dias (Figura 4).

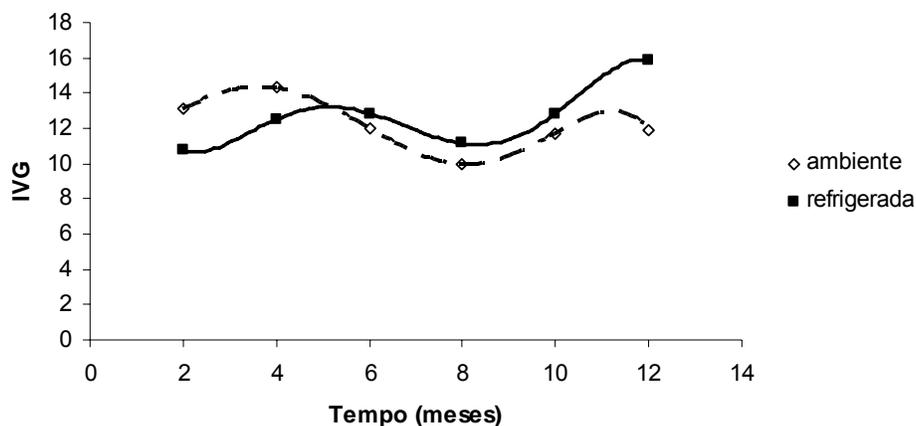


FIGURA 3. Efeito do tempo de armazenamento e da temperatura de conservação no índice de velocidade de germinação (IVG) de *Ocimum selloi*.

A porcentagem e o índice de velocidade de emergência apresentaram pequenas flutuações ao longo do período de armazenamento, com tendência de decréscimo mais acentuado nas sementes conservadas em temperatura ambiente a partir do sexto mês (Figura 5). No armazenamento, temperaturas maiores provocam aceleração da atividade respiratória das sementes, reduzindo a sua longevidade (Carvalho & Von Pinho, 1997; Popinigis, 1977).

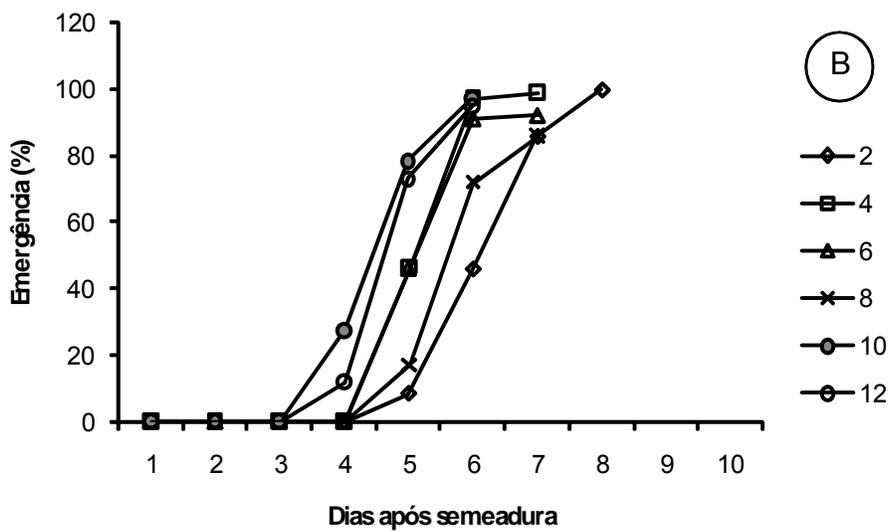
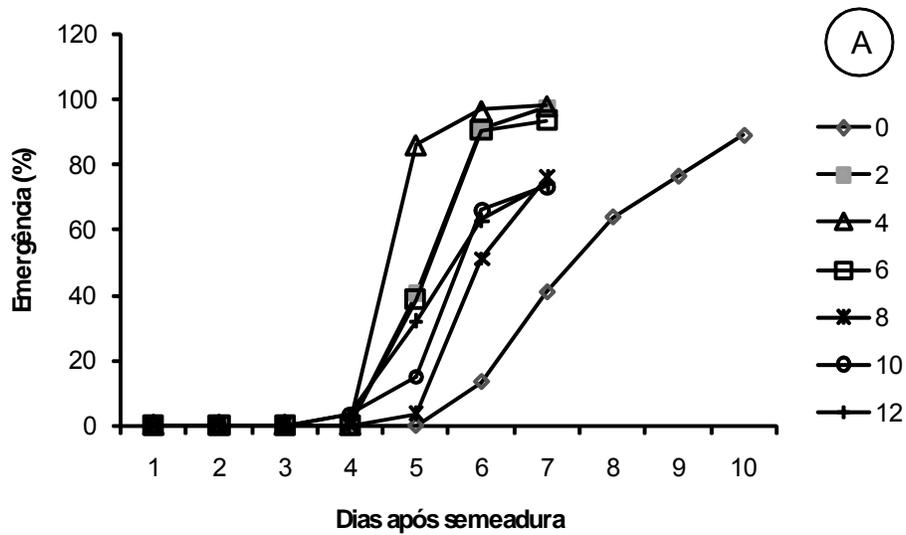


FIGURA 4. Emergência de sementes de *Ocimum selloi* em diferentes períodos de armazenamento sob temperatura ambiente (A) e refrigeração (B).

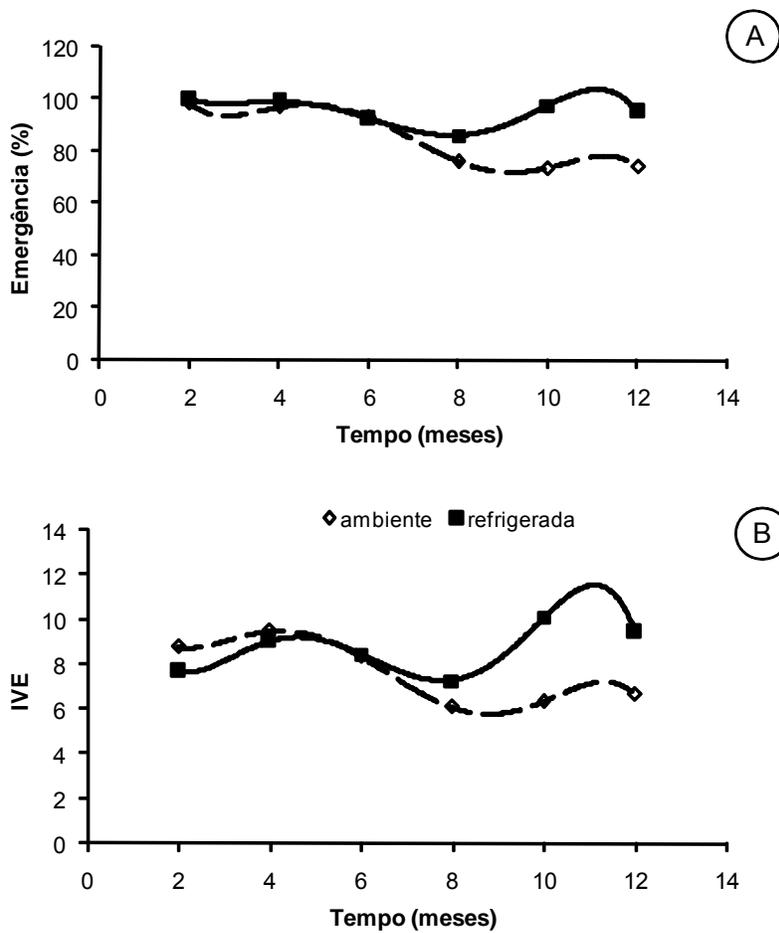


FIGURA 5. Efeito do tempo de armazenamento e da temperatura de conservação na emergência (A) e no índice de velocidade de emergência (IVE) (B) de *Ocimum selloi*.

6. CONCLUSÕES

As sementes de *O. selloi* são pequenas e indiferentes com relação à presença ou ausência de luz para germinar, apresentando germinação e vigor máximos a 25°C. A germinação e o vigor das sementes são maiores nas sementes armazenadas sob refrigeração do que nas sementes conservadas à temperatura ambiente, considerando o tempo de avaliação no presente estudo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. F. ex. S. Moore. **Acta botânica brasílica**, v. 17, n. 4, p. 609-617, 2003.

CARVALHO, M.L.M.; VON PINHO, E.V.R. **Armazenamento de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 67p.

COSTA, A.F. **Farmacognosia: farmacognosia experimental**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. v.2, 1032p.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1978. v.3, 1117p.

COSTA, L.C.B.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. Comprimento da estaca e tipo de substrato na propagação vegetativa de atoveran. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1157-1160, 2007a.

COSTA, L.C.B.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; CARDOSO, M.G. Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, p.175-179, 2007b.

GUIMARÃES, S.C.; SOUZA, I.F.; PINHO, E.V.R.V. Viabilidade de sementes de erva-de-touro sob diferentes condições de armazenamento. **Planta Daninha**, Viçosa, v.22, n.2, p.231-238, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 254p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais e aromáticas condimentares: avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v.2, p.97-126.

MORAES, L.A.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, n.1, p.183-186, 2002.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.

REIS, M.S.; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M. de O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. p.39-60.

SALES, J.F. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 80p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOBTI, S.N.; KHOSLA, M.K.; PUSHANGADAN, P.; THAPA, R.K. Search for new aroma chemicals from *Ocimum* species. II. Essential oil of american species *O. carnosum* Lk. Et Otto. **Herba Hungarica**, v.20, n.1-2, p.49-56, 1981.

STRASBURGUER, E. **Tratado de botânica**. 6.ed. Barcelona: Marin, 1984. 798p.

TEÓFILO, E.M.; SILVA, S.O.; BEZERRA, A.M.E.; MEDEIROS FILHO, S.; SILVA, F.D.B. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Alemão) em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.35, n.2, p.371-376, 2004.

ARTIGO 2

COMPRIMENTO DA ESTACA E TIPO DE SUBSTRATO NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *O. selloi* BENTH.

(Publicado Revista **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1157-1160, 2007)

**Larissa Corrêa do Bomfim Costa¹ José Eduardo Brasil Pereira Pinto²
Suzan Kelly Vilela Bertolucci²**

¹Universidade Estadual de Santa Cruz/Departamento de Ciências Biológicas, 45650-000, Ilhéus, BA – larissacbc@uol.com.br; ²Universidade Federal de Lavras / Departamento de Agricultura, 37200-000, Lavras, MG.

- NOTA -

1. RESUMO

A propagação vegetativa de espécies medicinais vem despertando o interesse dos pesquisadores, uma vez que se constitui no ponto de partida e ferramenta básica para qualquer cultivo em escala comercial. Este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar o comprimento de estaca e o tipo de substrato mais adequado para a propagação vegetativa de atoveran. Em condições de casa de vegetação sob nebulização intermitente, foram testados dois comprimentos de estacas (10 e 20 cm) e três substratos (areia lavada, casca de arroz carbonizada e substrato comercial Plantmax®) em delineamento experimental em blocos casualizados, quatro repetições e cinco estacas por parcela. Aos 35 dias, foram avaliados a porcentagem de enraizamento, o comprimento da maior raiz (cm) e a biomassa seca das folhas e das raízes (mg). Os resultados indicaram que a propagação vegetativa de atoveran por meio de estaquia é viável, uma vez que o seu enraizamento médio ficou acima de 70%. As mudas de atoveran obtidas de estacas com 20 cm apresentaram maior biomassa seca das folhas e das raízes, apesar do comprimento da estaca não ter afetado a porcentagem de enraizamento e o comprimento da raiz. Os tipos de substrato não proporcionaram efeito sobre o desenvolvimento das estacas de atoveran. Recomenda-se a produção de mudas de atoveran com estacas de 20 cm de comprimento, utilizando qualquer um dos três substratos testados.

Palavras-chave: *Ocimum selloi* (Benth.), planta medicinal, estaquia.

2. ABSTRACT

Shoot cutting length and substrate types on vegetative propagation of atroveran. The vegetative propagation of medicinal species is in increasing agronomic interest because it is the starting point and a basic tool for any cultivation in commercial scale. The objective of this work was to determine the best shoot cutting length and the best substrate for vegetative propagation of *Ocimum selloi*. Cuttings were placed in greenhouse conditions under intermittent mist. Two cutting sizes (10 and 20 cm) and three substrate types (washed sand, carbonized rice hulls and commercial substrate Plantmax®) were tested. The experiment was in blocks randomly distributed in four replications and five cuttings for parcel. After thirty five days were analysed the percentage of rooting, the length of the bigger root (cm) and the leaf and root dry weight (mg). The results indicated that the vegetative propagation of *Ocimum selloi* by cuttings is viable, once its mean rooting was over 70%. It was not observed significative interaction within the adopted treatments. The cuttings with 20 cm length presented larger leaf and root dry weight but the percentage of rooting and the length of the bigger root was not affected by the cutting lenght. The substrate types did not present effect on the development of the cuttings. The production of *Ocimum selloi* seedlings is recommended with 20 cm length cuttings using any substrate tested.

Key words: *Ocimum selloi* Benth., medicinal plant, cutting.

3. INTRODUÇÃO

Ocimum selloi Benth. é um subarbusto perene, pertencente à família Lamiaceae, nativo das regiões sul e sudeste do Brasil, que pode ser multiplicado por sementes ou estacas. A espécie é conhecida popularmente como elixir-paregórico nos estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro, como alfavaquinha em Minas Gerais e como atroveran em São Paulo. Possui largo uso popular como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório, além de já ter a sua atividade comprovada como repelente de insetos. Apesar de ser uma fonte

potencial de estragol e metileugenol, ainda não foi explorada comercialmente, sendo encontrada apenas na forma silvestre ou cultivada em quintais domésticos.

Trabalhos de domesticação de plantas medicinais são escassos ou inexistentes para a maioria das espécies, sendo necessário o desenvolvimento de estudos relacionados à adaptação delas às condições de cultivo, principalmente em virtude do aumento da demanda por parte das indústrias farmacêutica e cosmética. Mesmo que a planta possa ser propagada sexualmente, a propagação vegetativa tem inúmeras vantagens, como tratar-se de uma técnica simples, rápida e barata, produzir muitas mudas em espaço reduzido com maior uniformidade do estande e manter as características genéticas da planta doadora (Hartmann & Kester, 1981).

Considerando que o objetivo principal na produção de plantas medicinais é a obtenção de matéria-prima em quantidade e qualidade desejadas, deve-se tentar diminuir a interferência dos fatores ambientais, técnicos e a variabilidade química natural das espécies. Estudos de caracterização química do óleo essencial de *O. selloi* registraram variações nos teores e na composição dos seus constituintes majoritários que podem se apresentar como metil chavicol, metil eugenol (Martins et al., 1997) e trans-anetol com metil chavicol (Moraes et al., 2002), comprovando a existência de diferentes quimiotipos nesta espécie. A propagação vegetativa é uma importante ferramenta no melhoramento de espécies lenhosas e herbáceas e vem sendo amplamente utilizada, visando melhorar e manter variedades de importância econômica e medicinal (Ehlert et al., 2004). Salienta-se que, após a seleção da cultivar de maior interesse, a propagação vegetativa permite estabelecer plantios uniformes, mantendo o valor agronômico da cultivar.

O interesse da pesquisa na propagação vegetativa de plantas medicinais é bastante recente e tem se concentrado na verificação dos melhores tipos e comprimentos de estaca, no efeito do uso de reguladores de crescimento e nos

substratos mais adequados para o enraizamento. Neste sentido, algumas das principais espécies já estudadas foram: *Solidago chilensis* (Correia, 1998), *Cissus sicyoides* (Abreu et al., 2003), *Lippia alba* (Biasi & Costa, 2003), *Ocimum gratissimum* (Ehlert et al., 2004) e *Baccharis articulata*, *Baccharis trimera* e *Baccharis stenocephala* (Bona et al., 2005a, b).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o comprimento de estaca e o tipo de substrato mais adequados para a propagação vegetativa de atroveran.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Em outubro de 2005 foram coletadas estacas herbáceas, sem folhas, de dois comprimentos (10 e 20 cm) da porção apical de plantas matrizes com um ano de idade, cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Estas foram plantadas em bandejas de poliestireno expandido com 72 células, em três tipos de substratos (areia lavada, casca de arroz carbonizada e substrato comercial Plantmax[®]) e mantidas em casa de vegetação sob nebulização intermitente (Figura 1).

Após 35 dias de cultivo, as estacas foram colhidas e levadas ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais (DAG/UFLA) para a separação das folhas e do sistema radicular. Esse material foi embalado individualmente, em sacos de papel “Kraft” e secos em estufa com circulação de ar forçada a 70°C, até massa constante. As variáveis analisadas foram: enraizamento (número de estacas que formaram pelo menos uma raiz visível expresso em porcentagem), comprimento da maior raiz (cm), biomassa seca (mg) das folhas e das raízes.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, em esquema fatorial (2X3), com quatro repetições, com cinco estacas por parcela, totalizando 20 estacas por tratamento.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando comparação de médias por meio do teste F, a 5% de probabilidade, para o comprimento de estaca e do teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para os substratos.



FIGURA 1. Enraizamento de estacas de *O. selloi*, com 10 e 20 cm de comprimento (A) nos substratos areia lavada, Plantmax[®] e casca de arroz carbonizada (de baixo para cima) (B).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada interação significativa entre os tratamentos, mas, de forma geral, verificou-se que as estacas de atroveran enraizaram com facilidade (Tabela 1).

Apesar de o comprimento da estaca não ter afetado a porcentagem de enraizamento e o comprimento da raiz, as mudas obtidas de estacas com 20 cm produziram maior biomassa seca de folhas e raízes (Tabela 1). Mudanças mais vigorosas poderiam representar melhores chances de estabelecimento da planta no campo, apesar da resposta do comprimento da estaca no enraizamento e no desenvolvimento da muda poder ser muito variável de acordo com a espécie. Em *Cissus sicyoides*, estacas com 10 e 20 cm de comprimento não apresentaram diferenças em relação ao número e ao comprimento das raízes (Abreu et al., 2003) e a variação no comprimento das estacas de *Pfaffia glomerata* também não afetou a porcentagem de enraizamento e a produção de massa seca de folhas e raízes (Nicoloso et al., 2001). Por outro lado, na estaquia lenhosa de *Lippia alba* (Biasi & Costa, 2003) e de *Vernonia condensata* (Almeida Filho et al., 2000), o aumento do comprimento da estaca proporcionou um aumento linear em todas as variáveis analisadas, resposta atribuída, provavelmente, à maior quantidade de reservas presentes nas estacas maiores.

Os tipos de substrato testados não proporcionaram efeito sobre o desenvolvimento das estacas de *O. selloi* (Tabela 1), ao contrário dos resultados obtidos por Burgos et al. (2004) com esta mesma espécie, cujo enraizamento e brotação inicial das estacas foram favorecidos pelo uso de substrato inerte (perlita-vermiculita) em contraposição ao uso de terra. Para Hartman & Kester (1981), o meio de enraizamento ideal deve proporcionar porosidade suficiente para permitir uma boa aeração, ter alta capacidade para retenção de água e, não obstante, uma boa drenagem. Deve-se acrescentar que o substrato pode ser um

fator determinante para o sucesso no enraizamento de estacas em muitas espécies (Couvillon, 1988), embora para outras não tenha qualquer efeito. No caso de *Solidago chilensis*, os tipos de substrato não influenciaram a biomassa seca foliar, mas afetaram significativamente a biomassa seca das raízes (Correia, 1998). Estacas de *Baccharis articulata* e *Baccharis stenocephala* também tiveram o seu enraizamento influenciado pelo tipo de substrato (Bona et al., 2005a).

TABELA 1. Efeito do comprimento da estaca e do tipo de substrato nas médias de enraizamento, comprimento da maior raiz, biomassa seca das folhas (BSF) e biomassa seca das raízes (BSR) por estaca de *O. selloi*.

Comprimento da estaca (cm) ¹	Enraizamento (%)	Comprimento raiz (cm)	BSF (mg)	BSR (mg)
10	70,0 a	7,24 a	42,9 b	11,5 b
20	75,0 a	6,78 a	91,6 a	19,7 a
DMS	14,76	1,18	27,78	6,74
Substrato ²				
Areia	67,5 a	6,42 a	60,0 a	13,4 a
Plantmax [®]	70,0 a	6,77 a	74,6 a	13,1 a
Casca arroz	80,0 a	7,83 a	67,0 a	20,3 a
DMS	22,04	1,76	41,47	10,07
CV(%)	23,40	19,28	47,47	49,60

¹ Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

² Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Por outro lado, pesquisas recentes com propagação vegetativa de outras espécies medicinais, como *Ocimum gratissimum* (Ehlert et al., 2004), *Lippia alba* (Biasi & Costa, 2003), *Baccharis trimera* (Bona et al., 2005a) e *Ageratum conyzoides* (Momenté et al., 2002), não revelaram diferenças significativas no enraizamento com os substratos testados. Isso demonstra maior capacidade de adaptação às diferentes condições físicas e químicas dos substratos (Bona et al., 2005a) e permite a escolha do substrato mais acessível para a propagação vegetativa dessas espécies.

6. CONCLUSÕES

A propagação vegetativa de *O. selloi* por meio de estaquia é promissora, uma vez que a porcentagem média de enraizamento das estacas com 10 e 20 cm de comprimento está acima de 70%. Recomenda-se a produção de mudas de *O. selloi* com estacas de 20 cm de comprimento, utilizando-se qualquer um dos três substratos testados, considerando o custo e a facilidade de acesso.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, I.N.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; MORAIS, A.R.; GEROMEL, C.; LADEIRA, A.; LAMEIRA, O.A. Propagação *in vivo* e *in vitro* de *Cissus sicyoides*, uma planta medicinal. **Acta Amazônica**, Manaus, v.33, n.1, p.1-7, 2003.

ALMEIDA FILHO, L.A.; COSTA, L.C.B.; MOREIRA, R.C.T. Comprimento de estaca de aluman para propagação vegetativa. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICA E CONDIMENTARES, 1., 2000, São Pedro, SP. Trabalhos apresentados e palestras. **Horticultura Brasileira**. Brasília, SOB/FCAV-UNESP, 2000. v.18, p.986-987. Suplemento.

- BIASI, L.A.; COSTA, G. Propagação vegetativa de *Lippia alba*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.3, p.455-459, 2003.
- BONA, C.M.; BIASI, L.A.; ZANETTE, F; NAKASHIMA, T. Estaquia de três espécies de *Baccharis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.1, p.223-226, 2005a.
- BONA, C.M.; BIASI, L.A.; ZANETTE, F; NAKASHIMA, T. Propagação por estaquia de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., *Baccharis trimera* (Less.) A.P. de Candolle e *Baccharis stenocephala* Baker com uso de auxinas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.7, n.2, p.26-31, 2005b.
- BURGOS, A.M.L.; LOPEZ, A. E.; CENÓZ, P. J. **Propagación del anís de campo *Ocimum selloi* (Lamiaceae) por medio de esquejes**. (Comunicaciones Científicas y Tecnológicas). Corrientes: Universidad Nacional del Nordeste, 2004. Disponível em: <<http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-031.pdf>>. Acesso em: 28 jun. 2006.
- CORREIA, E. Aspectos da propagação sexuada e vegetativa da arnica brasileira (*Solidago chilensis* Meyen – ASTERACEAE). In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu, UNESP, 1998. v.2, p.193-208.
- COUVILLON, G.A. Rooting response to different treatments. **Acta Horticulturæ**, Leuven, v.277, p.187-196, 1988.
- EHLERT, P.A.D.; LUZ, J.M.Q.; INNECCO, R. Propagação vegetativa da alfavaca-cravo utilizando diferentes tipos de estacas e substratos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.10-13, 2004.
- HARTMANN, H.T; KESTER, D.E. **Propagación de plantas: principios e prácticas**. México: CECSA, 1981. p.237-346.
- MARTINS, E. R.; CASALI, V. W. D.; BARBOSA, L. C. A. ; CARAZZA, F. Essential oil in the taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. **Journal Braz. Chem. Soc.**, Campinas, v.8, n.1, p.29-32, 1997.
- MORAES, L.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, p.183-186, 2002.

MOMENTÉ, V.G.; BEZERRA, A.M.E.; INNECO, R.; MEDEIROS FILHO, S.
Propagação vegetativa por estaquia de mentrasto em diferentes substratos.
Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v.33, n.2, p.5-12, 2002.

NICOLOSO, F.T.; CASSOL, L.F.; FORTUNATO, R.P. Comprimento da estaca de ramo no enraizamento de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.57-60, 2001.

ARTIGO 3

PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ÓLEO ESSENCIAL DE ELIXIR-PAREGÓRICO EM FUNÇÃO DO CORTE DAS INFLORESCÊNCIAS E ÉPOCAS DE COLHEITA

(Publicado Revista **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 175-179, 2007).

Larissa C B Costa¹; José Eduardo B P Pinto²; Suzan K V Bertolucci²; Maria G Cardoso³

¹Universidade Estadual de Santa Cruz - Dep^{to}. de Ciências Biológicas, 45662-000, Ilhéus, BA, larissacbc@uol.com.br; ²Universidade Federal de Lavras - Dep^{to}. de Agricultura, C. Postal 3037, 37200-000, Lavras, MG; ³Universidade Federal de Lavras - Dep^{to}. de Química C. Postal 3037, 37200-000.

1. RESUMO

O objetivo da realização deste trabalho foi avaliar a produção de biomassa e de óleo essencial de plantas de elixir-paregórico (*Ocimum selloi*), em função do corte das inflorescências e épocas de colheita. O experimento foi realizado em campo, em blocos ao acaso, com os tratamentos dispostos em um fatorial 2 x 8, sendo dois sistemas de manejo (com e sem corte de inflorescências) e oito épocas de colheita (45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 e 150 dias após o transplante das mudas), com quatro repetições. Avaliaram-se as características altura de planta, massa seca de caule (MSC), folhas (MSF) e inflorescências (MSI) e teor e rendimento de óleo essencial destilado de folhas. O corte das inflorescências não afetou a altura das plantas. Plantas intactas apresentaram uma média de altura de 51,8 cm, enquanto aquelas que tiveram suas inflorescências cortadas atingiram, em média, 53,2 cm de altura. O crescimento das plantas apresentou resposta quadrática em relação às épocas de colheita, com a altura máxima estimada de 65,9 cm, 139 dias após o transplante (DAT). As plantas cujas inflorescências foram cortadas produziram maior MSC (51,8 g planta⁻¹) e MSF (27,9 g planta⁻¹), em relação às plantas sem corte (MSC = 42,4; MSF = 21,3 g planta⁻¹) e, assim como MSI, apresentaram ajuste quadrático para os dois sistemas de manejo, ao longo das épocas de colheita. O teor de óleo essencial

das folhas não foi afetado pelo sistema de manejo, mas apresentou resposta quadrática às épocas de colheita. A média de rendimento de óleo essencial das folhas das plantas cuja inflorescência foi cortada foi significativamente maior ($1,60 \text{ g planta}^{-1}$) do que nas plantas que não sofreram o corte ($1,18 \text{ g planta}^{-1}$). Para as plantas que tiveram as suas inflorescências cortadas, o rendimento de óleo máximo estimado foi de $2,36 \text{ g planta}^{-1}$, obtido 135 DAT, enquanto, nas plantas que não foram cortadas, o rendimento de óleo máximo estimado foi de $1,65 \text{ g planta}^{-1}$, obtido aos 114 DAP.

Palavras-chave: *Ocimum selloi*, planta medicinal e aromática, época de colheita, sistema de manejo.

2. ABSTRACT

Biomass and essential oil production of *Ocimum selloi* as affected by cutting of inflorescences and harvest times. The purpose of the present paper was to evaluate the biomass and essential oil production of *Ocimum selloi*, as affected by the cutting of inflorescences and harvest times. The experiment was conducted in the field, in randomized blocks, with treatments distributed in a 2 x 8 factorial scheme, assessing two management system (inflorescence cutting or not) and eight harvest times (45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, and 150 days after seedling transplant), with four replications. Plant height and dry weight of stems (MSC), leaves (MSF), and inflorescences (MSI), as well as essential oil content and yield were evaluated. Cutting of the *O. selloi* inflorescences did not interfere in plant height. Intact plants were 51,8 cm mean height, while those with cutted inflorescences reached 53,2 cm mean height. The plants growth presented a quadratic answer in relation to harvest times, with the higher point esteemed at 65,9 cm, 139 days after the transplant (DAT). The plants with cutted inflorescences produced larger MSC ($51,8 \text{ g planta}^{-1}$) and MSF ($27,9 \text{ g planta}^{-1}$), in relation to the intact plants (MSC = $42,4 \text{ g planta}^{-1}$; MSF = $21,3 \text{ g planta}^{-1}$) and, as well as MSI, they presented quadratic adjustment for the two management systems, along the harvest times. The essential oil content of dry leaves was not affected by management systems, but it presented a quadratic answer to the harvest times. The mean essential oil yield of plants with cutted inflorescences was significantly higher ($1,60 \text{ g planta}^{-1}$) in relation to the intact plants ($1,18 \text{ g planta}^{-1}$). The maximum essential oil yield esteemed for the plants with cutted inflorescences, was $2,36 \text{ g planta}^{-1}$, obtained 135 DAT, while in the intact plants was $1,65 \text{ g planta}^{-1}$, obtained 114 DAP.

Keywords: *Ocimum selloi*, medicinal and aromatic plant, harvest time, management system.

3. INTRODUÇÃO

O gênero *Ocimum* contém cerca de 30 espécies nativas dos trópicos e subtropicais, alguns dos quais também vivem em regiões temperadas (Vieira & Simon, 2000). *Ocimum selloi* Benth. é um subarbusto perene, pertencente à família Lamiaceae, nativo das regiões sul e sudeste do Brasil (Lorenzi & Matos, 2002). A espécie é conhecida popularmente como elixir-paregórico nos estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro, como alfavaquinha ou anis em Minas Gerais e como atroveran em São Paulo. Tem largo uso popular como anti-diarréico, anti-espasmódico e anti-inflamatório (Lorenzi & Matos, 2002), além de ter comprovada atividade como repelente de insetos (Paula et al., 2003). Estudos da composição química do óleo essencial vêm apresentando variações dos constituintes majoritários: metil chavicol, metil eugenol (Martins, 1998) e trans-anetol com metil chavicol (Moraes et al., 2002), o que comprova a existência de diferentes quimiotipos nesta espécie.

Pesquisas agrônomicas direcionadas ao estabelecimento de técnicas de cultivo de plantas medicinais, além de incrementarem o seu potencial produtivo, tornam-se um instrumento indireto, mas muito importante para a preservação das espécies nativas do Brasil. O interesse na domesticação de plantas do gênero *Ocimum* é bastante recente e tem sido direcionado, principalmente, às pesquisas com germinação de sementes (Moraes et al., 2003a, Fonseca et al., 2003), produção de mudas (Santos Neto et al., 2001, Moraes et al., 2003b), adubação química (Rodrigues et al., 2003) e orgânica das plantas (Chaves et al., 2001), competição de cultivares (Camêlo et al., 2005) e definição de horário de colheita, temperatura e tempo de secagem (Carvalho Filho et al., 2006).

Para a obtenção de drogas vegetais de qualidade desejável, a produção de plantas medicinais deve ser controlada desde o seu plantio até a colheita (Martins et al., 1995). Na obtenção da matéria-prima, as técnicas de cultivo da

espécie selecionada devem atender ao objetivo de aumentar a produção de biomassa por área, sem comprometer o valor terapêutico da planta (Castro et al., 2004). Neste aspecto, um fator crítico é a definição da época ideal de colheita, que deve proporcionar a coincidência entre os momentos de maior concentração dos princípios ativos e de maior biomassa vegetal (Mattos, 1996). Para estabelecer o manejo adequado de uma planta como *O. selloi*, torna-se necessário conhecer a sua fenologia (Shiroma et al., 2003), bem como estudar o desenvolvimento de práticas culturais que possam incrementar a produção de óleo. Em *O. basilicum*, o corte das inflorescências pode estimular o crescimento e as ramificações laterais da planta (Simon, 2006), além de aumentar a concentração de óleo essencial nas folhas remanescentes (Hertwig, 1991).

De acordo com Mattos (1996), a poda da florada de algumas espécies, como *O. basilicum* L. e *O. majorana* L., é uma prática frequente em espécies aromáticas com a finalidade de exaltar a folhagem, incrementar o aroma das folhas e aumentar o número de colheitas. Porém, não se tem conhecimento do efeito desta prática sobre *O. selloi*. Além disso, não há pesquisas que apontem o intervalo mais apropriado de colheita das folhas e indiquem o impacto da poda da florada sobre o rendimento de óleo essencial.

Esse trabalho objetivou avaliar a produção de biomassa e de óleo essencial de plantas de *O. selloi* em função do corte das inflorescências e épocas de colheita.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de dezembro de 2004 a maio de 2005. O solo predominante na área foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, com topografia ondulada,

textura argilosa e boa drenagem. Coletaram-se amostras de solo que foram analisadas no Laboratório de Análises de Solo da UFLA, onde obtiveram-se os seguintes resultados: pH em água = 6,2; P e K (mg dm⁻³) = 43,4 e 44; Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H+Al (cmol_c dm⁻³) = 4,1; 0,9; 0,0; 3,2; saturação de bases (%) = 61,5; matéria orgânica (dag kg⁻¹) = 3,8; Zn, Fe, Mn, Cu, B e S (mg dm⁻³) = 22,6; 51,6; 51,8; 4,1; 0,2 e 25,5.

Sementes de *O. selloi* (depósito herbário ESAL n° 7474) foram plantadas em bandejas de poliestireno expandido com 72 células preenchidas com substrato comercial e mantidas em casa de vegetação, sob nebulização intermitente, por 60 dias. As mudas foram transplantadas para o campo em dezembro de 2004. A área havia sido previamente arada e adubada com 0,5 L de esterco bovino curtido por cova, em espaçamento 1,0 x 1,0 m. A análise do esterco bovino apresentou os seguintes valores de macro e micronutrientes: N, P, K, Ca, Mg e S (g kg⁻¹) = 5,0; 0,67; 24,98; 5,32; 4,06 e 0,51; B, Cu, Fe, Mn e Zn (mg kg⁻¹) = 18,33; 22,06; 12.052,99; 223,47 e 58,52). Foi mantida irrigação diária por 4 meses. Capinas foram realizadas conforme a necessidade. O delineamento estatístico utilizado foi em blocos ao acaso, em esquemafatorial 2 x 8, sendo dois sistemas de manejo (com e sem corte das inflorescências) e oito épocas de colheita (45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 e 150 dias após o transplante das mudas), com quatro repetições por tratamento. Cada parcela foi composta por duas plantas, totalizando 128 plantas úteis, contornadas por uma linha de bordadura.

Nas avaliações, toda a parte aérea das plantas foi colhida ao redor das 8:00 horas da manhã (Carvalho Filho et al., 2006), sendo o corte feito rente ao solo. O material coletado foi conduzido imediatamente ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais (UFLA/ DAG), onde cada planta foi separada em caule, folhas e inflorescências e individualmente embaladas em sacos de papel “Kraft” e secas em estufa com circulação de ar

forçada, a 35°C, até atingir peso constante. O corte das inflorescências começou a ser realizado em fevereiro de 2005, quando foi confirmado visualmente o surgimento das primeiras gemas floríferas, com cerca de 0,5 cm. Posteriormente, o corte das inflorescências foi realizado todas as semanas, independente do seu tamanho. As características estudadas foram altura da planta (cm) e massa seca (g) de caule, folhas e inflorescências (nos tratamentos sem corte).

Para a avaliação do teor e rendimento, o óleo essencial foi extraído, em quatro repetições, pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando balões de 1 litro com 40 g de massa seca de folhas, em 500 mL de água destilada, por 90 minutos (Martins, 1996). Em seguida, realizou-se uma partição líquido-líquido, em funil de separação, em que foi adicionado diclorometano ao hidrolato, para a purificação do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso, para se retirar possíveis resíduos de umidade. Após alguns minutos em repouso, a solução foi filtrada e armazenada à temperatura ambiente, em frascos escuros parcialmente tampados, até a completa evaporação do solvente. Determinou-se, então, o teor de óleo essencial por meio de pesagem, avaliando-se o teor de óleo essencial ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$) e o rendimento de óleo essencial (g planta^{-1}).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio do software SISVAR[®] (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade, para o corte e análise de regressão para a época de corte.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Crescimento e produção de biomassa

O sistema de manejo de corte das inflorescências não afetou a altura das plantas. Plantas intactas apresentaram média de 51,8 cm durante o período avaliado, enquanto aquelas que tiveram suas inflorescências cortadas atingiram

53,2 cm de altura. Esses resultados confirmam os de Gonçalves (2001), que obteve altura média de 50 cm em plantas de *O. selloi* cultivadas sob radiação solar plena.

A altura das plantas apresentou resposta quadrática em relação às épocas de colheita, com a altura máxima estimada de 65,9 cm, obtida aos 139 dias após o transplante (DAT) (Tabela 1). O aumento de altura mais intenso ocorreu até 90 DAT, período que coincidiu com o auge da floração, que iniciou aos 75 DAT, diferentemente do que foi observado por Shiroma et al. (2003) onde o crescimento ocorreu de forma mais intensa da quarta a oitava semana após o transplante, período imediatamente anterior à floração. Esta diferença pode ter sido verificada em virtude do local, da época e da forma de plantio. As diferentes condições climáticas, o fotoperíodo e a disponibilidade prolongada de nutrientes no perfil do solo no cultivo a campo, possivelmente, contribuíram para o alongamento do ciclo reprodutivo da planta.

O corte das inflorescências influenciou significativamente o rendimento de massa seca de caule (MSC) e de massa seca de folhas (MSF), ao longo das épocas de colheita (Tabela 1). As plantas cujas inflorescências foram cortadas produziram maior quantidade média de MSC ($51,8 \text{ g planta}^{-1}$) e MSF ($27,9 \text{ g planta}^{-1}$) em relação às plantas sem corte, que produziram $42,4 \text{ g planta}^{-1}$ e $21,3 \text{ g planta}^{-1}$, respectivamente, concordando com as informações de Simon (2006) para *Ocimum basilicum*.

Comportamento semelhante foi observado com a espécie *Plantago major* L., em que a supressão das inflorescências proporcionou incrementos significativos para as características de biomassa estudadas, com exceção da altura da planta (Blanco, 1998).

A MSC apresentou ajuste quadrático para os dois sistemas de manejo, ao longo das épocas de colheita (Tabela 1). A partir de 75 dias DAT, época de início da floração e, conseqüentemente, do corte das inflorescências, as plantas

desprovidas de inflorescências apresentaram maior acúmulo de MSC do que as que não foram cortadas, atingindo 26,5% a mais de massa seca até o final do período estudado.

TABELA 1. Altura de planta, massa seca do caule (MSC), folhas (MSF) e inflorescências (MSI), teor e rendimento de óleo essencial destilado de folhas secas de elixir-paregórico, com e sem corte de inflorescências, em função das épocas de colheita.

Época de colheita (dias)	Inflorescências	
	Cortadas	Não cortadas
	Altura de planta (cm)	
45	27,62	27,12
60	38,25	37,62
75	47,87	42,12
90	54,25	52,37
105	59,37	63,25
120	67,87	65,62
135	67,12	62,62
150	63,00	63,37
Equação	$y = -20,8802 + 1,2688x - 0,0046x^2$	$y = -20,7567 + 1,299x - 0,0044x^2$
R ²	0,98**	0,96**
	MSC (g.planta ⁻¹)	
45	1,8	1,7
60	6,0	6,7
75	15,1	12,6
90	31,2	41,3
105	46,1	48,7
120	94,5	73,3
135	106,7	72,1
150	112,6	82,7
Equação	$y = -23,0761 + 0,1918x + 0,0052x^2$	$y = -49,8767 + 1,0572x - 0,0010x^2$
R ²	0,95**	0,95**

TABELA 1, Cont.

MSF (g.planta ⁻¹)		
45	3,0	2,8
60	7,9	8,6
75	17,5	14,3
90	27,1	31,7
105	33,2	30,2
120	51,0	35,7
135	45,5	23,9
150	38,1	22,9
Equação	$y=-50,4447+1,2847x-0,0044x^2$	$y=-54,9249+1,4992x-0,0065x^2$
R ²	0,90**	0,86**
MSI (g.planta ⁻¹)		
45	-	0,0
60	-	0,0
75	-	1,2
90	-	6,0
105	-	9,1
120	-	30,2
135	-	50,1
150	-	53,8
Equação	-	$y=19,9362-0,7577x+0,0068x^2$
R ²	-	0,95*
Teor óleo essencial (g.100g ⁻¹ MSF)		
45	1,46	1,46
60	2,53	2,53
75	2,30	2,21
90	2,59	2,53
105	3,50	2,98
120	2,91	2,64
135	2,72	2,71
150	2,67	2,81
Equação	$y=-0,9709+0,0709x-0,0003x^2$	$y=0,0149+0,0455x-0,0002x^2$
R ²	0,75**	0,75**

TABELA 1, Cont.

	Rendimento óleo essencial (g.planta ⁻¹)	
45	0,18	0,18
60	0,83	0,83
75	0,80	0,62
90	1,41	1,57
105	2,21	1,81
120	2,94	1,88
135	2,44	1,26
150	1,97	1,28
Equação	$y=-2,9861+0,0790x-0,0003x^2$	$y=-2,5669+0,0736x-0,0003x^2$
R ²	0,85**	0,81**

A MSF também apresentou resposta quadrática nos dois sistemas de manejo, ao longo das épocas de colheita (Tabela 1). Nas plantas cujas inflorescências foram cortadas, a produção máxima estimada de MSF (45,5 g planta⁻¹) foi obtida 149 DAT; já naquelas que não tiveram as suas inflorescências cortadas, a produção máxima estimada foi menor (31,5g planta⁻¹) e ocorreu mais cedo (115 DAT), sendo seguida por um declínio. Esta diferença de comportamento pode ser explicada pelo fato de que, com o florescimento ocorre a translocação de fotoassimilados das regiões de síntese (folhas) para os locais onde serão consumidos, no caso as inflorescências e os frutos em formação (Larcher, 2000); já nas plantas cujas inflorescências foram cortadas, a planta continuou investindo na produção de mais folhas.

A formação de inflorescências pela planta foi muito intensa e teve início aos 75 DAT. A massa seca das inflorescências (MSI) mostrou um ajuste quadrático para as épocas de colheita (Tabela 1), não tendo o período avaliado sido suficiente para determinar a sua produção máxima, considerando que *O. selloi* é uma espécie perene (Lorenzi & Matos, 2002). Ao final do experimento, notou-se que as plantas que não tiveram suas inflorescências cortadas apresentaram aspecto geral senescente, com muitas folhas amareladas. Por outro lado, aquelas cujas inflorescências foram cortadas apresentaram-se mais

vigorosas e com folhas de coloração verde mais intensa. Segundo Hertwig (1991), a supressão das flores evita o envelhecimento precoce das plantas porque elimina o dreno de fotossimilados.

5.2. Produção de óleo essencial

O teor de óleo essencial das folhas de *O. selloi* não foi afetado pelo sistema de manejo, mas apresentou resposta quadrática às épocas de colheita, com produção máxima estimada de 2,93 g 100 g⁻¹ MSF, obtida 117 DAT, após o qual tendeu a estabilizar (Tabela 1). A variação do teor de óleo em função da idade da planta parece ser um fator que varia com a espécie, pois, para *Ocimum gratissimum*, a maior produção de óleo essencial, 1,25%, ocorreu com 83 dias (Rocha et al., 2005). Já para *Cymbopogon citratus* foi observado decréscimo gradual do teor de óleo com a idade da planta (Leal et al., 2003).

O teor médio de óleo essencial de *O. selloi* obtido neste trabalho foi superior aos valores encontrados por Gonçalves (2001) e Martins (1996), possivelmente em virtude de diferenças entre os materiais genéticos, época e local de cultivo e colheita, além do método de extração utilizando folhas frescas e outros solventes orgânicos, como pentano e éter dietílico, respectivamente.

A interação entre o corte e a época de colheita teve efeito significativo sobre o rendimento de óleo essencial da planta, resultando em ajustes quadráticos (Tabela 1). A média de rendimento de óleo essencial obtido das folhas das plantas, cuja inflorescência foi cortada, foi significativamente maior (1,60 g planta⁻¹) do que nas plantas que não sofreram o corte (1,18 g planta⁻¹). Para as plantas que tiveram as suas inflorescências cortadas, o rendimento de óleo máximo estimado foi de 2,36 g planta⁻¹, obtido 135 DAT, enquanto nas plantas que não foram cortadas, o rendimento de óleo máximo estimado foi de 1,65 g planta⁻¹, obtido aos 114 DAP (Tabela 1). O corte das inflorescências

proporcionou um aumento médio de 26,25% no rendimento de óleo essencial em relação às plantas não cortadas.

Nas plantas em que se cortaram as inflorescências semanalmente, aparentemente, a translocação dos fotoassimilados ficou direcionada para a produção de maior quantidade de massa foliar. Dessa forma, apesar de o corte das inflorescências não ter apresentado efeito sobre o teor de óleo essencial na planta, verificou-se que o aumento do rendimento de óleo ocorreu em função do incremento de massa seca de folhas de *O. selloi*, como observado em *Cymbopogon citratus*, em que, apesar do teor de óleo essencial ter diminuído com a idade da planta, o rendimento final aumentou, compensado pela maior quantidade da biomassa seca produzida (Leal et al., 2003).

6. CONCLUSÕES

O corte das inflorescências de *O. selloi* não interfere na altura da planta e no teor de óleo essencial, mas proporciona aumento da produção de caules e folhas, bem como no rendimento de óleo essencial. A época ideal de colheita está em torno dos 135 DAT, para as plantas com suas inflorescências cortadas e 114 DAT, para aquelas sem corte das inflorescências.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLANCO, M.C.S.G. Biomassa e mucilagem da tanchagem (*Plantago major* L.) e função das adubações orgânica, mineral e mista e da supressão das inflorescências. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais e aromáticas condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu, UNESP, v. 2, p. 139-154, 1998.

CAMÊLO, L.C.A.; EHLERT, P.A.D.; PAULA, J.W.A.; SILVA, T.N.; CARVALHO, C.R.D.; SANTOS, M.C.; MOURA, C.R.F.; BLANK, A.F. Competição de genótipos de manjerição. In: **Horticultura Brasileira**, v.23, 2005. Suplemento, 2. (CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45.). CD-Rom.

CARVALHO FILHO, J.L.S.; BLANK, A.F.; ALVES, P.B.; EHLERT, P.A.D.; MELO, A.S.; CAVALCANTI, S.C.H.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, p.24-30, 2006.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H.; MOSQUIM, P.R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 113p.

CHAVES, F.C.M.; MING, L.C.; EHLERT, P.A.D.; FERNANDES, D.M.; MARQUES, M.O.M.; MEIRELES, M.A.A. Influência da adubação orgânica na produção de folhas e óleo essencial de alfavaca-cravo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 41., 2001. **Anais eletrônicos...** Brasília, 2001. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

FONSECA, M.G.; ANDRADE, L.G.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SILVA-MANN, R.; DANTAS, I.B.; SANTOS, M.F.; COSTA, A.G.; MENDONÇA, M.C.; BLANK, A.F. Germinação de sementes de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) sob a influência da luz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43., 2003. **Anais eletrônicos ...** Recife: UFPE. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p.255-258.

GONÇALVES, L.A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2001. 95p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

HERTWIG, I.F.V. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem e comercialização. São Paulo: Ícone, 1991. 414p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 2000. 319p.

LEAL, T.C.A.B.; FREITAS, S.P.; SILVA, J.F.; CARVALHO, A.J.C. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim-cidreira [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.] em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.5, p.61-64, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 254p.

MARTINS, E.R. **Morfologia interna e externa, caracterização isozimática e óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.** 1996. 97p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais e aromáticas condimentares**: avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu, SP: UNESP, 1998. v.2, p. 97-126, 1998.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 220p.

MATTOS, J.K.A. **Plantas medicinais**: aspectos agrônômicos. Brasília: UnB, 1996. 51p.

MORAES, L.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, p.183-186, 2002.

MORAES, L.A.S.; NAKAGAWA, J.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M.; MEIRELES, M.A.A. Efeito da luminosidade e do nitrato de potássio na germinação de sementes do elixir-paregórico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43., 2003, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife, PE: UFPe, 2003a. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

MORAES, L.A.S.; SEABRA JÚNIOR, S.; GADUM, J.; MING, L.C.; VILLAS BOAS, R.L.; MARQUES, M.O.M.; MEIRELES, M.A.A. Produção de mudas de elixir-paregórico em função do tipo de substrato. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43., 2003, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife, PE: UFPe, 2003b. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

PAULA, J.P.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Chemical composition, toxicity and mosquito repelency of *Ocimum selloi* oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.253-260, 2003.

ROCHA, G.S.; CASTELLANI, D.C.; DALL'OGGIO, E.L. Análise de crescimento, caracterização e produção de óleo essencial em alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) no município de Cáceres – MT. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: IAC, 2005. p.110. (Documentos IAC, 77).

RODRIGUES, C.R.; FAQUIN, V.; BERTOLUCCI, S.K.V.; PINTO, J.E.B.P.; PEREIRA, S.P.; SILVA, S.; CORRÊA, M.G.; ANDRADE, A.T. Crescimento do manjerição em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e magnésio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43., 2003, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife, PE: UFPe, 2003. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

SANTOS NETO, A.L.; BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SILVA, P.A.; AMANCIO, V.F. Avaliação de doses de calcário e fertilizante formulado na produção de mudas de dois cultivares de manjerição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 41., 2001, Brasília. **Anais eletrônicos...** Brasília: UnB, 2001. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

SHIROMA, K.; TEIXEIRA, J.P.F.; MARQUES, M.O.M. Desenvolvimento de plantas e produção de óleo essencial em *Ocimum selloi* Benth. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43., 2003, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife, PE: UFPe, 2003. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=2753>>. Acesso em: 25 mar. 2006.

SIMON, J.E. **Basil**. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/CropFactSheets/basil.html>>. Acesso em: 15 jun. 2006.

VIEIRA, R.F.; SIMON, J.E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic Botany**, New York, v.54, p.207-216, 2000.

ANEXO

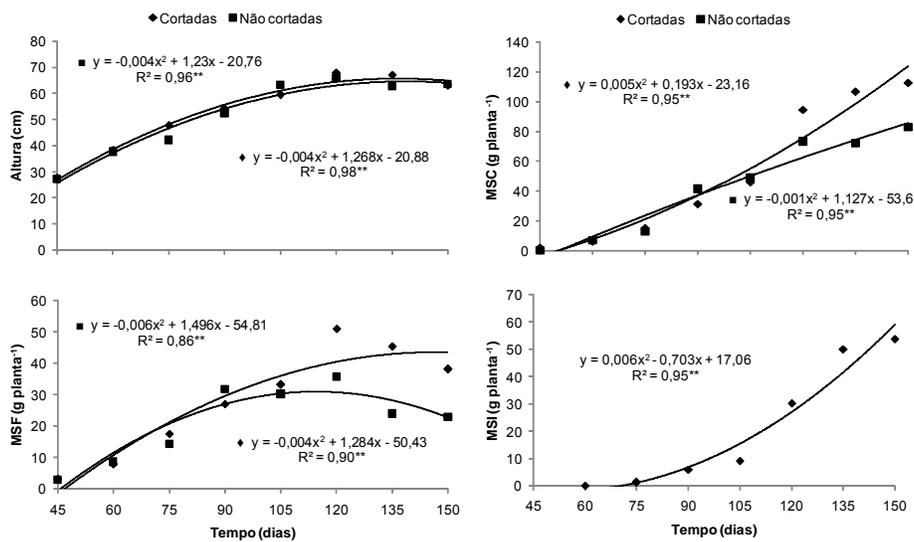


FIGURA 1. Altura de planta, massa seca do caule (MSC), folhas (MSF) e inflorescências (MSI) de elixir-paregórico, com e sem corte de inflorescências, em função das épocas de colheita.

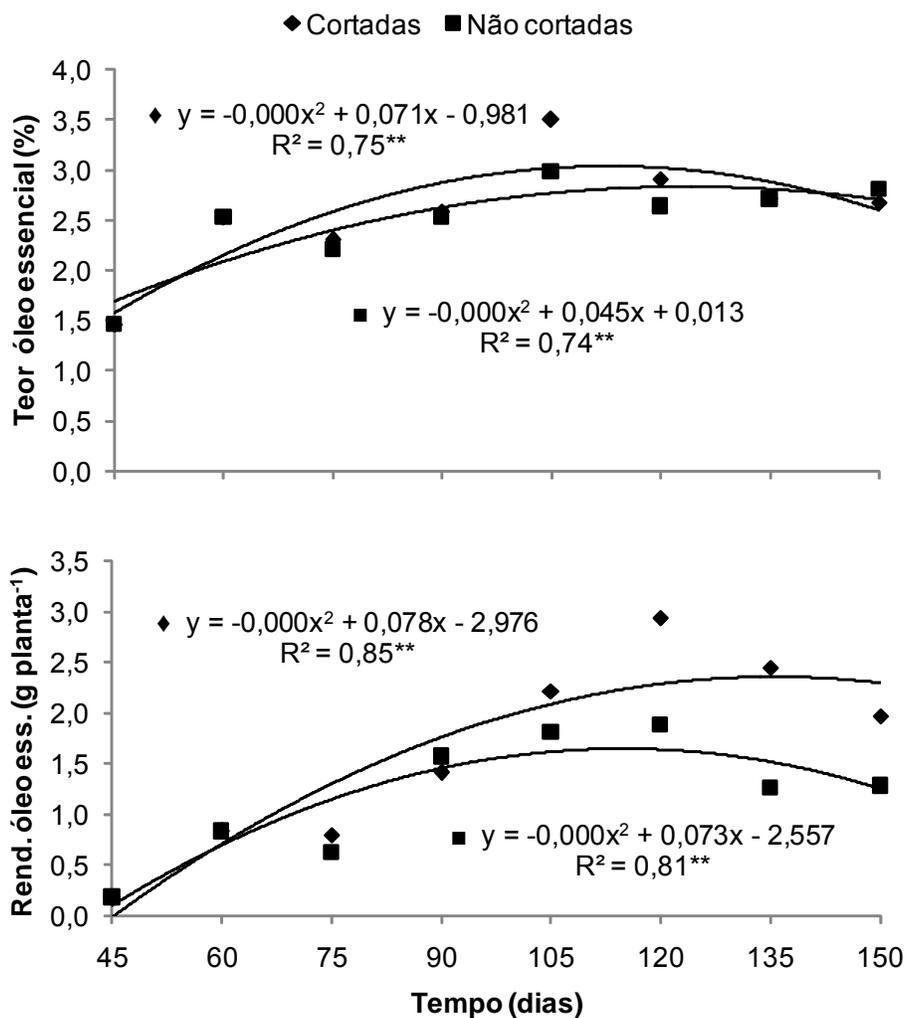


FIGURA 2. Altura de planta, massa seca do caule (MSC), folhas (MSF) e inflorescências (MSI), teor e rendimento de óleo essencial destilado de folhas secas de elixir-paregórico, com e sem corte de inflorescências, em função das épocas de colheita.

ARTIGO 4

TIPOS E DOSES DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA NO CRESCIMENTO, NO RENDIMENTO E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum selloi* BENTH.

(Preparado de acordo com as normas da Revista Ciência Rural)

Larissa Corrêa do Bomfim Costa¹; José Eduardo Brasil Pereira Pinto²; Evaristo Mauro de Castro³; Suzan Kelly Vilela Bertolucci²; Ricardo Monteiro Corrêa²; Érika Soares Reis²; Péricles Barreto Alves⁴; Edenilson dos Santos Niculau⁴

¹Departamento de Ciências Biológicas (DCB), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), 45662-000, Ilhéus, BA, Brasil. E-mail: larissacbc@uol.com.br. Autora para correspondência. ²Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Cx. P. 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. ³Departamento de Biologia (DBI), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Cx. P. 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. ⁴Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe (UFS), 49100-000, São Cristovão, SE, Brasil.

1. RESUMO

A prática da adubação orgânica, além de fornecer nutrientes para as plantas, proporciona a melhoria da estrutura física do solo, aumenta a retenção de água, diminui as perdas por erosão e favorece o controle biológico. O elixir-paregórico (*Ocimum selloi* Benth.) é uma espécie medicinal nativa das regiões sul e sudeste do Brasil, onde é utilizada popularmente como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório. Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o efeito de diferentes doses de dois adubos orgânicos no crescimento no rendimento e na composição do óleo essencial de elixir-paregórico. Os experimentos foram conduzidos em Lavras, MG, em casa de vegetação, com os seguintes tratamentos de adubação: Ensaio A – esterco bovino: 1) solo sem adubação (controle); 2) solo + 3 kg m⁻² de esterco; 3) solo + 6 kg m⁻² de esterco; 4) solo + 9 kg m⁻² de esterco; 5) solo + 12 kg m⁻² de esterco; ensaio B – esterco avícola: 1) solo sem adubação (controle); 2) solo + 1,5 kg m⁻² de esterco; 3) solo + 3 kg m⁻² de esterco; 4) solo + 4,5 kg m⁻² de esterco e 5) solo + 6 kg m⁻² de esterco. Foi observada influência das doses de adubação com esterco bovino e avícola sobre o crescimento da planta em altura e diâmetro do caule, acúmulo de

biomassa seca, AF, AFE, RPF, teor de clorofilas, espessura do limbo foliar, rendimento e composição química do óleo essencial.

Palavras-chave: *Ocimum selloi* Benth., planta medicinal, adubação orgânica.

2. ABSTRACT

Sources and doses of organic fertilization in *Ocimum selloi* growth, essential oil yield and chemical composition. The organic fertilization provides nutrients for the plants, improves the soil physical structure, increases the water retention, reduces the erosion losses and favors the biological control. *Ocimum selloi* is a native medicinal plant of south and southeast of Brazil where is used popularly as antidiarrhetic, antispasmodic and anti-inflammatory. This work aimed to verify the effect of different doses of two organic fertilizers sources in *O. selloi* growth, essential oil yield and chemical composition. The experiments were carried out in Lavras, MG, with pots in green house with two manuring treatments: Test A - Cattle manure: 1) Soil without manuring (control); 2) Soil + 3 kg m⁻² cattle manure; 3) Soil + 6 kg m⁻² cattle manure; 4) Soil + 9 kg m⁻² cattle manure; 5) Soil + 12 kg m⁻² cattle manure; Test B - Chicken manure: 1) Soil without manuring (control); 2) Soil + 1.5 kg m⁻² chicken manure; 3) Soil + 3 kg m⁻² chicken manure; 4) Soil + 4.5 kg m⁻² chicken manure and 5) Soil + 6 kg m⁻² chicken manure. The influence of cattle and chicken manuring doses was verified on plant height, stem diameter, dry biomass weight, TLA, SLA, LWR, chlorophylls content, leaf thickness, essential oil yield and composition.

Key-words: *Ocimum selloi* Benth., medicinal plant, organic fertilizer.

3. INTRODUÇÃO

Ocimum selloi Benth. (Lamiaceae), conhecida vulgarmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran, é uma espécie medicinal nativa das regiões sul e sudeste do Brasil. Encontrada em estado silvestre ou cultivada em hortas e quintais, a espécie é usada tradicionalmente como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório.

A síntese de princípios ativos nas plantas medicinais é derivada do metabolismo secundário e pode ser regulada tanto por fatores genéticos quanto ambientais. Dentre os fatores de estresse que interferem na composição química da planta, a nutrição merece destaque, pois a deficiência ou o excesso de nutrientes podem interferir na produção de biomassa e na quantidade de princípio ativo (Mapeli et al., 2005). A adubação orgânica das plantas medicinais, além de ser parte essencial nos sistemas de cultivo orgânico, fornece nutrientes para as plantas, proporciona benefícios na estrutura física do solo, aumenta a retenção de água, diminui as perdas por erosão e favorece o controle biológico de pragas e doenças.

Nesse sentido, estudos sobre o rendimento de biomassa e óleo essencial em resposta à adubação orgânica, mineral e mista vêm sendo desenvolvidos com espécies medicinais, como *Justicia pectoralis* (Bezerra et al., 2006), *Hyptis suaveolens* (Maia, 2006), *Ocimum basilicum* (Blank et al., 2005), *Chamomilla recutita* (Corrêa Júnior, 1998; Mapeli et al., 2005), *Lippia alba* (Ming, 1998) e *Achillea millefolium* (Scheffer, 1998).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o efeito de diferentes tipos e doses de adubos orgânicos no crescimento vegetativo, no teor e na composição química do óleo essencial de elixir-paregórico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Plantas obtidas a partir de sementes foram cultivadas, em casa de vegetação, em vasos de 10 litros. Foram utilizados aos seguintes tipos e doses de adubação orgânica: ensaio A – esterco bovino: 1) solo sem adubação (controle); 2) solo + 3 kg m⁻² de esterco; 3) solo + 6 kg m⁻² de esterco; 4) solo + 9 kg m⁻² de esterco; 5) solo + 12 kg m⁻² de esterco; ensaio B – esterco avícola: 1) solo sem

adubação (controle); 2) solo + 1,5 kg m⁻² de esterco; 3) solo + 3 kg m⁻² de esterco; 4) solo + 4,5 kg m⁻² de esterco e 5) solo + 6 kg m⁻² de esterco. As doses de esterco foram calculadas com base em volume de solo com 20 cm de profundidade.

As características químicas do solo e adubos orgânicos foram determinadas seguindo análise de rotina, em que obtiveram-se os seguintes resultados para o solo: pH em água = 7,3; P e K (mg.dm⁻³) = 1,7 e 9; Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, H+Al (cmol_c.dm⁻³) = 5,7; 0,7; 0,0; 1,2; índice de saturação de bases (%) = 84,3; matéria orgânica (dag.kg⁻¹) = 3,0; Zn, Fe, Mn, Cu, B e S (mg.dm⁻³) = 1,5; 31,1; 13,8; 1,1; 0,1 e 14,9. Os adubos orgânicos, por sua vez, também foram analisados, tendo sido encontrados os seguintes valores para o esterco bovino: pH em água = 8,2; P, K (mg.dm⁻³) = 619,0; 8033; Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺ e H+Al (cmol_c.dm⁻³) = 6,9; 3,6; 0,0 e 0,89; SB e CTC (cmol_c.dm⁻³) = 31,0; 31,9; V (%) = 97,2. Para o esterco avícola: pH em água = 8,2; P, K (mg.dm⁻³) = 1080,5; 8563; Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺ e H+Al (cmol_c.dm⁻³) = 2,4; 1,1; 0,0 e 0,77; SB e CTC (cmol_c.dm⁻³) = 25,4; 26,2; V (%) = 97,1.

Após 80 dias de cultivo, procederam-se as seguintes avaliações: altura das plantas (ALT), desde a superfície do solo até a extremidade da inflorescência presente no ápice do eixo principal, e o diâmetro do caule na altura do coleto (COL). A área foliar total (AFT) foi medida utilizando-se um medidor eletrônico de área foliar, modelo LI – 3100-LICOR, a partir da qual obteve-se os parâmetros fisiológicos de razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) e razão de peso foliar (RPF), de acordo com Benincasa (2003).

Em seguida, cada planta colhida foi particionada em raiz, caule, folha e inflorescência, para secagem até atingir peso constante, para a obtenção da biomassa seca, com a qual também foi determinada a relação raiz: parte aérea (R:PA).

Na mesma ocasião, foi colhida uma folha completamente expandida do

segundo nó abaixo da inflorescência dos ramos centrais de cinco plantas diferentes, fixadas em FAA 70% e estocadas em solução de etanol a 70%. Foram preparadas lâminas semipermanentes da região mediana do limbo foliar, a partir de seções transversais à mão livre. Os cortes obtidos foram submetidos à coloração com safrablau (Kraus & Arduin, 1997). As medições dos componentes foliares (espessura das epidermes das faces abaxial e adaxial, parênquimas paliádico e lacunoso) foram feitas a partir de imagens digitais, utilizando-se o programa de análise de imagens Sigma Scan Pro 5.

Com um espectrofotômetro v/uv Beckman, modelo 640 B, foi realizada a leitura da absorvância dos extratos foliares a 663 nm e 645 nm para a quantificação das clorofilas *a*, *b* e total, seguindo a metodologia de Arnon (1949).

O óleo essencial das folhas secas foi extraído pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, utilizando-se 40g de matéria seca, em 500 mL de água destilada, por 90 minutos. O teor e o rendimento de óleo essencial foram avaliados na biomassa seca das folhas (BSF). O teor de óleo foi obtido diretamente como porcentagem ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ BSF) e o rendimento de óleo foi calculado por meio do teor multiplicado pelo valor médio de BSF da planta (g planta^{-1}).

As amostras de óleo essencial foram analisadas por cromatografia gasosa (CG), utilizando aparelho Shimadzu 17 A, equipado com detector de ionização de chama (FID) e também por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), usando aparelho Shimadzu QP5050A. As condições cromatográficas em ambas as análises foram: coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária DB-5MS (30 m x 0,2 mm x 0,25 μm de espessura de filme); He nas análises por CG-EM como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL/min. A temperatura foi programada mantendo-se 50°C por 1,5 minuto, aumentando para 200°C, a 4°C/min, então aquecendo para 300°C, a 10° C/min e

mantendo esta temperatura constante por 10 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente; o volume de injeção foi 0,2 µL solução em acetato de etila, com velocidade de arraste de 1,5 mL/min. As condições do EM foram: detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV. A velocidade de varredura foi de 0,5 scan/seg de 40 a 550 *m/z*. Cada componente foi identificado pela comparação entre os espectros de massas obtidos com os dados da espectroteca on-line NIST (Stein, 2005) e dados da literatura (Adams, 1995). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando-se uma curva de calibração de uma série de *n*-alcanos (C₈-C₁₈) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. Os valores de retenção obtidos foram confrontados com dados da literatura (Van Den Dool & Kratz, 1963). A concentração relativa dos constituintes foi calculada por meio da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise utilizando cromatógrafo a gás com detector de ionização de chamas (FID).

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com quatro repetições e quatro plantas por parcela. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois ensaios com os dois tipos de adubo orgânico, as plantas não adubadas ficaram visivelmente amareladas, com folhas menores e porte reduzido em relação às demais (Figura 1). Verificou-se que houve efeito significativo das doses de adubação do esterco bovino e avícola em todas as variáveis analisadas, seguindo uma tendência quadrática, com exceção do teor de clorofila total, cujo ajuste foi linear para o esterco avícola (Figuras 2, 3 e 4).

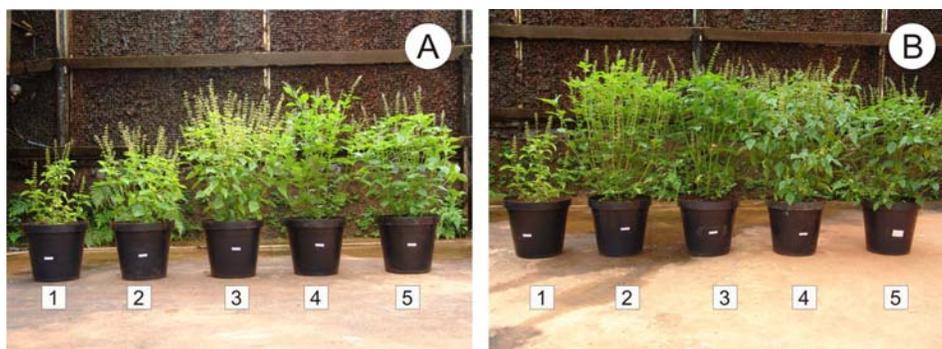


FIGURA 1. Aspecto geral dos tratamentos de doses de adubação em *Ocimum selloi*. A) Ensaio A – esterco bovino: 1) solo sem adubação (controle); 2) solo + 3 kg m⁻² de esterco; 3) solo + 6 kg m⁻² de esterco; 4) solo + 9 kg m⁻² de esterco; 5) solo + 12 kg m⁻² de esterco; B) Ensaio B – esterco avícola: 1) solo sem adubação (controle); 2) solo + 1,5 kg m⁻² de esterco; 3) solo + 3 kg m⁻² de esterco; 4) solo + 4,5 kg m⁻² de esterco e 5) solo + 6 kg m⁻² de esterco.

Houve aumento na altura das plantas com o incremento das doses de adubação atingindo um valor máximo de 67,3 cm com a aplicação de 8 kg m⁻² de esterco bovino e 78,0 cm com a dose de 4,7 kg m⁻² de esterco avícola (Figura 2 A e B). Estudos anteriores com *Ocimum basilicum* (Blank et al., 2005) e *Chamomilla recutita* (Corrêa Júnior, 1998) não detectaram efeito da adubação orgânica e química sobre a altura das plantas medicinais, provavelmente por não ter sido avaliado o efeito de diferentes doses. O diâmetro do caule, que está relacionado também à capacidade de transporte da planta, aumentou com as doses de adubação aplicadas, atingindo 11,1 e 13,7 mm com a aplicação de 7,7 kg m⁻² de esterco bovino e 4,8 kg m⁻² de esterco avícola, respectivamente (Figura 2 C e D). Resposta semelhante do efeito de doses de adubação orgânica

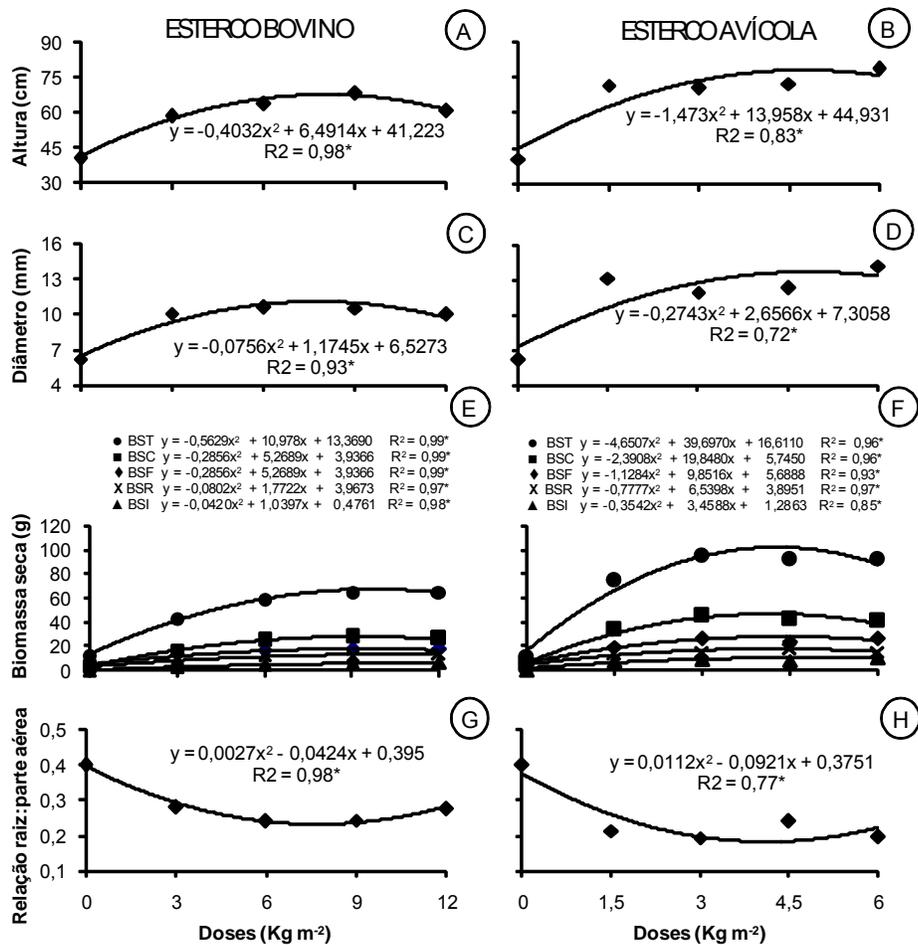


FIGURA 2. Crescimento de *Ocimum selloi* em altura (A e B), diâmetro do caule (C e D), acúmulo de biomassa seca (E e F) e relação raiz:parte aérea (R:PA) (G e H), em função dos diferentes adubos (A, C, E e G = esterco bovino; B, D, F e H = esterco avícola) e doses. BST = biomassa seca total, BSC = biomassa seca do caule, BSF = biomassa seca foliar, BSR = biomassa seca da raiz e BSI = biomassa seca das inflorescências. * Significativo, a 5%, pelo teste de F.

sobre o diâmetro do caule também foi encontrada para *Hyptis suaveolens* (Maia, 2006).

Maior produção de biomassa seca total da planta (66,3 g) foi obtida utilizando-se a dosagem de 9,7 kg m⁻² de esterco bovino e 101,3 g com a dose de 4,3 kg m⁻² de esterco avícola. Nos dois tipos de adubação, a ordem de distribuição dos fotoassimilados seguiu a mesma seqüência: maior no caule, seguido de folhas, raiz e inflorescências (Figura 2 E e F). O efeito das doses de matéria orgânica no aumento de produção de biomassa já foi registrado para *Hyptis suaveolens* (Maia, 2006) e *Hyptis marrubioides* (Sales, 2006), atribuindo-se à crescente disponibilidade e absorção de nutrientes. Entretanto, esse comportamento não é constante, pois em, *Justicia pectoralis*, as doses de adubações orgânicas e minerais não influenciaram a produção de biomassa da planta (Bezerra et al., 2006).

Quanto à relação R:PA, nas dosagens estudadas, os maiores valores foram obtidos no tratamento sem adubação, verificando-se diminuição da relação R:PA com o aumento das doses de adubo orgânico até o valor de 0,23 com 7,8 kg m⁻² de esterco bovino e 0,20 com 4,1 kg m⁻² de esterco avícola (Figura 2 G e H). Este resultado sugere que o aumento das doses de adubo orgânico direciona a distribuição de biomassa para a parte aérea da planta.

Com relação aos índices fisiológicos de crescimento, observou-se incremento da área foliar (AF) com as doses de adubação, atingindo os valores máximos de 4.726,7 e 6.084 cm², com as doses de 9,6 kg m⁻² de esterco bovino e 4,6 kg m⁻² de esterco avícola, respectivamente (Figura 3 A e B). À semelhança do verificado com AF, o incremento das doses dos adubos promoveu o aumento da área foliar específica (AFE), atingindo o valor máximo de 267,2 cm² g⁻¹ nas plantas adubadas com 9,0 kg m⁻² de esterco bovino e 258,4 cm² g⁻¹ com 5,8 kg m⁻² de esterco avícola (Figura 3 C e D). O aumento da área foliar específica com doses crescentes de adubação orgânica está associado ao componente anatômico,

ou seja, à redução significativa da espessura foliar, como se pode observar nas Figuras 4 A e B. Não houve diferença significativa da razão de área foliar (RAF) em relação às doses de adubos (dados não apresentados), ou seja, a área foliar útil para a fotossíntese é a mesma. Apesar das plantas adubadas apresentarem maior área foliar e biomassa seca total do que as não adubadas, houve um aumento da interferência das folhas superiores sobre as folhas inferiores, causando um auto-sombreamento que reduz a fotossíntese das folhas sombreadas.

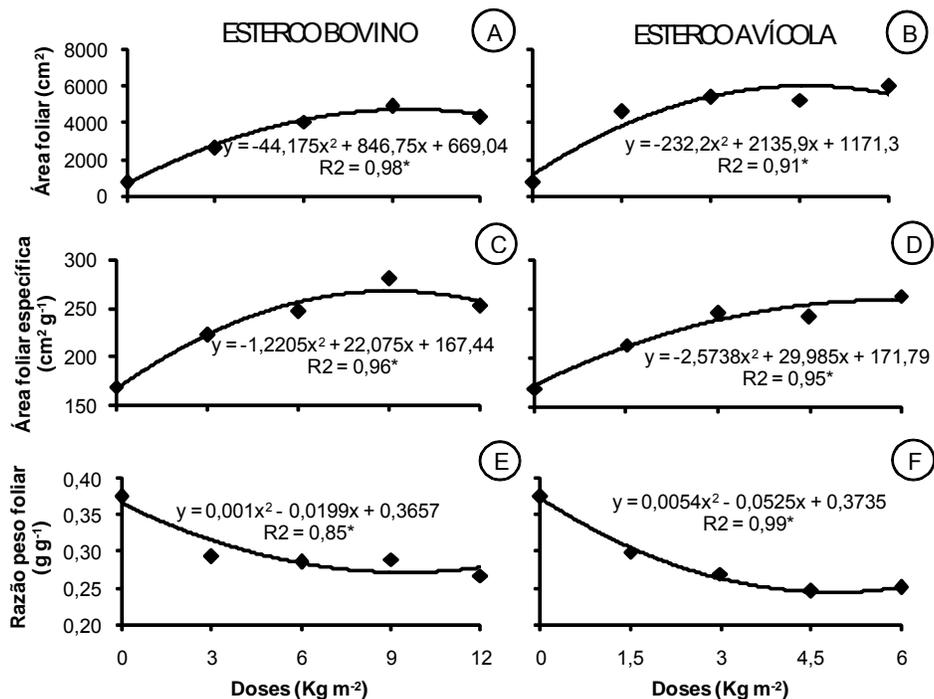


FIGURA 3. Área foliar (AF) (A e B), área foliar específica (AFE) (C e D) e razão de peso foliar (RPF) (E e F) de *Ocimum selloi*, em função dos diferentes adubos (A, C e E = esterco bovino; B, D e F = esterco avícola) e doses. * Significativo, a 5%, pelo teste de F.

Quanto à razão de peso foliar (RPF), nas dosagens estudadas, os maiores valores foram obtidos no tratamento sem adubação e, à medida que as doses de adubo foram aumentadas, os valores diminuíram até $0,27 \text{ g g}^{-1}$, com $9,9 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco bovino e $0,24 \text{ g g}^{-1}$ com $4,9 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco avícola (Figura 3 E e F), ou seja, quanto maior a dose de adubo orgânico, menor é a fração de material retido nas folhas e maior é a exportação para as outras partes da planta como as inflorescências, por exemplo.

A espessura do limbo foliar decresceu com as doses de adubo aplicadas até o valor mínimo de $185,0 \text{ }\mu\text{m}$ com $11,1 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco bovino e $169,7 \text{ }\mu\text{m}$ com $5,8 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco avícola (Figura 4 A e B). A diminuição da espessura associada ao aumento da área foliar com as doses de adubo orgânico revelou um ajuste da planta na área responsável pela interceptação da energia luminosa e CO_2 , aumentando, assim, a sua eficiência fotossintética em condições nutricionais favoráveis.

O teor de clorofila total aumentou linearmente com as doses de esterco avícola enquanto que, com o esterco bovino, o ajuste quadrático da curva apresentou um pico de $1,57 \text{ mg g}^{-1}$ de clorofila total com a dose de $9,3 \text{ kg m}^{-2}$ de adubo (Figura 4 C e D). As plantas sem adubação ficaram visivelmente amareladas em relação às demais. Estas respostas estão ligadas diretamente ao aumento da disponibilidade nutricional, especialmente de N e Mg, principais constituintes do anel porfirínico na molécula de clorofila.

O rendimento de óleo essencial extraído da biomassa seca foliar aumentou com as doses de adubo, atingindo o valor máximo de $0,23 \text{ g planta}^{-1}$ com $8,1 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco bovino e $0,31 \text{ g planta}^{-1}$ com $4,0 \text{ kg m}^{-2}$ de esterco avícola (Figura 4 E e F), confirmando que pode haver incremento no rendimento de óleo essencial por planta com o aumento dos níveis de nutrientes disponíveis no solo (Silva et al., 2006). Entretanto, esta resposta pode variar com a espécie, pois, em *Achillea millefolium*, não houve alteração do rendimento de óleo

essencial com as doses de adubo orgânico, apenas entre os tratamentos adubados e sem adubação (Scheffer, 1998).

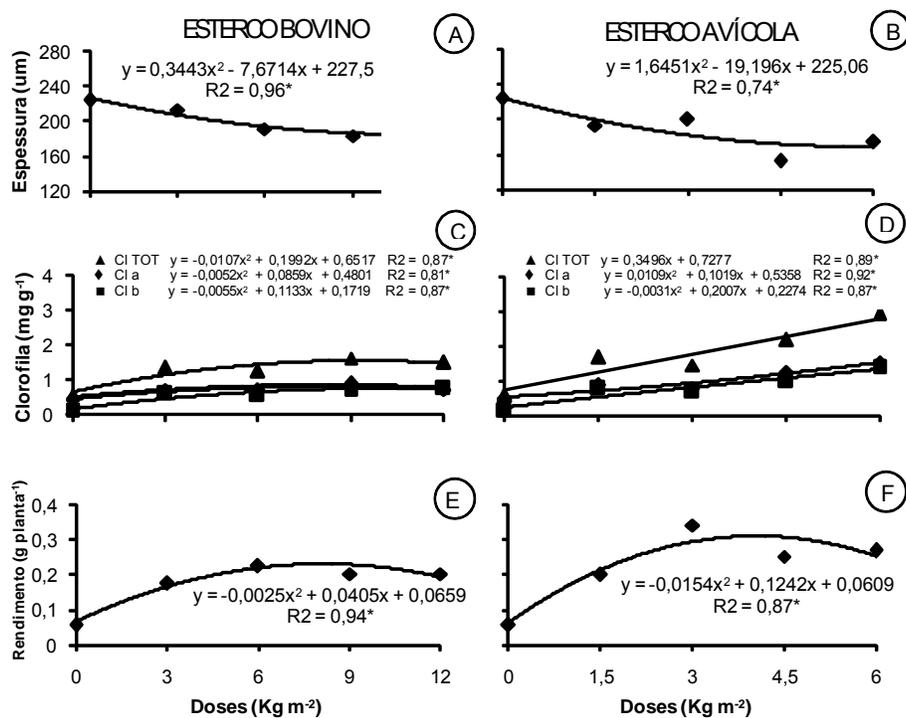


FIGURA 4. Espessura do limbo foliar (A e B), teor de clorofila (C e D) e rendimento de óleo essencial (E e F) de *Ocimum selloi*, em função dos diferentes adubos (A, C e E = esterco bovino; B, D e F = esterco avícola) e doses. CI TOT = clorofila total; CI a = clorofila a; CI b = clorofila b. * Significativo, a 5%, pelo teste de F.

A análise química do óleo essencial resultou na identificação de 19 compostos (Tabela 1). O óleo essencial de *O. selloi* é constituído de

fenilpropanóides e sesquiterpenos, tendo o metil chavicol sido o constituinte majoritário do óleo essencial de *O. selloi*, conforme já descrito anteriormente (Martins, 1997). Houve um incremento de aproximadamente 12% na biossíntese desse fitoconstituente, independente do tipo e da dose de adubação orgânica em relação ao controle. Diferindo dos resultados obtidos por Silva et al. (2006), que não encontraram efeito da adubação sobre a constituição química do óleo essencial de *Baccharis trimera*, em *O. selloi*, de modo geral, existem diferenças quantitativas e qualitativas em termos de constituintes químicos, conforme o adubo orgânico e a dose usada. O maior número de compostos foi verificado no tratamento sem adubação, possivelmente como uma resposta de defesa da planta ao estresse nutricional (Tabela 1).

TABELA 1. Composição química e porcentagem relativa da área do pico dos componentes do óleo essencial da biomassa seca de folhas de *Ocimum selloi*, em função dos diferentes adubos e doses.

Constituinte	IR*	% de área dos picos								
		Doses esterco bovino (kg m ⁻²)					Doses esterco avícola (kg m ⁻²)			
		0	3	6	9	12	1,5	3	4,5	6
Metil chavicol	1195	81,73	90,02	91,96	92,34	91,66	91,36	92,38	92,68	90,43
Chavicol	1253	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05
α -copaeno	1376	0,20	0,20	0,18	0,16	0,18	0,19	0,19	0,16	0,23
β -bourboreno	1384	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-
β -cubebeno	1390	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-
β -elemeno	1391	0,09	-	-	-	-	-	-	-	0,11
Metil eugenol	1401	1,38	0,79	0,62	0,56	0,63	0,66	0,60	0,56	0,79
β -cariofileno	1418	2,61	1,75	1,54	1,59	1,63	1,61	1,45	1,46	1,76
α -trans-bergamoteno	1436	0,41	0,26	0,21	0,21	0,22	0,21	0,19	0,18	0,26
(E)-cinamil acetato	1443	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
α -cariofileno	1454	2,24	0,08	-	-	-	1,61	1,45	1,46	1,76
Alo-aromadendreno	1461	0,12	0,05	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno D	1480	3,91	2,49	2,05	1,99	2,22	2,34	1,95	1,93	2,39
Biciclogermacreno	1494	5,14	2,87	-	-	-	-	-	-	2,66
Germacreno A	1503	-	-	2,41	2,29	2,56	2,70	2,21	2,24	-
β -bisaboleno	1509	2,46	0,88	0,93	0,69	0,75	0,79	0,78	0,65	0,73
β -cadeneno	1524	0,20	0,12	0,09	0,09	0,09	0,10	0,07	0,08	0,16
Spatulenol	1576	0,54	0,14	0,10	0,07	0,06	0,05	0,07	0,04	0,14
Óxido cariofileno	1581	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-

* Índice de retenção calculado por meio da série *n*-alcano em coluna capilar DB-5MS na ordem de eluição.

6. CONCLUSÕES

Houve efeito das doses de adubação com esterco bovino e avícola sobre o crescimento da planta em altura e diâmetro do caule, acúmulo de biomassa seca, AF, AFE, RPF, teor de clorofilas, espessura do limbo foliar, rendimento e composição química do óleo essencial de *O. selloi*. Os maiores valores foram obtidos com a utilização de esterco bovino nas doses entre 8 e 10 kg m⁻², mas principalmente com aplicação de esterco avícola nas doses entre 4 e 5 kg m⁻².

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 245p.

ARNON, D.I. Cooper enzymes in isolated chloplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster, v.24, n.1, p.1-15, 1949.

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

BEZERRA, A.M.E.; NASCIMENTO JÚNIOR, F.T.; LEAL, F.R.; CARNEIRO, G.J.M. Rendimento de biomassa, óleo essencial, teores de fósforo e potássio de chambá em resposta à adubação orgânica e mineral. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.2, p.124-129, 2006.

BLANK, A.F.; SILVA, P.A.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SILVA-MANN, R.; BARRETO, M.C.V. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjerição cv. Genovese. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.36, n.2, p.175-180, 2005.

CORRÊA JÚNIOR, C. Influência das adubações orgânica e química na produção de camomila (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) e do seu óleo essencial. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu, SP: UNESP, 1998. v.1, p.130-164.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, RJ: UFRRJ, 1997. 198p.

MAIA, S.S.S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial em *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae)**. 2006. 105f. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

MARTINS, E.R.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; CARAZZA, F. Essential oil in the taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. **Journal Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v.8, p.29-32, 1997.

MING, L. C. Adubação orgânica de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. – Verbenaceae. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. v.1., Botucatu, UNESP, p. 165-191, 1998.

SALES, J.F. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) –Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SCHEFFER, M.C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L.- mil-folhas. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. v.1., Botucatu, UNESP, p. 1-22, 1998.

SILVA, F.G.; PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, M.G.; SALES, J.F.; MOL, D.J.S.; DIVINO, S.P. Influence of manure and fertilizer on *Baccharis trimera* (Less) D.C. growth and essential oil yield.. **Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants**, v.12, n.1/2, p.1-11, 2006.

STEIN, S.E. NIST Mass Spec Data Center. In: LINSTROM, P.J.; MALLARD, W.G. (Ed.). **Retention Indices in NIST Chemistry Web Book**. Gaithersburg MF: National Institute of Standards and Technology, 2005. (NIST Standard Reference Database, 69).Disponível em: <<http://nebook.nist.gov>>. Acesso em: 24 ago. 2007.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gasliquid partition chromatography. **Journal Chromatogr.**, v.11, p.463-471, 1963.

ARTIGO 5

EFEITOS DO SOMBREAMENTO COM TELAS COLORIDAS NO CRESCIMENTO VEGETATIVO E ESTRUTURA FOLIAR DE *Ocimum selloi*

(Preparado de acordo com as normas da Revista **Scientia Horticulturae**)

Larissa C. B. Costa¹, José E. B. P. Pinto², Evaristo M. Castro³, Eduardo Alves⁴, Suzan K. V. Bertolucci², Louise F. Rosal²

¹Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, 45650-000, Ilhéus, BA, Brazil. ²Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, Brazil. ³Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, Brazil. ⁴Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, Brazil.

1. RESUMO

O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito do sombreamento de *Ocimum selloi* com telas coloridas sobre características biométricas, fisiológicas, anatômicas e ultra-estruturais da planta. Plantas foram cultivadas por 90 dias em vasos contendo substrato composto por solo, esterco curtido de gado e areia (5:3:2) sob três tratamentos de sombreamento com tela colorida do tipo Cromatinet[®] (50%) vermelha, azul e pleno sol (sem tela). As plantas nas telas coloridas tiveram maior crescimento em altura, mas o maior acúmulo de biomassa seca total e particionada e relação raiz: parte aérea (R:PA) ocorreram na condição de pleno sol. A espécie apresentou plasticidade fenotípica, verificada pelos ajustes das variáveis área foliar total (AFT), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF) e razão de peso foliar (RPF) em função dos tratamentos. Ocorreu maior espessamento foliar na condição de pleno sol pela somatória do maior espessamento da epiderme abaxial e do parênquima esponjoso. A densidade estomática foi maior nas plantas a pleno sol. O número de cloroplastos e o seu tamanho foi maior nas telas coloridas, enquanto o maior acúmulo de amido ocorreu a pleno sol e tela vermelha. As

plantas de *O. selloi* foram mais afetadas pela intensidade luminosa do que pela qualidade espectral da luz.

Palavras-chave: planta medicinal, telas coloridas, qualidade de luz, ultra-estrutura foliar.

2. ABSTRACT

Effects of coloured shade netting on the vegetative development and leaf structure of *Ocimum selloi*. The objective of the present work was to investigate the effects of shading on the growth and development of the medicinal plant *Ocimum selloi*. Seedlings were grown on a substrate consisting of soil, mature cattle manure and sand (5:3:2) and were maintained under three different light treatments, namely, full sunlight, and red and blue shading provided by ChromatiNet[®] 50% coloured netting. After 90 days of cultivation, the height, stem diameter, petiole length, total leaf area (TLA), specific leaf area (SLA), leaf area ratio (LAR) and leaf weight ratio (LWR) of each plant was measured. Microscopic examination of leaf sections were conducted in order to determine the thicknesses of the adaxial and abaxial epidermis, the palisade and spongy parenchyma, and the leaf blade, together with the size and density of the stomata, and the number and area of chloroplasts and chloroplast starch grains present in the palisade parenchyma cells. Although shade-grown plants were taller in comparison with those grown in full sunlight, total dry biomass together with root, stem and leaf tissue biomasses were lower. Plants exhibited phenotypic plasticity, as demonstrated by the different TLA, SLA, LAR and LWR values that were recorded under the various light treatments. Stomatal density and leaf thickness was increased in plants maintained in full sunlight owing to the expansion of the abaxial epidermis and the spongy parenchyma. Chloroplasts were more numerous and larger in plants grown under shading, whilst the accumulation of chloroplastic starch grains was greater in plants grown under red shading or in full sunlight. Alterations observed in the anatomy of *O. selloi* plants, including those concerning leaf morphology and structure, were initiated more by light intensity than by light quality.

Keywords: Light quality and intensity, plastic coloured netting, plant anatomy, leaf morphology and structure.

3. INTRODUÇÃO

As plantas podem responder a alterações no balanço espectral do ambiente e fazer ajustes fisiológicos e morfológicos por meio dos fitocromos (Li et al., 2000), promovendo adaptações necessárias à sobrevivência em diferentes ambientes (Kasperbauer & Hamilton, 1984). Alterações na qualidade espectral podem produzir respostas fotomorfogenéticas que atingem o crescimento e o desenvolvimento (Lee et al., 1997; Li et al., 2000), a morfologia (Stuefer & Huber, 1998), a anatomia foliar e do caule (Schuerger et al., 1997; Lee et al., 2000), a partição de fotoassimilados (Kasperbauer, 1987; Brown et al., 1995), a eficiência fotossintética (Kasperbauer & Peaslee, 1973) e a composição química das plantas (Macedo et al., 2004), tanto *in vivo* quanto *in vitro* (Kim et al., 2004; Macedo et al., 2004). Apesar da confirmação dos efeitos da qualidade espectral sobre as plantas, as respostas são muito variáveis em função das espécies (Kim et al., 2004). Portanto, a utilização efetiva de filtros espectrais como reguladores do crescimento de plantas depende do conhecimento de quais faixas do espectro estão envolvidas nas respostas de crescimento de cada planta (McMahon & Kelly, 1995).

A manipulação da qualidade espectral pode ser obtida pela utilização de fontes de luz colorida artificial suplementar (Brown et al., 1995), filmes plásticos coloridos (Oyaert et al., 1999), filtros espectrais (Rajapakse et al., 1992) ou o revestimento do solo com coberturas plásticas coloridas reflexivas (Loughrin & Kasperbauer, 2001 e 2003). Uma nova técnica utiliza telas plásticas coloridas com propriedades óticas variadas que exercem pequena interferência no microclima, mas são capazes de modificar a intensidade e a qualidade da luz solar transmitida (Oren-Shamir et al., 2001). Além de oferecer a proteção física normal contra radiação excessiva, pragas e desequilíbrios ambientais, o uso

destas telas objetiva, principalmente, otimizar algumas respostas fisiológicas desejáveis na planta (Shahak et al., 2004).

Pesquisas com o cultivo de plantas ornamentais sob telas coloridas revelaram efeitos substanciais no alongamento de ramos, aumento de ramificações e no florescimento (Oren-Shamir et al., 2001). Já em fruteiras, foram verificados efeitos positivos no florescimento, na frutificação, no tamanho, na coloração e na qualidade interna dos frutos (Shahak et al., 2004). De modo geral, o uso de telas coloridas interfere nos processos de desenvolvimento da planta, como ampliação do período de colheita (maturação antecipada e mais prolongada), maior produtividade e melhoria da qualidade do produto final (Shahak et al., 2004).

Ocimum selloi Benth. (Lamiaceae) é um subarbusto perene, nativo das regiões sul e sudeste do Brasil, conhecido popularmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran. A espécie é usada popularmente como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório, além de possuir atividade repelente contra insetos. Estudos da composição química do óleo essencial vêm demonstrando variações dos constituintes majoritários: metil chavicol, metil eugenol (Martins, 1998) e trans-anetol com metil chavicol (Moraes et al., 2002), o que comprova a existência de diferentes quimiotipos nesta espécie.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o efeito do sombreamento com telas coloridas sobre características do crescimento, anatomia foliar e ultra-estrutura de *Ocimum selloi*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Cultivo das plantas

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), entre os meses de novembro de 2005 e janeiro de 2006. Sementes de

plantas matrizes (depósito herbário ESAL n° 7474 – UFLA) de *O. selloi*, cultivadas no Horto de Plantas Medicinais, foram semeadas em substrato comercial (Plantmax®; Eucatex, São Paulo, SP, Brasil), em bandejas de poliestireno expandido com 72 células e mantidas em casa de vegetação, sob nebulização intermitente por 60 dias.

As mudas foram transplantadas para vasos de 10 litros preenchidos com um substrato de mistura terriço, esterco curtido bovino e areia, na proporção de 5:3:2 e submetidas aos tratamentos de sombreamento com tela colorida ChromatiNet® vermelha, azul e sem tela a pleno sol. O sombreamento colorido foi fornecido por telas coloridas (ChromatiNet® 50%, Indústrias Polysack, Leme, SP, Brasil), que apresentam propriedades óticas especiais, incrementando a utilização da radiação solar. Para cada tratamento empregado, a intensidade da luz foi determinada diariamente, às 13 horas, utilizando-se um sensor Li-Cor LI-185A (Li-Cor, Lincoln, NE, USA).

4.2. Análises biométricas

Após 90 dias de cultivo, realizaram-se as seguintes avaliações: altura das plantas (ALT) da superfície do solo até a extremidade da inflorescência principal, diâmetro do caule (COL) na altura do coleto e comprimento do pecíolo (PEC) das folhas do segundo nó abaixo da inflorescência. Todas as medidas foram expressas em centímetros.

A área foliar total (AFT, expressa em cm²) foi medida utilizando-se um medidor eletrônico de área foliar, modelo LI – 3100-LICOR, a partir da qual obtiveram-se os parâmetros fisiológicos de razão de área foliar (RAF, expressa em cm².g⁻¹), área foliar específica (AFE, cm².g⁻¹) e razão de peso foliar (RPF, em g.g⁻¹), de acordo com Benincasa (2003).

Em seguida, cada planta colhida foi separada em raiz, caule, folha e inflorescência, para secagem em estufa de circulação forçada a 70°C, até atingir

peso constante, para a obtenção da biomassa seca, com a qual também foi determinada a relação raiz: parte aérea (R:PA).

4.3. Análises microscópicas

Folhas de dez plantas crescidas sob diferentes condições de luz foram examinadas microscopicamente. Folhas completamente expandidas localizadas no segundo nó abaixo da inflorescência foram retiradas e fixadas com FAA 70%, por 48 horas e, transferidas para solução de álcool 70%.

Foram obtidas amostras da região mediana do limbo foliar, as quais foram seccionadas nas duas faces foliares no sentido paradérmico à mão livre. Estas secções foram clarificadas em solução de água sanitária 50%, lavadas em água destilada, neutralizadas em água acética, submetidas à coloração com safranina 1% e montadas em lâmina semipermanente, com uso de água mais glicerina (1:1; v/v). As imagens foram registradas em fotomicrografias, utilizando-se microscópio Olympus (São Paulo, Brazil) modelo BX60 acoplado à câmera fotográfica digital Canon PowerShot modelo A510.

Para as secções transversais do limbo foliar utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV), na qual as amostras foram fixadas em solução de Karnovsky modificada (glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl₂ 0,001M), desidratadas em série acetônica crescente, secadas até ponto crítico usando um secador de ponto crítico Bal-Tec (Balzers, Liechtenstein) modelo CPD 030, submetidas à metalização com ouro utilizando um evaporador Bal-Tec modelo SCD 050 e examinadas em microscópio eletrônico de varredura modelo Evo[®] 40 VP com voltagem de aceleração de 20 kV. Nas secções transversais foram avaliadas as seguintes variáveis: espessura da epiderme das faces adaxial (AD) e abaxial (AB), parênquima paliádico (PP), parênquima esponjoso (PE) e lâmina foliar

(LF). Nas secções paradérmicas, determinaram-se o tamanho dos estômatos a partir do seu diâmetro polar e equatorial e a densidade estomática.

Para a observação das características ultra-estruturais dos cloroplastos, foi realizada análise em microscópio eletrônico de transmissão (MET) Zeiss EM 109. As amostras foram, primeiramente, fixadas em solução de Karnovsky modificada e tetróxido de ósmio, depois desidratadas em gradiente de acetona e, a seguir, incluídas em resina Spurr. Os blocos obtidos foram submetidos à microtomia ultrafina utilizando-se um micrótomo Reichert Jung (Heidelberg, Germany) equipado com lâmina de diamante. O material foi colhido em telas de cobre e contrastado com acetato de uranila 2% seguido por acetato de chumbo 1%. Nestas secções determinaram-se o número e a área (μm^2) dos cloroplastos e grãos de amido nos cloroplastos de células do parênquima paliçádico.

As imagens digitais foram obtidas utilizando-se o software de análise de imagens AnalySIS (Soft Imaging System GmbH, Münster, Alemanha) e analisadas com o software WinCELL Pro (Regent Instruments, Sainte-Foy, Quebec, Canadá).

4.4. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos, sete repetições e duas plantas por parcela. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância para comparação de médias por meio do teste Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas submetidas ao sombreamento tanto com a tela vermelha quanto com a azul não diferiram entre si quanto ao crescimento em altura, mas apresentaram-se maiores do que as plantas cultivadas a pleno sol. O diâmetro do

coleteo e o comprimento do pecíolo não variaram em função dos tratamentos adotados (Tabela 1).

As plantas utilizam a luz como fonte de energia e um sinal que fornece informação sobre seu ambiente. Tais sinais de luz são traduzidos em processos elétricos, metabólicos e genéticos, que permitem às plantas alterarem o crescimento, o desenvolvimento e a função, a fim de aclimatarem-se às mudanças nas condições ambientais. As respostas das plantas ao sombreamento representam uma interação complexa entre a quantidade e a qualidade de luz incidente sobre o crescimento, morfogênese, desenvolvimento e arquitetura da planta (Lee et al., 1997). Normalmente, alterações na intensidade de luz afetam primariamente os parâmetros de crescimento e produção, enquanto que a composição espectral da luz influencia principalmente os processos de desenvolvimento e morfogênese da planta (Stuefer & Huber, 1998).

TABELA 1. Efeitos de diferentes regimes de luz no crescimento de *Ocimum selloi*^a.

Tratamentos	Pleno sol	Sombreamento vermelho	Sombreamento azul	Coefficiente de variação (%)
Altura (cm)	60,80 ± 1,5 ^B	72,60 ± 1,8 ^A	70,20 ± 1,5 ^A	7,61
Diâmetro do caule (cm)	1,36 ± 0,04 ^A	1,31 ± 0,08 ^A	1,13 ± 0,07 ^A	16,87
Tamanho do pecíolo (cm)	1,65 ± 0,05 ^A	1,82 ± 0,11 ^A	1,83 ± 0,09 ^A	15,87

^a Resultados expressos em valores médios±erro padrão ($n = 10$). Médias dos tratamentos, seguidos de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

O maior crescimento das plantas sombreadas ocorreu devido ao efeito principal da menor intensidade luminosa. De forma geral, as respostas de alongamento das plantas sob baixa intensidade luminosa servem para aumentar a interceptação de luz, posicionando partes da planta fotossinteticamente ativas num estrato vegetacional mais elevado (Kasperbauer, 1987; 1971).

A intensidade luminosa e a qualidade espectral da luz não tiveram qualquer efeito sobre algumas características de *O. selloi*, como o diâmetro do coleto e o tamanho do pecíolo. O diâmetro do coleto está relacionado à sua capacidade de transporte (Stuefer & Huber, 1998) e, indiretamente, informa o volume do caule e a capacidade de armazenamento de carboidratos (Lee et al., 1997). Apesar de não ter havido variação do diâmetro do coleto de *O. selloi* em função dos tratamentos adotados, esta pode ser uma característica de grande plasticidade para outras espécies, como *Hopea* (Lee et al., 1997), *Potentilla anserina* e *Potentilla reptans* (Stuefer & Huber, 1998). Da mesma forma, respostas do tamanho do pecíolo são muito variáveis em função da espécie.

A qualidade da luz alterou sensivelmente o tamanho do pecíolo de *Potentilla anserina* (Stuefer & Huber, 1998), mas não teve qualquer influência sobre o tamanho do pecíolo de crisântemo (Oyaert et al., 1999), enquanto que, para *Potentilla reptans*, apenas a intensidade da luz promoveu alterações (Stuefer & Huber, 1998).

As plantas mantidas a pleno sol acumularam maior quantidade de biomassa seca total (Tabela 2). Os dois tratamentos com cobertura colorida causaram decréscimo na biomassa seca total e particionada em raiz, caule e folha, com exceção da biomassa seca das inflorescências, cuja média não variou entre os tratamentos sombreados, mas foi maior do que nas plantas cultivadas a pleno sol (Tabela 2). O sombreamento com telas coloridas favoreceu a produção de biomassa nas inflorescências, enquanto o sombreamento com tela azul foi

limitante para o acúmulo de biomassa seca total. Tão importante quanto o particionamento da biomassa seca entre os diversos órgãos da planta é a sua distribuição entre a parte aérea e a parte subterrânea. A relação raiz:parte aérea de *O. selloi* foi maior a pleno sol, revelando maior alocação de fotoassimilados para a raiz nesta condição do que nos tratamentos sombreados, cujos valores médios não diferiram entre si (Tabela 2).

TABELA 2. Efeitos de diferentes regimes de luz na produção de biomassa de *Ocimum selloi*^a

Tratamentos	Biomassa seca (g)			Coeficiente de variação (%)
	Pleno sol	Sombreamento vermelho	Sombreamento azul	
Raíz	65,63 ± 5,9 ^A	28,86 ± 2,3 ^B	11,16 ± 1,8 ^C	34,41
Caule	54,84 ± 1,5 ^A	39,84 ± 0,9 ^B	21,21 ± 1,5 ^C	11,09
Folha	24,86 ± 0,6 ^A	19,52 ± 0,4 ^B	11,24 ± 0,8 ^C	11,10
Inflorescência	7,76 ± 0,3 ^B	10,63 ± 0,6 ^A	10,19 ± 0,7 ^A	19,55
Total	153,03 ± 7,2 ^A	98,78 ± 2,9 ^B	53,72 ± 4,3 ^C	15,94
R:PA ^b	0,83 ± 0,11 ^A	0,42 ± 0,03 ^B	0,25 ± 0,02 ^B	54,87

^a Resultados expressos em valores médios±erro padrão ($n = 10$). Médias dos tratamentos seguidos de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

^b Razão raiz:parte aérea.

O maior acúmulo de biomassa seca total e das partes raiz, caule e folhas e a maior relação R:PA na condição de pleno sol confirmaram a hipótese de que parâmetros de produção são influenciados principalmente pela intensidade de

luz (Stuefer & Huber, 1998). Apesar de a luz vermelha oferecer o comprimento de onda correspondente à máxima absorvância da clorofila, a partir do qual poderia esperar-se aumento da biomassa vegetal, isto não foi observado. Plantas mantidas sob luz vermelha requerem radiação suplementar, especialmente no espectro do azul para o seu crescimento e desenvolvimento normais (Brown et al., 1995).

A menor produção de biomassa seca total de plantas cultivadas sob filme plástico azul pode ser o resultado de um decréscimo na taxa de assimilação de CO₂ (Oyaert et al., 1999). Isso também já foi confirmado por Kim et al. (2004) que observaram redução da taxa fotossintética líquida em plantas submetidas à luz azul ou azul+VD. A luz azul ou a interação do azul com outros comprimentos de onda são fatores críticos na determinação da resposta fotomorfogênica das plantas (Rajapakse, 1992; Brown et al., 1995). Entretanto, quando se compara o cultivo de *O. basilicum* apenas em ambientes de telas neutras (preta, aluminet) e coloridas (amarela, pérola e vermelha), constata-se que os maiores rendimentos foram obtidos sob a tela vermelha (Reshef, 2001).

O fato das plantas sombreadas produzirem maior quantidade de biomassa seca de inflorescências pode ser explicado como uma “estratégia de sobrevivência”. Por meio dela, o aumento de resistência necessária à sobrevivência em condições desfavoráveis representa, freqüentemente, aumento no custo de produção de biomassa, no crescimento e maior eficiência de reprodução, garantindo uma composição equilibrada entre o rendimento e a perpetuação da planta (Larcher, 2000).

Geralmente, variações ambientais podem causar alterações na relação R:PA pela interferência no remanejamento e na distribuição de fotoassimilados dentro da planta (Ferreira et al., 2004). Apesar dos espectros do V e VD em condições de ambiente controlado poderem agir através do sistema fitocromo da planta, regulando a partição entre parte aérea e sistema radicular (Kasperbauer,

1987), neste trabalho, a alteração da relação R:PA foi atribuída à variação na intensidade de luz.

A AFT foi maior nas plantas sombreadas com tela vermelha, seguida pelas mantidas a pleno sol e, finalmente, pelas sombreadas com tela azul (Tabela 3). Nas plantas sombreadas com a tela azul, em que é maior a razão A:V, foi observado um efeito de inibição da expansão foliar. A AFE e a RAF foram maiores nas plantas sombreadas com a tela azul, seguida pela tela vermelha e pleno sol. Quanto à RPF, não se observou diferença significativa entre as plantas sombreadas com tela vermelha e azul, cuja média, entretanto, foi significativamente superior a daquelas plantas submetidas à condição de pleno sol (Tabela 3).

Considerando que a biomassa seca das folhas foi maior a pleno sol, é possível afirmar que a maior AFT nas plantas mantidas sob tela vermelha deveu-se ao aumento da expansão foliar individual, revelando que a menor razão A:V pode ter influenciado esta característica. Da mesma forma, plantas de *Ocimum basilicum* cultivadas em solo recoberto com plástico vermelho tiveram maior área foliar e biomassa fresca (Loughrin & Kasperbauer, 2001). Por outro lado, o menor valor de área foliar nas plantas sombreadas com a tela azul, em que é maior a razão A:V, pode ser um indicativo da intolerância desta espécie a essa condição de luminosidade. A redução do tamanho da folha, resultando na redução da área fotossintética, compromete o acúmulo de biomassa seca pela planta (Li et al., 2000). O conhecido efeito das telas azuis de inibição do crescimento vegetativo (Oren-Shamir et al., 2001, Shahak et al., 2004) foi confirmado pela redução da área foliar total com a conseqüente diminuição da biomassa seca das plantas. Tem sido observado também que a utilização de filmes fotoseletivos e filtros de CuSO_4 causam a redução da área foliar total em crisântemo (Oyaert et al., 1999) e pimentão (Li et al., 2000). Apesar das variações de área foliar normalmente estarem associadas a diferenças entre os

níveis de radiação solar (Gonçalves, 2001), observou-se que houve forte influência da qualidade de luz neste fator, bem como nas outras duas variáveis derivadas (AFE e RAF).

TABELA 3. Efeitos de diferentes regimes de luz no desenvolvimento foliar de *Ocimum selloi*^a

Tratamentos	Pleno sol	Sombreamento vermelho	Sombreamento azul	Coefficiente de variação (%)
AFT (cm ²) ^b	3592,45 ± 101,9 ^B	4064,96 ± 155,2 ^A	2401,13 ± 117,6 ^C	11,97
AFE (cm ² .g ⁻¹) ^b	154,59 ± 2,4 ^C	217,25 ± 3,3 ^B	233,63 ± 2,8 ^A	4,49
RAF (cm ² .g ⁻¹) ^b	23,81 ± 0,9 ^C	41,35 ± 1,7 ^B	48,69 ± 1,9 ^A	13,19
RPF (g.g ⁻¹) ^b	0,16 ± 0,005 ^B	0,20 ± 0,006 ^A	0,21 ± 0,004 ^A	9,42

^a Resultados expressos em valores médios±erro padrão ($n = 10$). Médias dos tratamentos, seguidos de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

^b AFT – area foliar total; AFE – area foliar específica; RAF – razão de area foliar; RPF – razão de peso foliar.

A AFE relaciona a superfície com a biomassa seca da própria folha (Benincasa, 2003) e pode responder diferentemente à qualidade espectral da luz conforme a espécie. Apesar da reduzida AFT nas plantas sombreadas com tela azul, foi observada maior AFE em virtude do seu pequeno acúmulo de biomassa seca foliar. Alterações da AFE estão associadas a modificações anatômicas, que foram acompanhadas por alterações na espessura do limbo foliar, justificando

suas folhas mais delgadas sob tela azul e vermelha. Em espécies de *Hopea*, a qualidade espectral não afetou a AFE (Lee et al., 1997), enquanto que, em crisântemo e pimentão, houve redução da AFE nas plantas mantidas sob plástico fotosselativo (Li et al., 2000).

Considerando-se a biomassa foliar como uma expressão do volume foliar, o inverso da AFE indica a espessura da folha (MS folha/Área foliar), que também é chamada de peso específico da folha (Benincasa, 2003). Quanto menor a AFE, mais espessa é a folha. A folha sombreada, normalmente, tem AFE maior, pois é mais fina. A redução da espessura da folha, bem como do seu peso específico foliar em condições de sombreamento, é uma modificação comum e que representa vantagens funcionais em ambientes de baixa intensidade luminosa (Buisson & Lee, 1993).

A RAF expressa a área foliar útil para a fotossíntese (Benincasa, 2003). Os maiores valores encontrados nas plantas sombreadas com a tela azul indicam que uma quantidade maior de área foliar é necessária para produzir um grama de biomassa seca. Este efeito de menor RAF com o aumento da intensidade de luz pode ser entendido como a capacidade da planta em se adaptar a diferentes condições de luminosidade, dentro de certos limites (Benincasa, 2003).

Quanto à RPF que foi influenciada principalmente pela intensidade de luz, nas plantas submetidas ao sombreamento com telas coloridas é maior a fração de material retido nas folhas, enquanto que, a pleno sol, ocorreu exportação mais eficiente do material produzido nas folhas para as demais partes da planta. A maior ou a menor exportação de material da folha podem ser características genéticas que estão sob influência de variáveis ambientais (Benincasa, 2003) como a qualidade espectral da luz.

Nas seções paradérmicas das folhas das plantas submetidas aos tratamentos com cobertura colorida observou-se maior sinuosidade das paredes

anticlinais das células epidérmicas nas duas faces foliares, em relação às plantas expostas a pleno sol (Figura 1).

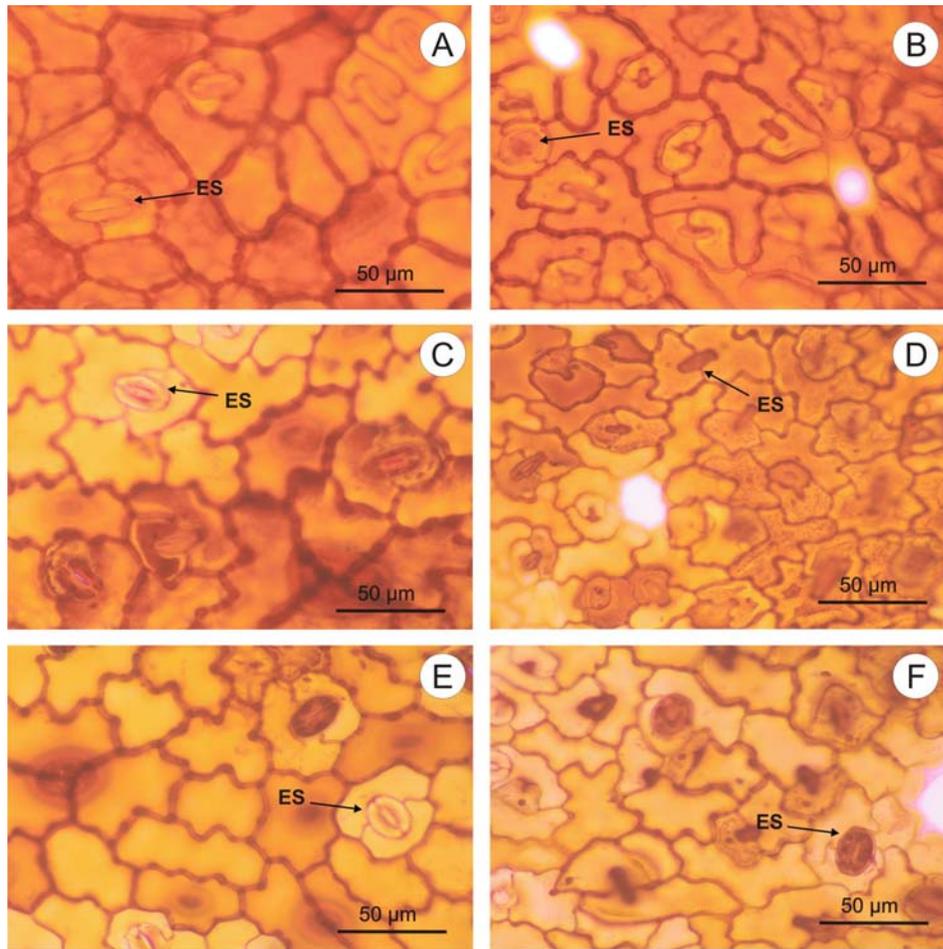


FIGURA 1. Fotomicrografias da epiderme foliar de *Ocimum selloi*, superfície adaxial (A, C e E) e abaxial (B, D e F), em plantas mantidas a pleno sol (A e B), sombreamento vermelho (C e D) e sombreamento azul (E e F). Setas indicam os estômatos (ES).

Nas seções transversais da folha, a epiderme da superfície adaxial foi mais espessa do que a epiderme abaxial e o parênquima esponjoso foi mais espesso do que o parênquima paliçádico (Tabela 4). Apesar de não ocorrerem diferenças significativas na espessura da epiderme adaxial e do parênquima paliçádico, observou-se maior espessamento do limbo foliar na condição de pleno sol (Figura 2 A, C, E), devido à combinação do maior espessamento da epiderme abaxial e do parênquima esponjoso nesta mesma condição (Tabela 4).

TABELA 4. Efeitos de diferentes regimes de luz na estrutura foliar de *Ocimum selloi*^a

Tratamentos	Pleno sol	Sombreamento vermelho	Sombreamento azul	Coefficiente de variação (%)
Espessura das camadas (cm)				
Limbo foliar	298,59 ± 11,31 ^A	245,64 ± 7,85 ^B	246,51 ± 4,87 ^B	10,12
Epiderme adaxial	29,44 ± 1,19 ^A	27,32 ± 1,17 ^A	28,20 ± 1,02 ^A	12,66
Parênquima Paliçádico	93,08 ± 4,20 ^A	78,87 ± 4,08 ^A	87,01 ± 3,65 ^A	14,59
Parênquima esponjoso	153,82 ± 8,65 ^A	121,14 ± 4,32 ^B	111,46 ± 3,39 ^B	14,53
Epiderme abaxial	22,27 ± 0,80 ^A	18,32 ± 0,50 ^B	20,01 ± 0,46 ^B	9,48

^a Resultados expressos em valores médios±erro padrão ($n = 10$). Médias dos tratamentos, seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

Os estômatos do tipo diacítico possuem praticamente o mesmo tamanho (Tabela 5) e estão posicionados no mesmo nível das demais células da epiderme, podendo ser encontrados nas duas faces foliares, mas em maior densidade na superfície abaxial, enquadrando a folha na classificação de hipoanfiestomática (Figura 1). O diâmetro polar dos estômatos nas duas faces foliares não variou em função dos tratamentos, mas o diâmetro equatorial na face abaxial foi maior nas plantas sombreadas com tela vermelha e, na face adaxial, foi maior nas plantas sombreadas com a tela azul. A densidade estomática foi influenciada pelos tratamentos, tendo o maior valor sido encontrado nas plantas mantidas a pleno sol (Tabela 5).

Em seção transversal (Figura 2), a folha de *O. selloi* possui conformação dorsiventral com epiderme unisseriada formada por células maiores na face adaxial em relação à face abaxial e mesofilo formado por uma camada de células no parênquima paliçádico e quatro a cinco camadas de células no parênquima esponjoso (Martins, 1998; Gonçalves, 2001). Em vista frontal, variações da sinuosidade nas paredes das células epidérmicas já foram registradas em *Mikania glomerata*, pelo efeito de variação no fotoperíodo (Castro et al., 2005).

A redução do espessamento foliar em condições de sombreamento parece ser um fenômeno generalizado entre as plantas e pode ser atribuída a diferentes fatores, como aumento da razão V:VD (Kasperbauer & Peaslee, 1973) ou decréscimo da intensidade luminosa (Buisson & Lee, 1993). Nas condições experimentais adotadas, em que não houve variação da razão V:VD entre os tratamentos, os resultados obtidos corroboram com o trabalho de Lee et al. (2000), ao afirmarem que o espessamento foliar é efeito apenas da intensidade luminosa, pois a qualidade espectral da luz não é capaz de afetar a contribuição das camadas de tecido no espessamento total da folha nem a composição do mesofilo.

TABELA 5. Efeitos de diferentes regimes de luz no tamanho e densidade dos estômatos nas folhas de *Ocimum selloi*^a

Tratamentos	Pleno sol	Sombreamento vermelho	Sombreamento azul	Coefficiente de variação (%)
Tamanho do estômato (μm)				
Epiderme abaxial				
Diâmetro polar	$28,13 \pm 0,49^A$	$28,87 \pm 0,63^A$	$28,47 \pm 0,42^A$	8,02
Diâmetro equatorial	$17,22 \pm 0,5^B$	$19,14 \pm 0,48^A$	$18,71 \pm 0,4^{AB}$	10,86
Epiderme adaxial				
Diâmetro polar	$29,98 \pm 0,27^A$	$30,56 \pm 0,56^A$	$31,08 \pm 0,37^A$	6,14
Diâmetro equatorial	$17,99 \pm 0,26^B$	$17,84 \pm 0,28^B$	$19,53 \pm 0,19^A$	5,88
Densidade de estômatos (mm^2)				
Epiderme abaxial	$283,84 \pm 18,22^A$	$232,38 \pm 6,72^B$	$201,82 \pm 11,21^B$	17,10
Epiderme adaxial	$123,02 \pm 6,35^A$	$105,33 \pm 5,28^{AB}$	$99,71 \pm 4,97^B$	16,10

^a Resultados expressos em valores médios \pm erro padrão ($n = 10$). Médias dos tratamentos, seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

A maior densidade estomática das plantas mantidas a pleno sol coincide com os resultados de Lee et al. (1997) para *Hopea odorata*, cuja densidade estomática foi maior com o aumento da intensidade luminosa. Segundo Buisson & Lee (1993), a redução da densidade estomática nos tratamentos de sombra neutra e filtrada, em relação à condição de pleno sol, confirma o efeito da intensidade de luz sobre esta característica.

De forma geral, os cloroplastos foram observados sempre próximos à parede celular (Figura 2 B, D, F). O número de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico e o seu tamanho não diferiram entre os tratamentos sombreados, que foram significativamente maiores do que na condição de pleno sol (Tabela 6). Foi observado maior número de grãos de amido nos cloroplastos das plantas mantidas a pleno sol e sombreadas com tela vermelha, mas o seu tamanho não variou entre os tratamentos (Tabela 6) (Figura 2 B, D, F). Nas plantas sombreadas com tela vermelha, constatou-se a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio nas células do mesofilo (dados não apresentados).

Os maiores número e tamanho de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico nos tratamentos sombreados ocorrem porque, geralmente, as folhas de plantas sombreadas são mais finas e possuem cloroplastos maiores e mais ricos em clorofila. Dessa forma, folhas “de sombra” investem maior energia na produção de pigmentos responsáveis pela captação de energia radiante, permitindo otimização na utilização da intensidade de luz incidente (Björkman et al., 1972).

O maior número de grãos de amido por cloroplasto nas plantas a pleno sol e sob tela vermelha pode ser justificado pelo fato de cloroplastos de folhas mantidas sob luz vermelha possuírem mais e maiores grãos de amido (Kasperbauer & Hamilton, 1984; Leong et al., 1985). A luz vermelha é um fator importante para o desenvolvimento do aparelho fotossintético e pode aumentar o

acúmulo de amido em várias espécies vegetais, pela inibição da translocação dos fotoassimilados para fora das folhas (Schuerger et al., 1997). A manipulação dos fitocromos influenciou a quantidade de fotoassimilados presentes na forma de grãos de amido nos cloroplastos (Kasperbauer & Hamilton, 1984), interferindo na translocação de carboidratos para as outras partes da planta.

Drusas e cristais de oxalato de cálcio também foram observados em células do caule e mesofilo de pimentão submetido ao tratamento controle e à luz V:A. Desconhece-se o possível papel da qualidade de luz na deposição de cristais de oxalato de cálcio, mas, segundo Schuerger et al. (1997), pode ser devido a um efeito indireto da luz azul na fotossíntese.

TABELA 6. Efeitos de diferentes regimes de luz nos cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliçádico de *Ocimum selloi*^a

Tratamentos	Pleno sol	Sombreamento vermelho	Sombreamento azul	Coefficiente de variação (%)
Cloroplastos				
Número	11,40 ± 0,98 ^B	15,90 ± 1,12 ^A	18,20 ± 0,96 ^A	21,34
Área (µm ²)	4,68 ± 0,12 ^B	6,49 ± 0,43 ^A	7,06 ± 0,51 ^A	17,22
Grãos de amido presents nos cloroplastos				
Número	1,6 ± 0,16 ^A	1,5 ± 0,16 ^A	0,8 ± 0,20 ^B	43,16
Área (µm ²)	1,18 ± 0,08 ^A	1,09 ± 0,21 ^A	1,10 ± 0,29 ^A	49,99

^a Resultados expressos em valores médios±erro padrão ($n = 10$). Médias dos tratamentos, seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$.

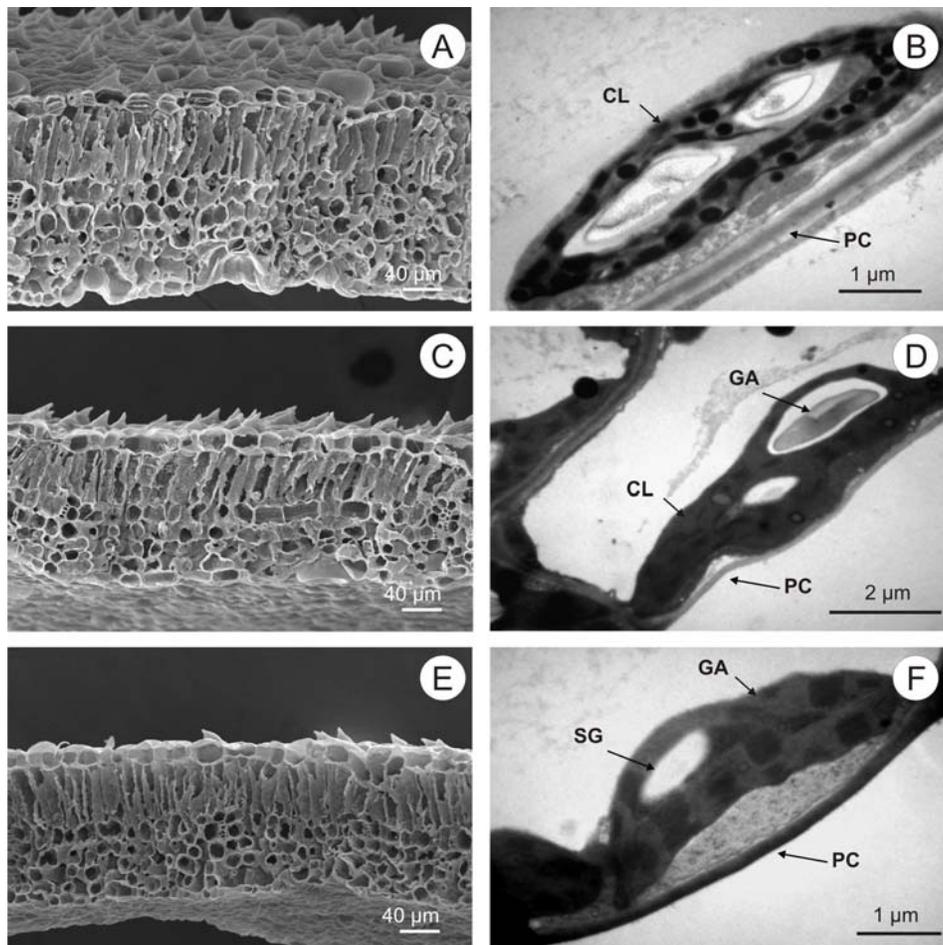


FIGURA 2. Eletromicrografias de varredura da seção transversal de folhas de *Ocimum selloi* (A, C e E) e eletromicrografias de transmissão, mostrando características dos cloroplastos (B, D e F), em plantas mantidas a pleno sol (A e B), sombreamento vermelho (C e D) e sombreamento azul (E e F). Setas indicam a parede celular (PC), grãos de amido (GA) e cloroplastos (CL).

6. CONCLUSÕES

Várias modificações na morfoanatomia de *O. selloi*, incluindo altura da planta, biomassa seca total e das partes raiz, caule, folha e inflorescências, relação R:PA, RPF, espessura foliar, densidade estomática, número e tamanho de cloroplastos por célula, resultaram da alteração da intensidade da luz. Entretanto, as variáveis AFT, AFE, RAF e o número de grãos de amido por cloroplasto foram influenciadas pela qualidade espectral da luz incidente (razão A:V). Plantas de *O. selloi* são mais afetadas pela intensidade luminosa do que pela qualidade espectral da luz.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas**. 2nded. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2003. 41p.

BJÖRKMAN, O.; BOARDMAN, N.K.; ANDERSON, J.M.; THORNE, S.W.; GOODCHILD, D.J.; PYLIOTIS, N.A. Effect of light intensity during growth of *Atriplex patula* on the capacity of photosynthetic reactions, chloroplast components and structure. **Carnegie Institution of Washington Yearbook**, v.71, p.115-135, 1972.

BROWN, C.S.; SCHUERGER, A.C.; SAGER, J.C. Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting. **Journal American Society Hort. Science**, v.120, p.808-813, 1995.

BUISSON, D.; LEE, D.W. The developmental responses of papaya leaves to simulated canopy shade. **American Journal Botany**, v. 80, p. 947-952, 1993.

CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; MELO, H.C.; SOARES, A.M.; ALVARENGA, A.A.; LIMA JÚNIOR, E.C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a diferentes fotoperíodos. **Hort. Bras.**, Brasília, v.23, p.846-850, 2005.

FERREIRA, M.M.; MOTA, M.B.; PINTO, J.E.P.B.; CASTRO, E.M. Crescimento e alocação e alocação de biomassa de planas de vinca (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) em função da adubação orgânica e época de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.6, p.72-76, 2004

GONÇALVES, L.A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2001. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

KASPERBAUER, M.J. Spectral distribution of light in a tobacco canopy and effects of end-of-day light quality on growth and development. **Plant Physiology**, Lancaster, v.47, p.775-778, 1971.

KASPERBAUER, M.J. Far-red light reflection from green leaves and effects on phytochrome-mediated assimilate partitioning under field conditions. **Plant Physiology**, Lancaster, v.8, p.350-354, 1987.

KASPERBAUER, M.J.; HAMILTON, J.L. Chloroplast structure and starch grain accumulation in leaves that received different red and far-red levels during development. **Plant Physiology**, Lancaster, v.74, p.967-970, 1984.

KASPERBAUER, M.J.; PEASLEE, D.E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that received end-of-day red or far red light during development. **Plant Physiology**, Lancaster, v.52, p.440-442, 1973.

KIM, S.J., HAHN, E.J., HEO, J., PAEK, K.Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro*. **Science Hort.**, v.101, p.143-151, 2004.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 2000. 319p.

LEE, D.W.; OBERBAUER, S.F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal Bot.**, v.87, p.447-455, 2000.

LEE, D.W.; OBERBAUER, S.F.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two Southeast Asian *Hopea* species. **Oecologia**, v.110, p.1-9, 1997.

LEONG, T.; GOODCHILD, D.J.; ANDERSON, J.M. Effect of light quality on the composition, function and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium australicum* (Sm.) Hook. **Plant Physiol.**, Lancaster, v. 78, p. 561-567, 1985.

LI, S.; RAJAPAKSE, N.C.; YOUNG, R.E.; OI, R. Growth responses of chrysanthemum and bell pepper transplants to photoselective plastic films. **Science Hort.**, v.84, p.215-225, 2000.

LOUGHRIN, J.H.; KASPERBAUER, M.J. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenol content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.49, p.1331-1335, 2001.

LOUGHRIN, J.H.; KASPERBAUER, M.J. Aroma content of fresh basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves is affected by light reflected from colored mulches. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.51, p.2272-2276, 2003.

MACEDO, A.F.; LAGE, C.L.; ESQUIBEL, M.A.; SOUZA, M.M.; SILVA, K.L.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V. Preliminary phytochemical and pharmacological studies on plantlets of *Alternanthera brasiliana* cultured under different spectral quality of lights. **Acta Farm. Bonaerense**, v.23, p.515-519, 2004.

MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu, SP: UNESP, 1998. v.2, p.97-126.

MCMAHON, M.J.; KELLY, J.W. Anatomy and pigments of chrysanthemum leaves developed under spectrally selective filters. **Science Hort.**, v.64, p.203-209, 1995.

MORAES, L.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, p.183-186, 2002.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E.E.; SPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; GILLER, Y.E.; SHAHAK, Y. Colored shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Hort. Science Biotech.**, v.76, p.353-361, 2001.

OYAERT, E.; VOLCKAERT, P.C.; DEBERGH, P.C. Growth of chrysanthemum under coloured plastic films with different light qualities and quantities. **Science Hort.**, v.79, p.195-205, 1999.

RAJAPAKSE, N.C.; POLLOCK, R.K.; MCMAHON, M.J.; KELLY, J.W.; YOUNG, R.E. Interpretation of light quality measurements and plant response in spectral filter research. **HortScience**, v.27, p.1208-1211, 1992.

RESHEF, G. **Basil culture under different shading nets**. Israel: Negev Agricultural Extension Bureau. Ein Habor Agricultural Colony, 2001.

SCHUERGER, A.C.; BROWN, C.S.; STRYJEWSKI, E.C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annual Bot.**, v.79, p.273-282, 1997.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E.E.; GAL, E.; GANELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Hort.**, v.659, p.143-151, 2004. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/659/659_17.htm Accessed in 16th May 2006>. Acesso em: 15 nov. 2006.

STUEFER, J.F.; HUBER, H. Differential effects of light quantity and spectral light quality on growth, morphology and development of two stoloniferous *Potentilla* species. **Oecologia**, v.117, p.1-8, 1998.

ARTIGO 6

ASPECTOS DA ANATOMIA FOLIAR DE *Ocimum selloi* BENTH. (LAMIACEAE), EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE QUALIDADE DE LUZ

(Publicado **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.1, p.6-8, 2007)

- NOTA CIENTÍFICA -

Larissa Corrêa do Bomfim Costa¹, Evaristo Mauro de Castro², José Eduardo Brasil Pereira Pinto³, Eduardo Alves⁴, Suzan Kelly Vilela Bertolucci⁵, Louise Ferreira Rosal⁶ e Carolina Mariane Moreira⁷

1. Professora Assistente do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz. Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, CEP 45662-000. E-mail: larissa@uesc.br. Estudante Doutorado do Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras. 2. Professor Adjunto do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000. 3. Professor Adjunto do Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000. 4. Professor Adjunto do Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000. 5. Professora Assistente do Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000. 6. Estudante Doutorado do Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000. 7. Estudante Graduação Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37, Lavras, MG, CEP 37200-000.

1. INTRODUÇÃO

Ocimum selloi Benth. é um subarbusto perene, nativo das regiões Sul e Sudeste do Brasil, conhecido popularmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran. A espécie possui largo uso popular como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório (Lorenzi & Matos, 2003), além da ação comprovada como repelente de insetos (Paula et al., 2003). Apesar da

confirmação dos efeitos da qualidade da luz sobre as plantas, inclusive no aspecto anatômico (Lee et al., 2000; Schuerger et al., 1997), as respostas são muito variáveis em função das espécies (Kim et al., 2004). Portanto, é necessário conhecer quais porções do espectro estão envolvidas nas respostas de cada planta (McMahon e Kelly, 1995).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o efeito da alteração do espectro de luz incidente, utilizando-se sombreamento com telas coloridas, sobre características da anatomia foliar de *Ocimum selloi*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Mudas obtidas de sementes foram transplantadas para vasos de 10 litros e cultivadas, por 90 dias, em casa de vegetação, sob os tratamentos de sombreamento com tela colorida ChromatiNet 50% vermelha, azul e pleno sol (sem tela).

As duas telas coloridas possuem espectros de transmitância distintos na faixa visível, com densidade da malha de 50% de sombreamento na região da radiação fotossinteticamente ativa. O espectro típico da tela azul apresenta um pico principal de transmitância na região do azul-verde (400-540 nm), enquanto a tela vermelha possui maior transmitância além de 590 nm (Oren-Shamir et al. 2001). A razão vermelho:vermelho distante (V:VD), principal fator regulatório das reações mediadas pelos fitocromos, não é muito alterada pelas telas coloridas. O fator de diferenciação mais importante entre as telas é a razão azul:vermelho (A:V), que é maior sob a tela azul e menor sob a tela vermelha (Shahak et al., 2006).

Para os estudos anatômicos, foi utilizada uma folha completamente expandida do segundo nó abaixo da inflorescência do ramo central de dez plantas diferentes.

Para o preparo do material de microscopia de luz realizaram-se seções transversais e paradérmicas da região mediana foliar, que seguiram os processos usuais de microtécnica vegetal: fixação em FAA 70%, por 72 horas, seguido por conservação em álcool 70%, clarificação com hipoclorito de sódio 50%, coloração com safrablau (transversais) e safranina (paradérmicos) e montagem em lâmina semipermanente com glicerina 50%. Nas seções transversais, com auxílio do programa de análise de imagens WinCELL Pro, foram feitas medições da epiderme em suas faces abaxial e adaxial, além dos parênquimas lacunoso e paliçádico; nas seções paradérmicas, foram determinados o diâmetro polar e equatorial dos estômatos e a densidade de estômatos e tricomas.

Paralelamente, prepararam-se amostras foliares para microscopia eletrônica de varredura. O material foi fixado primeiramente em solução fixativa (Karnovsky modificado), lavado em tampão cacodilato, pós-fixado em tetróxido de ósmio 1%, desidratado em série acetônica progressiva, submetido à secagem em ponto crítico e recoberto com ouro metálico sob alto vácuo para exame em microscópio eletrônico de varredura.

As amostras destinadas à microscopia de transmissão, depois de fixadas em solução de Karnovsky modificada e pós-fixadas com tetróxido de ósmio, foram contrastadas em bloco com acetato de uranila 0,5%, desidratadas em gradiente progressivo de acetona, incluídas em série crescente acetona/resina Spurr, montadas em moldes e polimerizadas em estufa a 70°C. Os blocos obtidos foram desbastados e cortados em seções ultrafinas (<100 nm) em ultramicrotomo com navalha de diamante. Os cortes foram pós-contrastados com acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo e examinados em microscópio eletrônico de transmissão. Nestas seções, determinaram-se o número e a área dos cloroplastos e grãos de amido em células do parênquima paliçádico.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e a

comparação de médias foi feita por meio do teste Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os tratamentos, a epiderme na face adaxial apresentou-se mais espessa do que na face abaxial e o parênquima lacunoso foi mais espesso do que o parênquima paliçádico. Não foram observadas diferenças significativas na espessura da epiderme da face adaxial e do parênquima paliçádico, entretanto, houve um aumento da espessura do limbo foliar na condição de pleno sol. Isso ocorreu em função da somatória da maior espessura da epiderme da face abaxial e do parênquima lacunoso nesta mesma condição (Tabela. 1). Segundo Lee et al. (2000), o espessamento foliar é efeito apenas da intensidade luminosa, pois a qualidade espectral da luz não é capaz de afetar a contribuição das camadas de tecido no espessamento total da folha nem a composição do mesofilo.

TABELA 1. Espessura do limbo e tecidos foliares de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida. LF, limbo foliar; AD, epiderme da face adaxial; PP, parênquima paliçádico; PL, parênquima lacunoso; AB, epiderme da face abaxial.

Tratamento	LF	AD	PP	PL	AB
Espessura (µm)					
Sol	298,59±11,31 ^a	29,44±1,19 ^a	93,08±4,20 ^a	153,82±8,65 ^a	22,27±0,80 ^a
Vermelho	245,64±7,85 ^b	27,32±1,17 ^a	78,87±4,08 ^a	121,14±4,32 ^b	18,32±0,50 ^b
Azul	246,51±4,87 ^b	28,020±1,02 ^a	87,01±3,65 ^a	111,46±3,39 ^b	20,01±0,46 ^b
CV (%)	10,12	12,66	14,59	14,53	9,48

Médias dos tratamentos (±EP), seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey a $P \leq 0,05$ (n=10).

Os estômatos do tipo diacítico estão posicionados no mesmo nível das demais células da epiderme (Figura 1) e podem ser encontrados nas duas faces foliares praticamente com o mesmo tamanho, mas em maior densidade na superfície abaxial, o que enquadra a folha na classificação de hipoanfiestomática (Gonçalves, 2001). O diâmetro polar dos estômatos nas duas faces foliares não variou em função dos tratamentos, mas o diâmetro equatorial na face abaxial foi maior nas plantas sombreadas com tela vermelha e na face adaxial foi maior naquelas plantas sombreadas com a tela azul (Tabela 2).

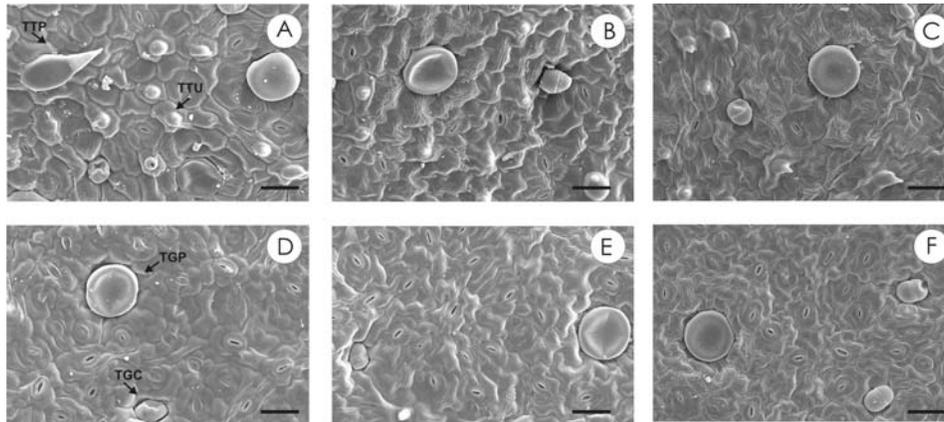


FIGURA 1. Eletromicrografia de varredura da superfície adaxial (A) sol, (B) vermelho, (C) azul e abaxial (D) sol, (E) vermelho, (F) azul. TGP, tricoma glandular peltado; TGC, tricoma glandular capitado; TTP, tricoma tector pluricelular; TTU, tricoma tector unicelular. Barra = 40 μm .

A densidade estomática foi maior nas plantas mantidas a pleno sol (Tabela 2), corroborando os resultados encontrados para *Hopea odorata*, cuja densidade estomática foi maior com o aumento da intensidade luminosa (Lee et al., 1997). A redução da densidade estomática nos tratamentos de sombra neutra

e filtrada, em relação à condição de pleno sol, comprova o efeito da intensidade de luz sobre esta característica (Buisson & Lee, 1993).

TABELA 2. Tamanho dos estômatos e densidade estomática de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida.

Tratamento	Estômatos					
	Diâmetro (μm)				Densidade (estômatos. mm^{-2})	
	Abaxial		Adaxial		Abaxial	Adaxial
	Polar	Equatorial	Polar	Equatorial		
Sol	28,13 \pm 0,49 ^a	17,22 \pm 0,5 ^b	29,98 \pm 0,27 ^a	17,99 \pm 0,26 ^b	283,84 \pm 18,22 ^a	123,02 \pm 6,35 ^a
Vermelho	28,87 \pm 0,63 ^a	19,14 \pm 0,48 ^a	30,56 \pm 0,56 ^a	17,84 \pm 0,28 ^b	232,38 \pm 6,72 ^b	105,33 \pm 5,28 ^{ab}
Azul	28,47 \pm 0,42 ^a	18,71 \pm 0,4 ^{ab}	31,08 \pm 0,37 ^a	19,53 \pm 0,19 ^a	201,82 \pm 11,21 ^b	99,71 \pm 4,97 ^b
CV (%)	8,02	10,86	6,14	5,88	17,10	16,10

Médias dos tratamentos (\pm EP), seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey a $P \leq 0,05$ ($n=20$).

O número de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico e o seu tamanho foram significativamente maiores nos tratamentos sombreados (Tabela 3). A exposição à luz vermelha e vermelha distante, durante o crescimento e o desenvolvimento foliar, influencia significativamente o desenvolvimento dos cloroplastos para garantir uma sobrevivência mais eficiente das plantas (Kasperbauer & Hamilton, 1984), além da quantidade de luz azul presente também estar correlacionada com o número de cloroplastos (Schuerger et al, 1997).

Observou-se maior número de grãos de amido nos cloroplastos das plantas mantidas a pleno sol e sombreadas com tela vermelha, mas o seu tamanho não variou entre os tratamentos (Tabela 3).

TABELA 3. Número e tamanho de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico e grãos de amido por cloroplasto de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida.

Tratamento	Cloroplastos		Amido	
	Número	Área (μm^2)	Número	Área (μm^2)
Sol	11,40 \pm 0,98 ^b	4,68 \pm 0,12 ^b	1,6 \pm 0,16 ^a	1,18 \pm 0,08 ^a
Vermelho	15,90 \pm 1,12 ^a	6,49 \pm 0,43 ^a	1,5 \pm 0,16 ^a	1,09 \pm 0,21 ^a
Azul	18,20 \pm 0,96 ^a	7,06 \pm 0,51 ^a	0,8 \pm 0,20 ^b	1,10 \pm 0,29 ^a
CV (%)	21,34	17,22	43,16	49,99

Médias dos tratamentos (\pm EP), seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey a $P \leq 0,05$ (n=10).

Os cloroplastos das folhas que recebem luz vermelha possuem mais e maiores grãos de amido (Leong et al., 1985) do que as folhas submetidas à luz vermelha distante (Kasperbauer & Hamilton, 1984).

Tricomas glandulares peltados e capitados foram observados nas duas faces foliares, enquanto a ocorrência de tricomas tectores unicelulares e pluricelulares foi verificada apenas na face adaxial da folha (Figura 1). Em todos os tratamentos, a densidade de tricomas glandulares peltados é maior na superfície adaxial, mas os tricomas capitados estão quase sempre em maior número na face abaxial, exceto no tratamento com sombreamento azul, em que é praticamente igual. Na condição de pleno sol, a presença dos dois tipos de tricomas glandulares nas duas faces foliares foi significativamente maior (Tabela 4).

Os tricomas podem apresentar um valor adaptativo para muitos propósitos, entre eles o balanço energético pela diminuição da absorção de radiação de ondas curtas para manter a folha mais fresca (Gutschick, 1999).

TABELA 4. Densidade de tricomas tectores e glandulares nas duas superfícies foliares de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida. TGP, tricoma glandular peltado; TGC, tricoma glandular capitado; TTP, tricoma tector pluricelular; TTU, tricoma tector unicelular.

Tratamento	Densidade de tricomas (tricomas.mm ⁻²)					
	Abaxial			Adaxial		
	TGP	TGC	TGP	TGC	TTP	TTU
Sol	15,12±1,25 ^a	24,43±1,82 ^a	22,79±1,05 ^a	17,30±1,93 ^a	8,23±1,39 ^a	162,00±10,57 ^a
Vermelho	5,75±1,19 ^b	18,95±1,69 ^{ab}	15,95±1,05 ^b	10,71±1,49 ^b	5,77±1,32 ^a	103,25±5,69 ^b
Azul	9,61±1,25 ^b	18,14±1,26 ^b	14,83±2,08 ^b	19,50±1,68 ^a	8,78±1,92 ^a	138,93±5,12 ^a
CV (%)	47,01	30,32	32,03	41,87	80,15	21,67

Médias dos tratamentos (±EP), seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey a $P \leq 0,05$ (n=15).

4. CONCLUSÕES

As alterações encontradas na espessura foliar, na densidade de estômatos e nos tricomas podem ser atribuídas, principalmente, ao fator intensidade de luz, enquanto que o número de cloroplastos e de grãos de amido pode ter sido influenciado pela qualidade da radiação incidente (razão A:V).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUISSON, D.; LEE, D.W. The developmental responses of papaya leaves to simulated canopy shade. **American Journal of Botany**, v.80, n. 8, p. 947-952, 1993.

GONÇALVES, L.A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2001. 95f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GUTSCHICK, V.P. Research reviews: biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. **New Phytol.**, v.143, p.3-18, 1999.

KASPERBAUER, M.J.; HAMILTON, J.L. Chloroplast structure and starch grain accumulation in leaves that received different red and far-red levels during development. **Plant Physiology**, Lancaster, v.74, p. 967-970, 1984.

KIM, S-J.; HAHN, E-J.; HEO, J.; PAEK, K-Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, v.101, p.143-151, 2004.

LEE, D.W.; OBERBAUER, S.F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, v. 87, n.4, p.447-455, 2000.

LEE, D.W.; OBERBAUER, S.F.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two Southeast Asian *Hopea* species. **Oecologia**, v.110, p.1-9, 1997.

LEONG, T.; GOODCHILD, D.J.; ANDERSON, J.M. Effect of light quality on the composition, function and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium australicum* (Sm.) Hook. **Plant Physiology**, Lancaster, v.78, p. 561-567, 1985.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 254p.

MCMAHON, M.J.; KELLY, J.W. Anatomy and pigments of chrysanthemum leaves developed under spectrally selective filters. **Scientia Horticulturae**, v.64, p.203-209, 1995.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E.E.; SPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; GILLER, Y.E.; SHAHAK, Y. Colored shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Hort. Science Biotech.**, v.76, p.353-361, 2001.

PAULA, J.P.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Chemical composition, toxicity and mosquito repelency of *Ocimum selloi* oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.253-260, 2003.

SCHUERGER, A.C.; BROWN, C.S.; STRYJEWSKI, E.C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, v.79, p.273-282, 1997.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E.E.; GAL, E.; GANELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Hort.**, v.659, p.143-151, 2004. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/659/659_17.htm>. Acesso em: 16 maio 2006.

ARTIGO 7

TRICOMAS FOLIARES, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum selloi* CULTIVADA SOB TELAS COLORIDAS

(Aceito pela Revista **Journal of Essential Oil Research**)

Larissa C. B. COSTA¹, José E. B. P. PINTO², Evaristo M. CASTRO³, Eduardo ALVES⁴, Louise F. ROSAL², Suzan K. V. BERTOLUCCI², Péricles B. ALVES⁵ and Tamara S. EVANGELINO⁵

¹Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brazil. ²Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brazil. ³Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brazil. ⁴Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brazil. ⁵Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, SE, Brazil.

1. RESUMO

O sombreamento com telas coloridas aperfeiçoa a utilização da radiação solar através da filtração seletiva da luz modificando a qualidade da radiação natural incidente. O uso destas telas visa principalmente otimizar algumas respostas fisiológicas desejáveis na planta, que podem ser variáveis em função de cada espécie. O objetivo neste trabalho foi verificar o efeito do sombreamento de *Ocimum selloi* com telas coloridas sobre a densidade de tricomas, rendimento e composição do óleo essencial. Plantas de elixir-paregórico foram cultivadas por 90 dias em vasos distribuídos inteiramente ao acaso sob três tratamentos de sombreamento com tela colorida do tipo Cromatinet (50%) vermelha, azul e pleno sol (sem tela). Observou-se maior densidade dos tricomas glandulares na condição de pleno sol. Não houve efeito dos tratamentos sobre o teor de óleo essencial, mas o maior rendimento foi obtido nas plantas cultivadas a pleno sol, em função do maior acúmulo de biomassa seca das folhas. A composição química do óleo essencial foi sensível à qualidade da luz incidente, sendo que o maior teor de metil-chavicol foi obtido a pleno sol.

Palavras-chave: *Ocimum selloi* Benth., Lamiaceae, planta medicinal, telas coloridas, qualidade da luz, composição do óleo essencial, metil chavicol

2. ABSTRACT

Leaf, trichomes, yield and composition of the essential oil of *Ocimum selloi* Benth. cultivated under colored netting. Shading with coloured plastic netting modifies the quality of natural radiation by selective filtration and may be employed as a means of manipulating physiological responses in plants. The objective of the present work was to determine the effects of coloured shading on the density of glandular and tectorial trichomes, and on the yield, productivity and composition of the essential oil of *Ocimum selloi* Benth. Plants were cultivated for 90 days under full sunlight or under ChromatiNet[®] 50% red or blue netting. The highest density of glandular trichomes was observed in plants that had received full sunlight. None of the light treatments altered the yield of essential oil, although productivity was higher in plants grown under full sunlight by virtue of the greater leaf biomass that accumulated under such conditions. The compositions of the essential oils varied according to the quality of light. Whilst the qualitative profiles of the oils of plants grown under full sunlight or red shading were similar, that obtained from plants grown under blue shading presented a larger number of constituents. The highest level of methyl chavicol, the major component of the essential oil, was observed in plants grown under full sunlight.

Key Word Index. *Ocimum selloi* Benth.; Lamiaceae; medicinal plant; coloured netting; light quality; essential oil composition; methyl chavicol

3. INTRODUÇÃO

Ocimum selloi Benth. é um subarbusto perene, nativo das regiões Sul e Sudeste do Brasil, conhecido popularmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran. A espécie possui largo uso popular como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório (Lorenzi & Matos, 2003), ação comprovada como repelente de insetos (Paula et al., 2003), além de ser uma fonte potencial de estragol e metileugenol (Martins et al., 1997).

Os óleos essenciais são substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas, constituindo matéria-prima de grande importância para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia. Presentes em diferentes partes das plantas

(folhas, flores, madeiras, ramos, galhos, frutos, rizomas), são compostos formados por várias substâncias químicas - como álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e hidrocarbonetos - havendo sempre a prevalência de uma ou duas delas, que assim irão caracterizar os aromas. São sintetizados e armazenados em diferentes estruturas secretoras especializadas, tais como: tricomas, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Simões & Spitzer, 2000). Em *Ocimum selloi*, os óleos essenciais são armazenados em tricomas glandulares (Gonçalves, 2001).

As plantas podem detectar alterações no balanço espectral do ambiente e fazer ajustes fisiológicos e morfológicos por meio dos fitocromos (Li et al., 2000), promovendo adaptações necessárias à sobrevivência em diferentes ambientes (Kasperbauer & Hamilton, 1984). Apesar da confirmação dos efeitos da qualidade espectral sobre as plantas, as respostas são muito variáveis em função das espécies (Kim et al., 2004), portanto, a utilização efetiva de filtros espectrais como reguladores do crescimento de plantas depende do conhecimento de quais faixas do espectro estão envolvidas nas respostas de crescimento de cada planta (McMahon & Kelly, 1995).

A manipulação da qualidade espectral pode ser obtida pela utilização de fontes de luz colorida artificial suplementar (Brown et al., 1995), filmes plásticos coloridos (Oyaert et al., 1999), filtros espectrais (Rajapakse et al., 1992) ou o revestimento do solo com coberturas plásticas coloridas reflexivas (Loughrin & Kasperbauer, 2001; Loughrin & Kasperbauer, 2003). Uma nova técnica utiliza telas plásticas coloridas com propriedades óticas variadas que são capazes de modificar a intensidade e a qualidade da luz solar transmitida (Oren-Shamir et al., 2001). Além de oferecer a proteção física normal contra radiação excessiva, pragas e desequilíbrios ambientais, o uso dessas telas objetiva, principalmente, otimizar algumas respostas fisiológicas desejáveis na planta (Shahak et al., 2004a; Shahak et al., 2004b).

A quantidade e a composição do óleo essencial de uma planta medicinal podem variar em função do estágio de desenvolvimento da planta, dos tratamentos culturais adotados, das condições de cultivo e do próprio ambiente. Algumas rotas metabólicas de compostos secundários podem acompanhar as respostas morfogênicas das plantas tratadas com luz (Macedo et al., 2004). Apesar disso, estudos voltados para a influência da qualidade da luz no crescimento das plantas medicinais e produção de metabólitos secundários são recentes (Loughrin & Kasperbauer, 2001; Loughrin & Kasperbauer, 2003; Macedo et al., 2004; Ioannidis et al., 2002; Reshef, 2001; Schuerger, 1997; Van Hinsberg & Van Tienderen, 1997).

Com a realização deste trabalho objetivou-se verificar o efeito do sombreamento com telas coloridas sobre a densidade de tricomas foliares, teor, rendimento e composição química do óleo essencial de *Ocimum selloi*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Cultivo das plantas

O ensaio foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), entre os meses de novembro de 2005 e janeiro de 2006. Sementes de *O. selloi* (depósito herbário ESAL n° 7474 identificado por U.P. Albuquerque) foram plantadas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células, preenchidas com substrato comercial Plantmax® e mantidas em casa de vegetação sob nebulização intermitente por 60 dias. As mudas foram transplantadas para vasos de 10 litros preenchidos com um substrato de mistura terriço, esterco curtido bovino e areia, na proporção de 5:3:2 e submetidas aos tratamentos de sombreamento com tela colorida ChromatiNet® vermelha, azul e pleno sol (sem tela).

4.2. Características espectrais das telas coloridas

As duas telas coloridas (ChromatiNet[®] 50%; Polysack Industrias, Leme, SP, Brasil) possuem espectros de transmitância distintos na faixa visível com densidade da malha de 50% de sombreamento na região da radiação fotossinteticamente ativa.

O espectro típico da tela azul apresenta uma banda principal de transmitância na região do azul-verde (400-540 nm), enquanto a tela vermelha possui maior transmitância além de 590 nm (Oren-Shamir et al., 2001). A razão vermelho:vermelho distante (V:VD), principal fator regulatório das reações mediadas pelos fitocromos, não é muito alterada pelas telas coloridas. O fator de diferenciação mais importante entre as telas é a razão azul:vermelho (A:V), que é maior sob a tela azul e menor sob a tela vermelha (Shahak et al., 2004b).

A intensidade média de radiação em cada tratamento foi medida por meio de um Sensor Li-Cor LI-185A, às 13 horas, obtendo-se os seguintes valores: pleno sol = 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, tela vermelha = 690 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e tela azul = 650 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

4.3. Anatomia foliar

Após 90 dias de cultivo, foi colhida uma folha completamente expandida do segundo nó abaixo da inflorescência do ramo central de dez plantas diferentes de cada tratamento, das quais foram obtidas amostras da região mediana do limbo foliar. Para as análises em microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram fixadas primeiramente em solução fixativa Karnovsky modificada (glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl_2 0,001M), lavadas em tampão cacodilato e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%. Em seguida, o material foi desidratado em série acetônica progressiva, secado em aparelho de ponto crítico Balzers CPD 030, fixado em suportes de alumínio (stubs) com fita de carbono

dupla face e recoberto com ouro metálico sob alto vácuo em evaporador Balzers SCD 050. As duas faces da folha foram examinadas e eletromicrografadas em microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40 VP, em que foi avaliada a densidade de tricomas tectores e glandulares.

4.4. Óleo essencial

O óleo essencial das folhas foi extraído pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando-se 40g de massa seca de folhas, em 500 mL de água destilada, por 90 minutos. Em seguida, realizou-se uma partição líquido-líquido, em funil de separação, no qual foi adicionado diclorometano ao hidrolato para a separação do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso para retirar possíveis resíduos de umidade. Após um período em repouso, a solução foi filtrada e armazenada à temperatura ambiente em frascos de vidro escuro parcialmente tampados, para permitir a evaporação do restante do solvente. As características avaliadas para a produção de óleo essencial foram o teor e o rendimento na biomassa seca das folhas (BSF). O teor de óleo foi obtido diretamente como porcentagem ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ BSF) e o rendimento de óleo foi calculado por meio do teor multiplicado pelo valor médio de BSF da planta ($\text{g} \cdot \text{planta}^{-1}$).

4.5. Cromatografia gasosa

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe, por meio de uma amostra composta pela reunião dos óleos essenciais das seis repetições de cada tratamento. As amostras de óleo foram analisadas por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu 17 A, equipado com detector de ionização de chama (FID) e também por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), em

aparelho Shimadzu QP5050A. As condições cromatográficas, em ambas as análises, foram coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária DB-5MS (30 m x 0,2 mm x 0,25µm de espessura de filme); He nas análises por CG-EM como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL/min. A temperatura foi programada mantendo-se 50°C por 1,5 minutos, aumentando para 200°C, a 4° C/min, então aquecendo para 300°C, a 10° C/min e mantendo-se esta temperatura constante por 10 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente; o volume de injeção foi 0,2 µL solução em etil acetato, com velocidade de arraste de 1,5 mL/min. As condições do EM foram detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV. A velocidade de varredura foi de 0,5 scan/seg de 40 a 550 *m/z*. Cada componente foi identificado por meio da comparação do seu espectro de massas com espectros existentes na literatura (Adams, 1995) e pela comparação computadorizada do espectro de massa com o banco de dados da biblioteca NIST (Stein, 2005) e outros espectros de massa publicados (Van Den Dool & Kratz, 1963). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando-se curva de calibração de uma série de *n*-alcanos (C₈-C₁₈) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. A concentração dos constituintes foi calculada por meio da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise utilizando cromatógrafo a gás com detector de ionização de chamas (FID).

4.6. Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com sete repetições e duas plantas por parcela. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias por meio do teste Tukey, a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Influência da luz na densidade dos tricomas foliares

Na família Lamiaceae são encontrados, basicamente, dois tipos de tricomas glandulares constituídos por uma célula basal, um pedúnculo curto e uma cabeça grande formada por seis a oito células, no caso dos tricomas peltados, ou uma cabeça pequena formada por uma a duas células, no caso dos tricomas capitados (Svoboda & Svoboda, 2000). *Ocimum selloi* possui tricomas peltados com quatro células na cabeça e tricomas capitados com duas células no ápice, localizados em depressões na epiderme (Gonçalves, 2001; Martins, 1998).

Tricomas glandulares peltados e capitados foram observados nas duas faces foliares, enquanto a ocorrência de tricomas tectores unicelulares e pluricelulares foi verificada apenas na face adaxial da folha (Figura 1). Em todos os tratamentos, a densidade de tricomas glandulares peltados foi maior na face adaxial, mas os tricomas capitados foram observados quase sempre em maior número na face abaxial, exceto no tratamento com tela azul, em que é praticamente igual (Tabela 1). Além disso, na face adaxial, foram observados poucos tricomas tectores pluricelulares, cuja densidade não variou em função dos tratamentos e um maior número de tricomas tectores unicelulares na condição de pleno sol e sombreamento com tela azul (Tabela 1).

Os tricomas glandulares peltados, possivelmente os maiores responsáveis pela produção de óleo essencial em *O. selloi*, foram influenciados pela intensidade da luz incidente, tendo sido encontrados em maior quantidade nas duas faces foliares, na condição de pleno sol.

Tricomas podem apresentar valor adaptativo para muitos propósitos, entre eles, o balanço energético pela diminuição da absorção de radiação de ondas curtas para manter a temperatura da folha mais baixa (Gutschick, 1999).

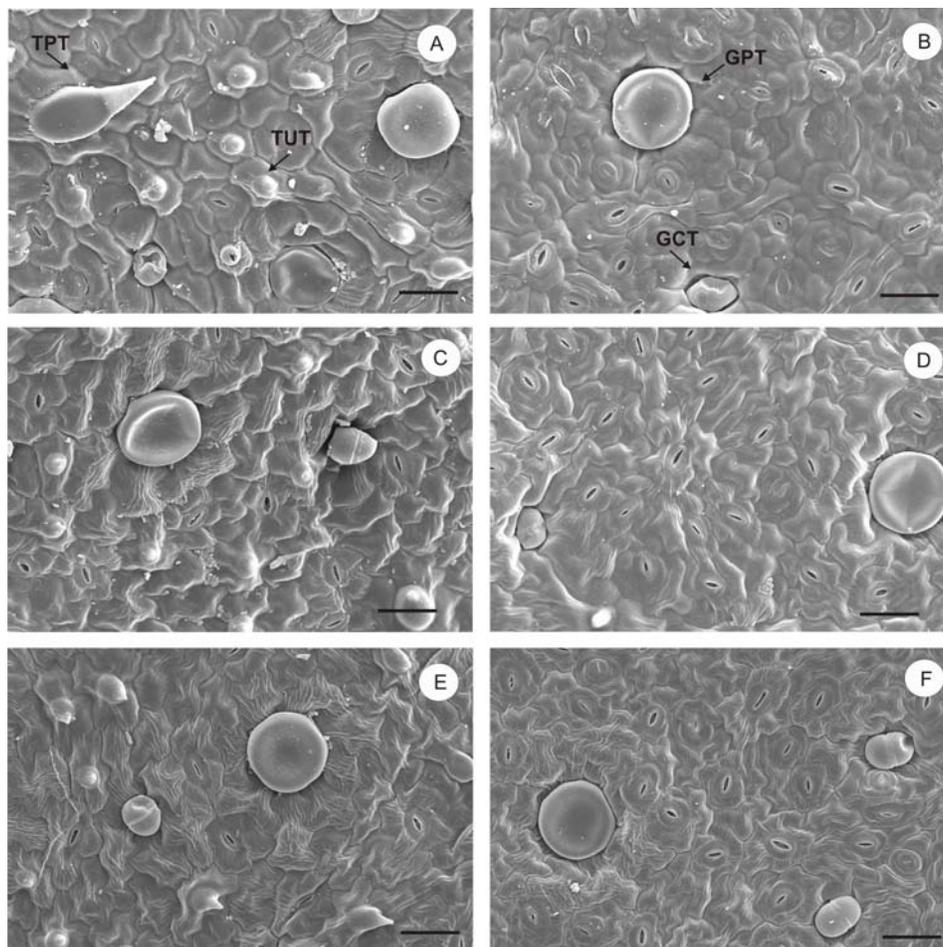


FIGURA 1. Eletromicrografias de varredura da superfície adaxial (A) sol, (C) vermelho e (E) azul e da superfície abaxial (B) sol, (D) vermelho e (F) azul em folhas de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida. (TTP = tricoma tector pluricelular; TTU = tricoma tector unicelular; TGP = tricoma glandular peltado; TGP = tricoma glandular capitado). Barra = 40 μm .

Há escassez de informações a respeito dos efeitos da luz sobre os tricomas, mas sabe-se que a radiação UV-B (280-320 nm) não influencia o número de glândulas, nem a composição quantitativa ou qualitativa dos óleos essenciais, mas parece que há um requerimento desta faixa de radiação para o enchimento dos tricomas glandulares (Ioannidis et al., 2002).

TABELA 1. Densidade de tricomas tectores e glandulares nas duas superfícies foliares de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida. (TGP = tricoma glandular peltado; TGC = tricoma glandular capitado; TTP = tricoma tector pluricelular; TTU = tricoma tector unicelular).

Tratamento	Sol	Vermelho	Azul
Abaxial			
TGP	15,12±1,25 ^a	5,75±1,19 ^b	9,61±1,25 ^b
TGC	24,43±1,82 ^a	18,95±1,69 ^{ab}	18,14±1,26 ^b
Adaxial			
TGP	22,79±1,05 ^a	15,95±1,05 ^b	14,83±2,08 ^b
TGC	17,30±1,93 ^a	10,71±1,49 ^b	19,50±1,68 ^a
TTP	8,23±1,39 ^a	5,77±1,32 ^a	8,78±1,92 ^a
TTU	162,00±10,57 ^a	103,25±5,69 ^b	138,93±5,12 ^a

Médias dos tratamentos (\pm EP), seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$ (n=15).

5.2. Influência da luz na composição do óleo essencial

Não houve efeito dos tratamentos sobre o teor de óleo essencial (Tabela 2), da mesma forma que estudos anteriores com diferentes intensidades de radiação solar também não alteraram o teor de óleo de *O. selloi* (Gonçalves et

al., 2003). A maior densidade de tricomas glandulares peltados a pleno sol não refletiu em maior potencial de produção de óleo essencial pela planta, uma vez que fatores externos, como alta temperatura ou baixa umidade relativa do ar, podem romper a cutícula dos tricomas, promovendo maiores perdas de secreção (Ascensão et al., 1995).

O rendimento de óleo essencial é função de sua concentração no tecido e da produção de biomassa vegetal. Nas condições experimentais, foi observada diferença no rendimento de óleo entre os tratamentos, tendo o maior valor sido obtido nas plantas cultivadas a pleno sol, em função do maior acúmulo de biomassa seca das folhas de *O. selloi* nesta condição (Tabela 2). Os sombreamentos com tela colorida limitaram sensivelmente o rendimento de óleo essencial, reduzindo em até 28% o seu valor sob a tela vermelha e 64% sob a tela azul, relacionado diretamente com as alterações observadas na massa seca.

TABELA 2. Biomassa seca foliar (BSF), teor e rendimento médio de óleo essencial de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida.

Tratamento	Sol	Vermelho	Azul	CV (%)
BSF (g)	24,86 ±0,6 ^a	19,52 ±0,4 ^b	11,24 ±0,8 ^c	11,10
Teor (g.100 g ⁻¹ BSF)	1,08 ±0,09 ^a	0,95 ±0,07 ^a	0,85 ±0,07 ^a	19,71
Rendiemnto (g. planta ⁻¹)	0,25 ±0,02 ^a	0,18 ±0,01 ^b	0,09 ±0,01 ^c	21,18

Médias dos tratamentos (±EP), seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a $P \leq 0,05$ (n=6).

Plantas mantidas sob luz vermelha requerem uma radiação suplementar, especialmente no espectro do azul para o seu crescimento e desenvolvimento normais (Brown et al., 1995). A menor produção de biomassa seca total de

plantas cultivadas sob filme plástico azul pode ser o resultado de um decréscimo na taxa de assimilação de CO₂ (Oyaert et al., 1999). A luz azul ou a interação do azul com outros comprimentos de onda são fatores críticos na determinação da resposta fotomorfogênica das plantas (Brown et al., 1995; Rajapakse et al., 1992). Pesquisas de cultivo de *Ocimum basilicum* com revestimento do solo por coberturas plásticas coloridas confirmam que a cor da luz refletida pode afetar o tamanho e o aroma das folhas e a concentração de fenóis solúveis (Loughrin & Kasperbauer, 2001; Loughrin & Kasperbauer, 2003). Comparando-se o efeito de telas neutras (preta, aluminet) e coloridas (amarela, pérola e vermelha) no cultivo de *O. basilicum*, constata-se que os maiores rendimentos foram obtidos sob a tela vermelha (Reshef, 2001). Apesar disso, considerando-se que parâmetros de produção, como quantidade de biomassa seca, são influenciados principalmente pela intensidade de luz (Stuefer & Huber, 1998), pode-se concluir que, neste trabalho, a maior intensidade luminosa na condição de pleno sol foi o fator mais importante para o incremento no rendimento de óleo essencial.

Quanto à sua composição química, três acessos de *O. selloi* já foram descritos, sendo o primeiro rico em metil-chavicol, o segundo em metil-eugenol (Martins et al., 1997) e o terceiro em anetol (Moraes et al., 2002), constituindo diferentes quimiotipos. O componente majoritário encontrado no óleo essencial das folhas de *O. selloi* neste trabalho foi o metil-chavicol (estragol), concordando com a primeira descrição (Martins et al., 1997), estando sempre em elevadas proporções, com teor acima de 86%.

Houve influência da qualidade espectral da luz sobre a composição química do óleo essencial de *O. selloi* (Tabela 3), corroborando com estudos anteriores com *O. basilicum* (Loughrin & Kasperbauer, 2001; Loughrin & Kasperbauer, 2003). A maior concentração de metil-chavicol foi obtida na condição de pleno sol (93,24%), seguida por um relativo decréscimo nas telas

vermelha e azul. A análise do óleo resultou na identificação de 13 compostos, cuja presença variou entre os tratamentos. A composição química do óleo essencial nas plantas a pleno sol e sob tela vermelha apresentou similaridade, com exceção do espatulenol que esteve ausente no óleo das plantas sob tela vermelha. Por outro lado, sob tela azul, o óleo essencial apresentou número maior de constituintes químicos, possivelmente pela interferência da maior razão azul:vermelho neste ambiente (Tabela 3).

TABELA 3. Porcentagem da área relativa dos picos correspondentes dos principais constituintes químicos do óleo essencial de *Ocimum selloi*, em função dos tipos de sombreamento com tela colorida. (IK = Índice de Kovats).

Composto	IK	Sol	Vermelho	Azul
		Área relativa (%)		
Metil-chavicol	1198	93,24	87,56	86,15
α -copaeno	1375	-	-	0,22
Metil eugenol	1397	0,62	1,12	1,11
β-cariofileno	1418	2,22	2,37	2,01
α -trans-bergamoteno	1432	-	-	0,33
α -humuleno	1454	-	-	0,17
Germacreno-D	1480	1,33	3,50	2,91
Biciclogermacreno	1494	1,21	4,38	3,26
β -bisaboleno	1506	-	-	0,20
γ -cadineno	1517	-	-	0,33
Germacreno B	1558	-	-	0,05
p-metoxi-cinamaldeído	1567	-	-	0,15
Espatulenol	1575	1,27	-	1,79

O decréscimo no teor de metil-chavicol nas plantas sombreadas foi acompanhado por um incremento nos teores de germacreno-D e biciclogermacreno, em comparação com a condição de pleno sol, sugerindo uma resposta de defesa química da planta em condições de qualidade de luz menos favoráveis ao seu desenvolvimento.

6. CONCLUSÕES

Foi verificada a interferência da intensidade e da qualidade espectral da luz sobre a densidade de tricomas foliares, o rendimento e a composição química do óleo essencial de *Ocimum selloi*, reafirmando a importante influência do meio ambiente sobre a produção de metabólitos secundários.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 698p.

ASCENSÃO, L.; MARQUES, N.; PAIS, M.S. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonorus* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v.75, p.619-626, 1995.

BROWN, C.S.; SCHUERGER, A.C.; SAGER, J.C. Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting. **Journal American Soc. Hort. Science**, v.120, p.808-813, 1995.

GONÇALVES, L.A.; BARBOSA, L.C.A.; AZEVEDO, A.A.; CASALI, V.W.D.; NASCIMENTO, E.A. Produção e composição do óleo essencial de Alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.6, p.8-14, 2003.

GONÇALVES, L.A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2001. 95p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GUTSCHICK, V.P. Research reviews: biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. **New Phytology**, v.143, p.3-18, 1999.

IOANNIDIS, D.; BONNER, L.; JOHNSON, C.B. UV-B required for normal development of oil glands in *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). **Annals of Botany**, v.90, p.453-460, 2002.

KASPERBAUER, M.J.; HAMILTON, J.L. Chloroplast structure and starch grain accumulation in leaves that received different red and far-red levels during development. **Plant Physiology**, Lancaster, v.74, p.967-970, 1984.

KIM, S.-J., HAHN, E.-J., HEO, J., PAEK, K.-Y. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro*. **Science Hort.**, v.101, p.143-151, 2004.

LI, S.; RAJAPAKSE, N.C.; YOUNG, R.E.; OI, R. Growth responses of chrysanthemum and bell pepper transplants to photoselective plastic films. **Science Hort.**, v.84, p.215-225, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 254p.

LOUGHRIN, J.H.; KASPERBAUER, M.J. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenol content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.49, p.1331-1335, 2001.

LOUGHRIN, J.H.; KASPERBAUER, M.J. Aroma content of fresh basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves is affected by light reflected from colored mulches. **Journal Agricultural Food Chem.**, v.51, p.2272-2276, 2003.

MACEDO, A.F.; LAGE, C.L.; ESQUIBEL, M.A.; SOUZA, M.M.; SILVA, K.L.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V. Preliminary phytochemical and pharmacological studies on plantlets of *Alternanthera brasiliana* cultured under different spectral quality of lights. **Acta Farm. Bonaerense**, v.23, p.515-519, 2004.

MARTINS, ER. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais e aromáticas condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu, SP: UNESP, 1998. v.2, p.97-126, 1998.

MARTINS, E.R.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; CARAZZA, F. Essential oil in the taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. **Journal Braz. Chem. Soc.**, v.8, p.29-32, 1997.

MCMAHON, M.J.; KELLY, J.W. Anatomy and pigments of chrysanthemum leaves developed under spectrally selective filters. **Science Hort.**, v.64, p.203-209, 1995.

MORAES, L.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, p.183-186, 2002.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E.E.; SPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; GILLER, Y.E.; SHAHAK, Y. Colored shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Hort. Science Biotech.**, v.76, p.353-361, 2001.

OYAERT, E.; VOLCKAERT, P.C.; DEBERGH, P.C. Growth of chrysanthemum under coloured plastic films with different light qualities and quantities. **Science Hort.**, v.79, p.195-205, 1999.

PAULA, J.P.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Chemical composition, toxicity and mosquito repelency of *Ocimum selloi* oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.253-260, 2003.

RAJAPAKSE, N.C.; POLLOCK, R.K.; MCMAHON, M.J.; KELLY, J.W.; YOUNG, R.E. Interpretation of light quality measurements and plant response in spectral filter research. **HortScience**, v.27, p.1208-1211, 1992.

RESHEF, G. **Basil culture under different shading nets**. Israel: Negev Agricultural Extension Bureau. Ein Habesor Agricultural Colony, 2001.

SCHUERGER, A.C.; BROWN, C.S.; STRYJEWSKI, E.C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annual Bot.**, v.79, p.273-282, 1997.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E.E.; COHEN, Y.; LURIE, S.; STERN, R.; KFIR, S.; NAOR, A.; ATZMON, I.; DORON, I.; GREENBLAT-AVRON, Y. Colornets: a new approach for light manipulation in fruit trees. **Acta Hort.**, v.636, p.609-616. 2004a. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/636/636_76.htm>. Acesso em: 16 maio 2006.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E.E.; GAL, E.; GANELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Hort.**, v.659, p.143-151, 2004b. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/659/659_17.htm>. Acesso em: 16 maio 2006.

SIMÕES, C.M. de O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M. de O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. p.387-416.

STEIN, S.E. NIST Mass Spec Data Center. In: LINSTROM, P.J.; MALLARD, W.G. (Ed.). **Retention Indices in NIST Chemistry Web Book**. Gaithersburg MD: National Institute of Standards and Technology, 2005. (NIST Standard Reference Database, 69). Disponível em: <<http://nebook.nist.gov>>. Acesso em: 24 ago. 2007.

STUEFER, J.F.; HUBER, H. Differential effects of light quantity and spectral light quality on growth, morphology and development of two stoloniferous *Potentilla* species. **Oecologia**, v.117, p.1-8, 1998.

SVOBODA, K.P.; SVOBODA, T.G. **Secretory structures of aromatic and medicinal plants: a review and atlas of micrographs**. Knighton, Powys: Microscopix, 2000. 60 p.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gasliquid partition chromatography. **Journal Chromatogr.**, v.11, p.463-471, 1963.

VAN HINSBERG, A.; VAN TIENDEREN, P. Variation in growth form in relation to spectral light quality (red/far red ratio) in *Plantago lanceolata* L. in sun and shade populations. **Oecologia**, v.111, p.452-459, 1997.

ARTIGO 8

VARIAÇÃO NO RENDIMENTO E NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Ocimum selloi* BENTH. SOB CONDIÇÕES DE PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO

(Preparado de acordo com as normas da **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**)

COSTA, L. C. B.¹; PINTO, J. E. B. P.²; BERTOLUCCI, S. K. V.²; ALVES, P. B.³; EVANGELINO, T. S.³

¹UESC, Depto. de Ciências Biológicas, Ilhéus, BA, 45662-000. E-mail: larissacbc@uol.com.br; ²UFLA, Depto. de Agricultura, Lavras, MG, 37200-000; ³UFS, Depto. de Química, São Cristóvão, SE, 49100-000.

1. RESUMO

As características genéticas e ambientais, o sistema de cultivo e o processamento das plantas medicinais são fatores importantes para a determinação da qualidade final do produto. Entre esses fatores, está o armazenamento, sobre o qual há poucas informações a respeito da conservação de plantas medicinais. Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do tempo de armazenamento sobre o rendimento e a composição química do óleo essencial na biomassa seca de folhas inteiras e moídas de *Ocimum selloi*. O experimento constou de dois tratamentos de fragmentação (folha inteira e moída) e cinco tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 12 meses). A biomassa seca foi embalada em saquinhos de polipropileno lacrados e armazenada em local seco e escuro. O óleo essencial foi extraído pelo processo de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado e sua composição química foi analisada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (FID) acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). Ocorreu redução acentuada no rendimento de óleo essencial da biomassa seca armazenada de folhas inteiras e moídas, ao longo de um ano de armazenamento, mas o rendimento obtido a partir de folhas inteiras foi significativamente superior ao das folhas moídas. De forma geral, durante todo o período avaliado, o metil-chavicol, composto majoritário, esteve presente com um maior teor nas folhas inteiras do que nas folhas moídas, apresentando comportamento de decréscimo ao longo do tempo de armazenamento. O tipo de fragmentação e o tempo de armazenamento

interferem decisivamente no rendimento e na composição do óleo essencial de *O. selloi*.

Palavras-chave: *Ocimum selloi* Benth., planta medicinal, pós-colheita, óleo essencial, metil-chavicol.

2. ABSTRACT

Variation of *Ocimum selloi* Benth. essential oil yield and chemical composition in whole and powdered leaves under storage conditions.

Besides the genetic and environmental characteristics, the cultivation and processing systems of the medicinal plants are also important factors for the best quality of the product. Among these factors it is the storage, on which are few information about the medicinal plants conservation. The objective of this work is to study the effect of time of storage and fragmentation conditions of dry biomass on the essential oil yield and composition of *Ocimum selloi*. The experiment consisted of two fragmentation treatments (whole and powdered leaves) and five times of storage (0, 3, 6, 9 and 12 months). The biomass dry weight was packed in plastic sealed bags and stored in dry and dark place. The essential oil was extracted by Clevenger's modified apparatus and the chemical analyses were carried out using a GC/MS/FID. An accentuated reduction was observed in the essential oil yield of the two fragmentation treatments along one year of storage, but the essential oil yield of the whole leaves was significantly superior to the powdered leaves. During the studied period, the main component, methyl-chavicol, was usually present in a larger content in the whole leaves than in the powdered leaves, but showing a reduction along the time of storage. The fragmentation type and the time of storage interfere decisively in the essential oil yield and composition of *O. selloi*.

Key-words: *Ocimum selloi* Benth., medicinal plant, post harvest, essential oil, metil-chavicol.

3. INTRODUÇÃO

Ocimum selloi Benth. (Lamiaceae) é uma espécie nativa das regiões Sul e Sudeste do Brasil, encontrada em estado silvestre ou cultivada em hortas e quintais residenciais, conhecida popularmente como elixir-paregórico, alfavaquinha ou atroveran (Lorenzi & Matos, 2003). Popularmente, é usada

como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório, além de apresentar atividade como repelente de insetos já comprovada cientificamente (Paula et al., 2003).

Para a obtenção de um produto final de excelente qualidade a partir de plantas medicinais, diversos fatores são importantes. Entre eles, identificar a espécie, colher o órgão vegetal correto no estágio de crescimento adequado, oferecer condições ótimas de cultivo (solo, luz, água e temperatura), secar e armazenar o produto sob temperatura e condições que evitem a redução dos teores de fitoquímicos e utilizar a técnica de extração mais apropriada (Tanko et al., 2005). O beneficiamento das plantas medicinais varia de acordo com a forma de comercialização, entretanto, a grande maioria é vendida na forma desidratada, tornando o processo de secagem fundamental para a qualidade final do produto. A secagem visa impedir a deterioração do material por meio da redução do teor de água, atuando negativamente na ação das enzimas pela desidratação. A redução do teor de umidade também faz com que a atividade das enzimas seja diminuída, prevenindo a perda de qualidade das plantas quanto mais rapidamente for realizada (Martins et al., 1995). Para prevenir a deterioração do produto durante o período de armazenamento, deve-se controlar a umidade e a temperatura do ar, bem como o ataque de insetos, roedores e microrganismos (Tanko et al., 2005).

Apesar de ser evidente que o período de armazenagem deve ser o menor possível para reduzir ao máximo as perdas de princípios ativos, há escassez de informações a respeito do prazo máximo de conservação de plantas medicinais secas. Por isso, é importante que se conheça bem o comportamento de cada espécie durante a fase de armazenamento (Martins et al., 1995). Até mesmo na América do Norte, a vida de prateleira de drogas vegetais parece ser arbitrária. Falta a realização de testes de estabilidade em lotes individualizados de material vegetal, como já é feito com pílulas e outros medicamentos alopáticos. Como os

medicamentos à base de plantas são produzidos em grandes quantidades e devem ser transportados para distribuição, não se sabe há quanto tempo estas plantas já estavam estocadas e, portanto, quão efetivo será o tratamento (Griggs et al., 2001).

As perdas de princípios ativos que ocorrem após a colheita se devem a várias razões, dentre elas, a degradação por processos metabólicos, hidrólise, degradação pela luz, enzimática, oxidação, fermentação, calor e contaminação microbiológica (Silva et al., 1999). Apesar disso, a maior parte dos trabalhos de conservação pós-colheita com plantas medicinais estuda apenas os tipos de embalagens e a qualidade microbiológica do material armazenado (Silva et al., 1999; Costa et al., 1999a; Costa et al., 1999b) sem, contudo, verificar as possíveis variações no teor de princípios ativos remanescentes na matéria seca.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tempo de armazenamento sobre a variação quantitativa e qualitativa do óleo essencial presente na biomassa seca de folhas inteiras e moídas de *O. selloi*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização

O trabalho foi conduzido no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras, município situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 m de altitude, latitude 21°14' S e longitude 45°00'.

4.2. Cultivo das plantas

Sementes de *Ocimum selloi* Benth), (depósito herbário ESAL n° 7474 determinado por P. Albuquerque) foram plantadas em bandejas de poliestireno expandido de 72 células, preenchidas com substrato comercial Plantmax® e mantidas em casa de vegetação sob nebulização intermitente por 60 dias. As

mudas foram transplantadas para o campo em terreno previamente arado e adubado com 0,5 L de esterco bovino curtido por cova em espaçamento 0,6 x 0,6 m. Nos primeiros meses de estabelecimento, foi mantida irrigação diária e capinas freqüentes foram realizadas conforme a necessidade.

4.3. Beneficiamento e armazenamento

Após 150 dias, 144 plantas foram colhidas às 8 horas da manhã, para secagem das folhas em estufa com circulação de ar forçada a 35°C, até peso constante, constituindo uma amostra composta.

O experimento constou de dois tratamentos de fragmentação (folha inteira e moída em moinho de facas utilizando tamis com malha de 20 mesh) e cinco tempos de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 12 meses). A biomassa seca inteira e moída foi embalada individualmente em saquinhos de polipropileno lacrados contendo 40 gramas de material e armazenada em local seco e escuro com temperatura média de 25°C.

4.4. Extração e quantificação do óleo essencial

Para a avaliação do rendimento de óleo essencial nos diferentes tempos de armazenamento, o óleo foi extraído pelo processo de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado com 40g de massa seca, balão de fundo redondo de 1000 mL contendo 500 mL de água destilada, por 90 minutos. Em seguida, realizou-se partição líquido-líquido, em funil de separação, ao qual foi adicionado diclorometano ao hidrolato para a extração do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso para retirar possíveis resíduos de umidade. O sal foi removido por filtração simples e o filtrado foi mantido à temperatura ambiente sob capela de exaustão de gases em vidros escuros tampados com papel alumínio perfurado para permitir a

evaporação do restante do solvente. Em seguida, foram determinadas as massas dos óleos obtidos para cálculo do rendimento (g kg^{-1} biomassa seca).

4.5. Análise química do óleo essencial

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe, por meio de uma amostra composta pela reunião dos óleos essenciais das seis repetições de cada tratamento. As amostras de óleo foram analisadas por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu 17 A equipado com detector de ionização de chama (FID) e também por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), usando aparelho Shimadzu QP5050A. As condições cromatográficas, em ambas as análises, foram coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária DB-5MS (30 m x 0,2 mm x 0,25 μm de espessura de filme). Nas análises por CG-EM, foi utilizado He como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL/min. A temperatura foi programada mantendo-se 50°C por 1,5 min, aumentando-se para 200°C a 4°C/min, então aquecendo-se para 300°C, a 10° C/min e mantendo-se esta temperatura constante por 10 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente e o volume de injeção foi 0,2 μL de solução em acetato de etila, com velocidade de arraste de 1,5 mL/min. As condições do EM foram detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV. A velocidade de varredura foi de 0,5 scan/seg de 40 a 550 m/z . Cada componente foi identificado por meio da comparação do seu espectro de massas com espectros existentes na literatura (Adams, 1995) e pela comparação computadorizada do espectro de massas com o banco de dados da biblioteca on-line NIST (Stein, 2005) e outros espectros de massas publicados (Van Den Dool & Kratz, 1963). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando-se curva de calibração de uma série

de *n*-alcanos (C₈-C₁₈) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. A concentração relativa dos constituintes foi calculada por meio da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise utilizando cromatógrafo a gás com detector de ionização de chamas (FID).

4.6. Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se comparação de médias por meio do teste F, a 5% de probabilidade para o tipo de fragmentação e análise de regressão, para o tempo de armazenamento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento de óleo essencial obtido a partir de folhas inteiras foi significativamente superior ao obtido das folhas na forma de pó, com média de 13,15 e 9,88 g.kg⁻¹, respectivamente (Figura 1). Estudos realizados com *Cymbopogon citratus* apresentaram resultado oposto, com maior rendimento de óleo essencial obtido na biomassa seca reduzida a pó, quando comparada aos fragmentos maiores (Costa et al., 2005). Este comportamento pode ser explicado pela diferente localização histológica das estruturas secretoras. Em *C. citratus* são células oleíferas internas, enquanto em *O. selloi* os tricomas glandulares que são externos, permanecem mais preservados nas folhas inteiras, garantindo maior rendimento de óleo nesta condição. Além disso, considerando-se o tempo de armazenamento, a biomassa seca na forma de pó possui maior superfície de exposição, permitindo maior perda dos óleos essenciais, seja por oxidação ou volatilização.

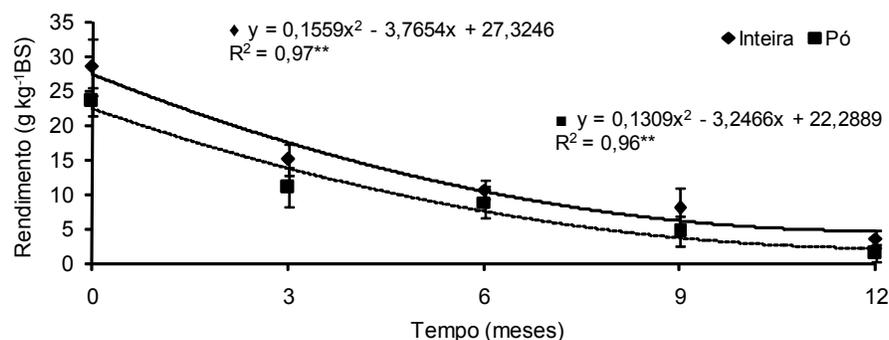


FIGURA 1. Rendimento e porcentagem de perda de óleo essencial da biomassa seca de folhas de *Ocimum selloi*, inteiras e moídas, em função do tempo de armazenamento.

O rendimento de óleo essencial apresentou resposta quadrática em relação ao tempo de armazenamento, sendo observada redução acentuada no período avaliado. Quatro meses de armazenamento da biomassa seca na forma inteira e moída foram suficientes para reduzir em cerca de 50% o rendimento de óleo essencial. Após um ano, as perdas no rendimento atingiram 87,5%, para as folhas inteiras e 93,8%, para as folhas moídas (Figura 1). Resultados similares foram registrados para *Tanacetum parthenium*, em que o tempo de armazenamento (120 dias) teve um efeito significativo na redução do teor de partenólídeos de folhas secas inteiras e moídas (Tanko et al., 2003).

A análise qualitativa do óleo essencial de *O. selloi* revelou que o componente majoritário foi o metil-chavicol (estragol), cujo teor até os três meses de armazenamento nos dois tratamentos não foi reduzido de maneira significativa, mantendo-se acima de 80% (Tabela 1). Estudos anteriores descreveram a presença de três quimiotipos desta espécie (Martins et al., 1997;

Moraes et al., 2002), dos quais um apresenta similaridade química com a espécie em estudo.

De forma geral, durante todo o período avaliado, o metil-chavicol esteve presente com um maior teor e relativa estabilidade química nas folhas inteiras do que nas folhas moídas, apresentando comportamento de decréscimo ao longo do tempo de armazenamento. A forma de conservação da planta medicinal pode afetar a estabilidade química dos metabólitos secundários presentes (Gutterman & Chauser-Volfson, 2006). Entretanto, no tempo zero de armazenamento, a biomassa seca moída apresentou maior teor de metil-chavicol do que as folhas inteiras, sendo extraído isoladamente nesta condição (Tabela 1). Resposta semelhante foi observada em *Cymbopogon citratus*, cujo conteúdo do composto majoritário citral também foi maior na biomassa seca em forma de pó em relação aos fragmentos maiores (Costa et al., 2005).

Ao final de um ano, observou-se redução do teor de metil-chavicol, na massa seca armazenada, de 92,7% na folha inteira e de 98,4% na folha em pó. Simultaneamente ao declínio do teor de metil-chavicol, houve aumento nos teores de metil-eugenol, β -cariofileno, germacreno D, biciclogermacreno, β -bisaboleno, espatulenol e o óxido de cariofileno, presentes no óleo essencial de *O. selloi*, ao longo do tempo de armazenamento devido a possíveis degradações, ciclizações ou oxidações ocorridas (Figura 2). No entanto, o teor total destes componentes apresentou apenas uma pequena variação durante o tempo de armazenamento (Tabela 1).

TABELA 1. Porcentagem de área relativa dos picos correspondentes aos principais constituintes químicos do óleo essencial da biomassa seca de folhas de *Ocimum selloi*, inteiras e moídas, em função do tempo de armazenamento. (IK = Índice de Kovats).

Constituinte	Tempo armazenamento (meses)										
	Teor (%)										
	Inteira						Pó				
	IK	0	3	6	9	12	0	3	6	9	12
Metil-chavicol	1198	93,98	92,50	76,57	64,28	7,22	97,89	81,41	61,25	28,81	1,59
Metil-eugenol	1397	0,35	0,67	1,84	2,17	5,3	-	1,09	2,33	5,06	4,68
β -cariofileno	1418	-	1,80	4,02	5,98	11,01	-	3,36	5,51	10,58	6,54
Germacreno D	1480	-	1,58	4,86	7,14	18,50	-	3,40	5,77	11,29	8,97
Biciclogermacreno	1494	-	1,86	6,39	9,68	28,39	-	3,85	6,44	13,51	11,83
β -bisaboleno	1506	0,15	0,31	0,87	1,31	3,95	-	0,85	1,71	4,19	4,15
Espatulenol	1575	0,99	0,80	1,96	2,91	10,61	-	2,22	5,74	14,97	32,92
Óxido de cariofileno	1581	0,94	-	0,28	0,37	1,41	-	0,29	1,25	2,67	6,20
TOTAL		96,41	99,52	96,79	93,84	86,39	97,89	96,47	90,00	91,08	76,88

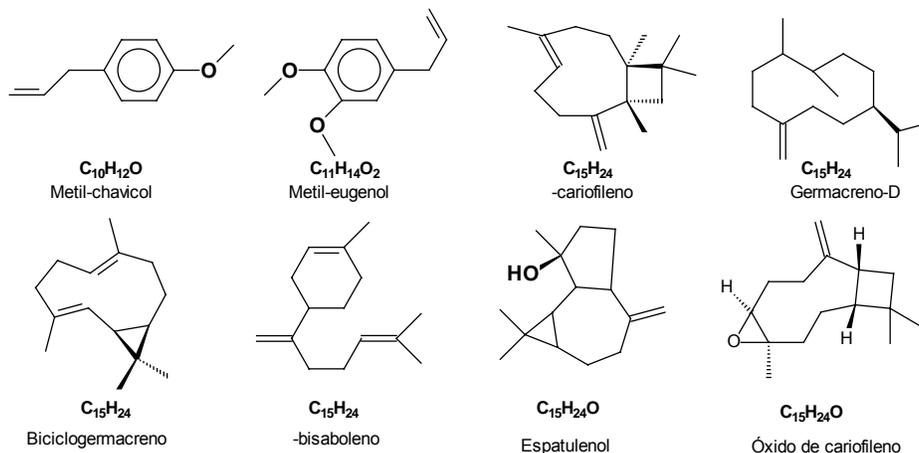


FIGURA 2. Estruturas moleculares dos principais compostos químicos presentes no óleo essencial da biomassa seca de folhas de *Ocimum selloi*.

O metil-chavicol foi o principal constituinte do óleo essencial até o nono mês de armazenamento, apresentando queda acentuada aos doze meses, quando foi substituído pelo biciclogermacreno, na folha inteira e pelo espatulenol, na folha moída (Tabela 1). Aos 9 meses de armazenamento, também foi possível observar redução mais pronunciada no teor de metil-chavicol da biomassa seca das folhas moídas em comparação com as folhas inteiras, revelando ser este tipo de fragmentação muito mais sensível à degradação química.

6. CONCLUSÕES

O tipo de fragmentação e o tempo de armazenamento interferem decisivamente no rendimento e na composição do óleo essencial de *O. selloi*. Ocorreu redução acentuada no rendimento de óleo essencial da biomassa seca armazenada de folhas inteiras e moídas, ao longo de um ano de armazenamento, mas o rendimento obtido a partir de folhas inteiras foi significativamente

superior ao das folhas moídas. Na composição química do óleo também foi observado um declínio do composto majoritário durante o tempo de armazenamento. O maior teor de metil-chavicol foi obtido no tempo zero de armazenamento com a biomassa seca moída, em que foi extraído isoladamente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 698p.

COSTA, C.C.; CASALI, V.W.D.; ANDRADE, N.J. Avaliação da droga *Vernonia polyanthes* L. – “Assa-peixe” obtida a partir de dois métodos de secagem e em duas épocas de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.1, n.2, p.7-11, 1999a.

COSTA, C.C.; CASALI, V.W.D.; MACEDO, J.A.B. Qualidade de folhas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) após secagem e embalagem. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.1, n.2, p.1-5, 1999b.

COSTA, L.C.B.; CORRÊA, R.M.; CARDOSO, J.C.W.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, 2005.

GRIGGS, J.K.; MANANDHAR, N.P.; TOWERS, G.H.N.; TAYLOR, R.S.L. The effects of storage on the biological activity of medicinal plants from Nepal. **Journal of Ethnopharmacology**, v.77, p.247-252, 2001.

GUTTERMAN, Y.; CHAUSER-VOLFSON, E. Changes in secondary phenolic metabolites during storage as an aqueous suspension in comparison with the content in harvested *Aloe arborescens* leaves. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, p.662-666, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 254p.

MARTINS, E.R.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; CARAZZA, F. Essential oil in the taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. **Journal Braz. Chem. Soc.**, v.8, p.29-32, 1997.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 220p.

MORAES, L.A.S.; FACANALI, R.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C.; MEIRELES, M.A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.74, p.183-186, 2002.

PAULA, J.P.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Chemical composition, toxicity and mosquito repelency of *Ocimum selloi* oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.253-260, 2003.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D.; LIMA, R.R.; ANDRADE, N.J. Qualidade pós-colheita de *Achillea millefolium* L., *Origanum vulgare* L. e *Petroselinum crispum* (Miller) A.W. Hill em três embalagens. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.2, p.37-41, 1999.

STEIN, S.E. NIST Mass Spec Data Center. In: LINSTROM, P.J.; MALLARD, W.G. (Ed.). **Retention Indices in NIST Chemistry Web Book**. Gaithersburg MD: National Institute of Standards and Technology, 2005. (NIST Standard Reference Database, 69). Disponível em: <<http://nebook.nist.gov>>. Acesso em: 24 ago. 2007.

TANKO, H.; CARRIER, D.J.; DUAN, L.; CLAUSEN, E. Pre- and post-harvest processing of medicinal plants. **Plant Genetic Resources**, v.3, n.2, p.304-313, 2005.

TANKO, H.; CARRIER, D.J.; SOKHASANJ, S.; CROWE, T. Effects of drying temperature and storage on parthenolide concentration of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.) leaves. **Journal of Nutraceutical, Functional and Medical Foods**, v.4, n.1, p.27-37, 2003.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gasliquid partition chromatography. **Journal Chromatogr.**, v.11, p.463-471, 1963.

ARTIGO 9

ATIVIDADE TÓXICA IN VITRO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum selloi* SOBRE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

(Preparado de acordo com as normas da Revista Ciência Rural)

Larissa Corrêa do Bomfim Costa¹, José Eduardo Brasil Pereira Pinto², João de Cássia do Bomfim Costa³, Péricles Barreto Alves⁴, Edenilson Santos Niculau⁴

¹Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brazil. ²Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brazil. ³CEPEC/CEPLAC/MAPA, Cx. Postal 07, CEP 45650-000, Itabuna, BA; ⁴Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil.

1. RESUMO

Estudou-se o efeito do óleo essencial de *Ocimum selloi* sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de *Alternaria alternata*, *Coletotrichum gloesporioides* e *Crinipellis perniciosa*. O óleo foi extraído pelo processo de hidrodestilação da biomassa fresca de folhas e inflorescências e analisado para determinação da sua composição química. Utilizaram-se seis tratamentos de óleo essencial previamente solubilizado em surfactante (0, 0+surfactante, 125, 250, 500 e 1000 ppm) para o teste de crescimento micelial e germinação dos esporos. Todas as doses do óleo essencial de *O. selloi* exerceram efeito inibitório sobre o crescimento micelial dos fungos testados em relação à testemunha, mas principalmente sobre *C. perniciosa*, em que foi verificada inibição total do crescimento micelial com concentração inibitória mínima entre 500 e 1.000 ppm. Sobre a germinação dos esporos, não foi observado efeito do óleo essencial sobre *A. alternata*, entretanto, ocorreu redução significativa da germinação dos esporos de *C. gloesporioides* e *C. perniciosa*. O efeito fungitóxico deste óleo essencial foi atribuído ao seu composto majoritário metil-chavicol ou estragol.

Palavras-chave: atividade fungitóxica, óleo essencial, controle alternativo de doenças de plantas

2. ABSTRACT

***In vitro* toxic activity evaluation of *Ocimum selloi* essential oil against phytopathogenic fungus.** The objective of this work was to study the effect of *Ocimum selloi* essential oil on micelial growth and spores germination of *Alternaria alternata*, *Coletotrichum gloesporioides* and *Crinipellis pernicioso*. The essential oil was extracted by Clevenger's apparatus from fresh leaves and inflorescences and analyzed for determination of its chemical composition. Six essential oil concentrations previously mixed with a surfactant were tested (0, 0+surfactant, 125, 250, 500 and 1000 ppm) to evaluate fungal micelial growth and spores germination. The results indicated that all the essential oil doses reduced the fungal micelial growth in relation to control, but mainly on *M. pernicioso* causing 100% inhibition on micelial growth with minimum inhibitory concentration between 500 and 1000 ppm. It was not observed effect of the essential oil on *A. alternata* spores germination, however, for *C. gloesporioides* and *C. pernicioso* occurred a significant reduction of the spores germination. The fungi toxic effect of this essential oil was attributed to its majority component metil-chavicol or estragole.

Keywords: fungi toxic effect, essential oil, alternative plant disease control

3. INTRODUÇÃO

Ocimum selloi Benth., conhecida popularmente como elixir-paregórico, atroveran ou alfavaquinha, é uma espécie medicinal nativa do Brasil, encontrada na forma silvestre ou cultivada em quintais domésticos, grande produtora de óleo essencial, mas ainda pouco pesquisada e explorada comercialmente.

Sem dúvida, os óleos essenciais encontram sua maior aplicação biológica como agentes antimicrobianos. Esta capacidade, presente na grande maioria dos compostos secundários, de certa maneira, representa uma extensão do próprio papel que exercem nas plantas, defendendo-as de bactérias e fungos fitopatogênicos (Janssen et al., 1987). Pesquisas realizadas com extratos brutos ou óleos essenciais obtidos a partir de plantas aromáticas confirmam o potencial

das mesmas no controle de diversos fitopatógenos (Amaral & Bara, 2005; Balbi-Peña et al., 2006; Vigo-Schultz et al., 2006).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais pode constituir mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (Stangarlin et al., 1999). A possibilidade do uso de produtos de origem natural que apresentam baixa toxicidade no controle de fitopatógenos se traduz em vantagem, por ser um procedimento menos agressivo ao meio ambiente (Silva & Bastos, 2007), além de diminuir as despesas com a importação de defensivos sintéticos e oferecer maior proteção dos trabalhadores na sua utilização (Bastos, 1999).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito direto *in vitro* de diferentes doses do óleo essencial de *O. selloi* sobre a germinação e o crescimento micelial de *Alternaria alternata*, *Coletotrichum gloesporioides* e *Crinipellis perniciososa*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização e material botânico

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Plantas Mediciniais do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, município situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 m de altitude, latitude 21°14' S e longitude 45°00'. Plantas adultas de *O. selloi* em estágio reprodutivo (depósito Herbário ESAL n° 7474), cultivadas no Horto de Plantas Mediciniais MG, foram colhidas, em setembro de 2007, para a extração do óleo essencial.

4.2. Extração do óleo essencial

O óleo foi extraído pelo processo de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger graduado com 100 g de matéria fresca de folhas e inflorescências em balão de fundo redondo de 2.000 mL, contendo 1.000 mL de água destilada, por 90 minutos. Em seguida, realizou-se uma tripla partição líquido-líquido, em funil de separação, ao qual foi adicionado diclorometano ao hidrolato para a extração do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso para retirar possíveis resíduos de umidade. O sal foi removido por filtração simples e o filtrado foi mantido à temperatura ambiente sob capela de exaustão de gases em vidros escuros tampados com papel alumínio perfurado para permitir a evaporação do restante do solvente.

4.3. Análise química do óleo essencial

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe, por meio de uma amostra composta pela reunião dos óleos essenciais das seis repetições de cada tratamento. As amostras de óleo foram analisadas por cromatografia gasosa, utilizando-se aparelho Shimadzu 17 A equipado com detector de ionização de chama (FID) e também por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), usando aparelho Shimadzu QP5050A. As condições cromatográficas, em ambas as análises, foram coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária DB-5MS (30 m x 0,2 mm x 0,25µm de espessura de filme). Nas análises por CG-EM, foi utilizado He como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL/min. A temperatura foi programada mantendo-se 50°C por 1,5 min, aumentando-se para 200°C a 4°C/min, então aquecendo-se para 300°C, a 10° C/min e mantendo-se esta temperatura constante por 10 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente e o volume de injeção foi 0,2 µL de

solução em acetato de etila, com velocidade de arraste de 1,5 mL/min. As condições do EM foram detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV. A velocidade de varredura foi de 0,5 scan/seg de 40 a 550 m/z . Cada componente foi identificado por meio da comparação do seu espectro de massas com espectros existentes na literatura (Adams, 1995) e pela comparação computadorizada do espectro de massas com o banco de dados da biblioteca on-line NIST (Stein, 2005) e outros espectros de massas publicados (Van Den Dool & Kratz, 1963). Os índices de retenção de Kovats (IK) foram determinados utilizando-se curva de calibração de uma série de n -alcanos (C_8 - C_{18}) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras. A concentração relativa dos constituintes foi calculada por meio da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise utilizando cromatógrafo a gás com detector de ionização de chamas (FID).

4.4. Isolados fúngicos

Foram utilizados isolados dos fungos *Alternaria alternata* (CML184), *Coletotrichum gloesporioides* (CML459) e *Crinipellis perniciososa* (CEPLAC1188), cedidos pelo Laboratório de Micologia do Departamento de Fitopatologia. Para os bioensaios, estes isolados foram previamente cultivados em meio BDA (batata-dextrose-ágar) mantidos em câmara de crescimento, a $25\pm 1^\circ\text{C}$, por 7 dias, antes da sua incorporação sobre os meios de cultura contendo o óleo essencial.

4.5. Crescimento micelial

O óleo essencial previamente solubilizado em surfactante foi homogeneizado em BDA fundente (40°C) nas seguintes doses: 0, 0+surfactante, 125, 250, 500 e 1000 ppm. Após a solidificação do meio, foi colocado um disco

micelial das culturas dos fungos testados no meio das placas de Petri de 9 cm de diâmetro e incubados em câmara de crescimento, a $25\pm 1^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas de luz.

O crescimento do diâmetro micelial correspondente à média de duas medidas diametralmente opostas da colônia fúngica foi medido a cada dois dias, até que a testemunha ocupasse 2/3 da placa, para o cálculo do índice de crescimento micelial (ICM), em que $\text{ICM} = [(C_1/N_1)+(C_2/N_2)+\dots+(C_n/C_n)]$, sendo C_1, C_2, C_n = crescimento micelial do fungo na primeira, segunda e última avaliação e N_1, N_2, N_n = número de dias após a inoculação.

Além disso, foi calculada a porcentagem de inibição por meio da fórmula: $\% \text{ inibição} = [(\text{cresc. testemunha} - \text{cresc. tratamento}) * 100] / \text{cresc. testemunha}$, a concentração inibitória mínima (CMI), que é o intervalo entre concentrações do produto testado, capaz de inibir totalmente o crescimento micelial do fungo e o DL50, que é a concentração de ingredientes ativos capaz de inibir 50% do crescimento micelial.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em que cada tratamento constou de seis repetições.

4.6. Germinação dos esporos

Ao término do primeiro teste, foi avaliado o efeito inibitório das mesmas doses de óleo essencial de *O. selloi* sobre a germinação de esporos dos fungos testados. Para tanto, utilizaram-se lâminas escavadas mantidas no interior de placas de Petri sobre papel de filtro umedecido com água destilada. Em cada lâmina foram depositados 100 μL nas concentrações finais do óleo essencial e, a seguir, colocados 30 μL da suspensão de esporos de *Alternaria alternata* (22.10^4 esporos mL^{-1}), *Coletotrichum gloesporioides* (20.10^4 esporos mL^{-1}) e *Crinipellis perniciososa* (24.10^4 esporos mL^{-1}). Após 24 horas de incubação a $25\pm 1^\circ\text{C}$, adicionaram-se gotas de lactofenol-azul de algodão para interrupção e avaliação

microscópica da germinação. Foram considerados germinados todos os esporos que apresentaram tubo germinativo, independente do seu comprimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, em que cada parcela consistiu de três cavidades, em que foram contados 200 esporos por cavidade, totalizando 600 esporos por parcela. Para a análise estatística, obteve-se a porcentagem de esporos germinados.

4.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística para comparação de médias por meio do teste de Tukey, a 5% e análise de regressão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as doses do óleo essencial de *Ocimum selloi* exerceram efeito inibitório sobre o crescimento micelial dos fungos testados em relação à testemunha, caracterizando um efeito fungitóxico (Figuras 1 e 2). Com o aumento da concentração do óleo essencial, observou-se a inibição gradual do crescimento micelial de *Alternaria alternata* e *Coletotrichum gloesporioides* (Figuras 2 A e B), com 68,8% e 58,2 % de inibição do crescimento micelial, respectivamente, na maior dose testada (Tabela 1), mas, principalmente, de *Crinipellis pernicioso*, em que foi verificada inibição total do crescimento micelial (Figura 2 C) com concentração inibitória mínima observada entre 500 e 1.000 ppm e DL₅₀ de 430 ppm (Tabela 1).

O efeito tóxico dos óleos essenciais também tem sido demonstrado sobre outros fungos fitopatogênicos. Com o aumento da concentração do óleo essencial de *Aloysia gratissima* houve redução das médias do ICM *in vitro* de *Coletotrichum gloesporioides* e *Fusarium oxysporum* (Cardoso, 2005).

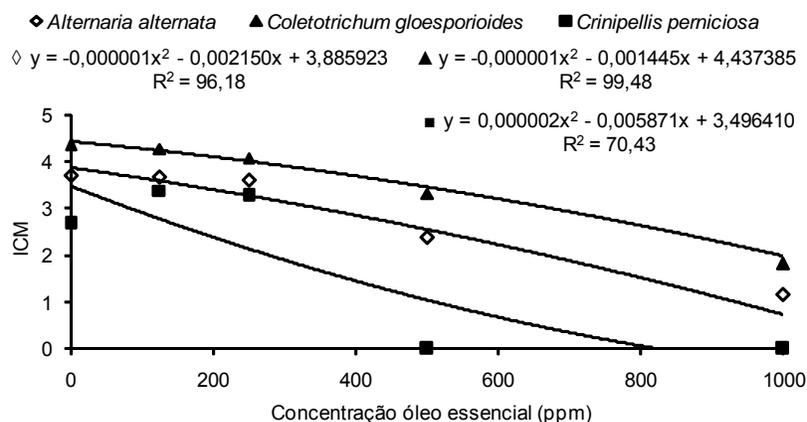


FIGURA 1. Efeito de doses do óleo essencial de *Ocimum selloi* sobre o índice de crescimento micelial (ICM) *in vitro* de *Alternaria alternata*, *Coletotrichum gloesporioides* e *Crinipellis perniciosa*.

Foi observada inibição significativa do crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* e *Bipolaris sorokiniana*, na dose de 500 ppm de óleo essencial de três espécies de *Eucalyptus* (Salgado et al., 2003). Verificou-se inibição do crescimento micelial de *Crinipellis perniciosa* proporcional à concentração do óleo essencial de *Piper aduncum*, promovendo 100% de inibição no crescimento e na germinação dos esporos, nas concentrações de 50 e 100 ppm, respectivamente (Bastos, 1999). Já os óleos essenciais de *P. callosum*, *P. marginatum* var. *anisatum* e *P. enckea* também apresentaram ação fungitóxica significativa contra *Crinipellis perniciosa*, *Phytophthora palmivora* e *P. capsici* (Silva & Bastos, 2007).

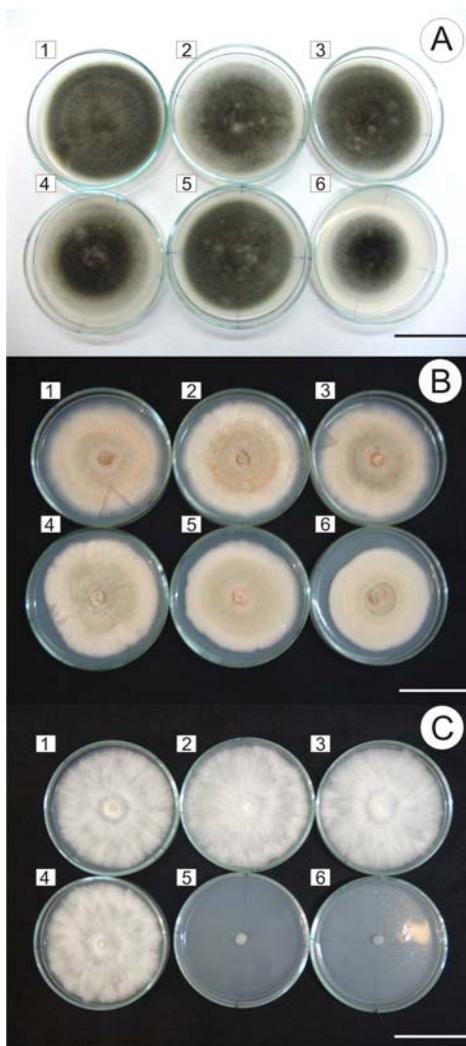


FIGURA 2. Efeito de doses do óleo essencial de *Ocimum selloi* sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata* (A), *Coletotrichum gloesporioides* (B) e *Crinipellis pernicioso* (C). Doses: 0 ppm (1), 0 ppm + Surfactante (2), 125 ppm (3), 250 ppm (4), 500 ppm (5), 1000 ppm (6). Barra = 5 cm.

TABELA 1. Valores médios de percentagem de inibição do crescimento micelial de *Alternaria alternata*, *Coletotrichum gloesporioides* e *Crinipellis pernicioso*, causada pelo óleo essencial de *Ocimum selloi*, concentração mínima inibitória (CMI) e o DL₅₀.

Fungo	Concentrações (ppm)				CMI	DL ₅₀
	125	250	500	1000		
<i>Alternaria alternata</i>	1,2	2,9	35,6	68,8	>1000	707,98
<i>Coletotrichum gloesporioides</i>	1,8	6,4	23,9	58,2	>1000	943,15
<i>Crinipellis pernicioso</i>	-7,0	-3,8	100,0	100,0	500-1000	430,00

Com relação à germinação dos esporos, observou-se que houve interação entre os fungos e as doses de óleo essencial testadas. O incremento das concentrações de óleo essencial não afetou a germinação de esporos de *Alternaria alternata*, entretanto, reduziu significativamente a germinação dos esporos de *Coletotrichum gloesporioides* em 93,1% e *Crinipellis pernicioso* em 87,1% (Figura 3). Os óleos essenciais de *Piper dilatatum*, *P. callosum* e *P. marginatum* var. *anisatum* também já foram testados sobre *Crinipellis pernicioso*, sendo capazes de causar total inibição na germinação dos basidióporos nas concentrações de 0,4 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 0,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 0,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente (Silva & Bastos, 2007). A inibição total na germinação de esporos de *Coletotrichum lagenarium* foi obtida com a utilização de extrato aquoso autoclavado de *Eucalyptus citriodora*, na concentração de 20% (Bonaldo et al., 2004). Os óleos essenciais de *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon nardus*, *Azadirachta indica* e *Thymus vulgaris*, nas concentrações de 1%, 0,5%, 1% e 0,3%, respectivamente, inibiram 100% da germinação dos uredinióporos de *Phakospora pachyrhizi* (Medice et al., 2007).

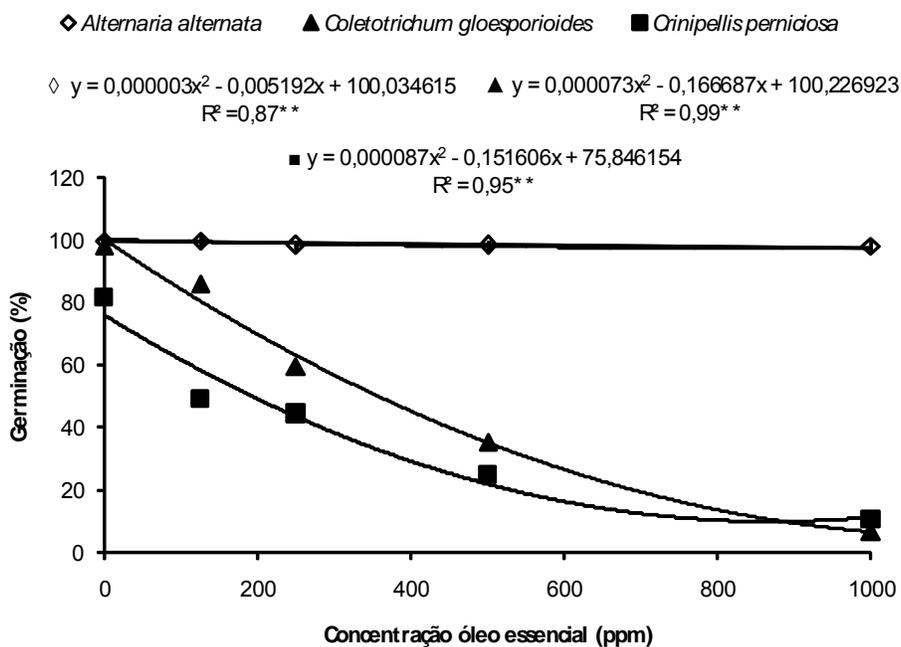


FIGURA 3. Efeito de doses do óleo essencial de *Ocimum selloi* sobre a germinação de *Alternaria alternata*, *Coletotrichum gloesporioides* e *Crinipellis perniciososa*.

A análise química do óleo essencial revelou a presença de quatro compostos, que foram identificados como β -cariofileno (0,81%), γ -muuroleno (0,93%), biciclogermacreno (1,20%) e o composto majoritário metil chavicol ou estragol (96,36%), o qual, devido a sua alta concentração, possivelmente pode ser atribuído ao efeito fungitóxico do óleo essencial sobre os fungos testados.

6. CONCLUSÕES

O óleo essencial de *O. selloi* apresentou atividade fungitóxica diferenciada para os três fitopatógenos testados, com maior eficiência sobre

Crinipellis pernicioso, fitopat6geno causador da vassoura-de-bruxa do cacauero, constituindo, portanto, mais uma fonte biol6gica potencial para o controle desta enfermidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliaç6o da atividade antif6ngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopat6genos. Revista Eletr6nica de Farmácia, v.2, n.2, p.5-8, 2005. Suplemento.

BALBI-PEÑA, M.I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; LOPES, M.C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina – I. Avaliaç6o *in vitro*. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.31, n.3, p.310-314, 2006.

BASTOS, C.N. Potencial do 6leo extraído da piperácea *Piper aduncum* L. no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 12., 1996, Salvador, BA. **Proceedings...** Lagos, Nigeria: Cocoa Producers' Alliance, 1999. p.139-144.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitocidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteç6o de pepino contra *Coletotrichum langenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalytus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.2, p.128-134, 2004.

CARDOSO, J.C.W. **Níveis de luz e homeopatia sobre caracteres morfofisiol6gicos e 6leo essencial e atividade fungit6xica do 6leo essencial de *Aloysia gratissima* (Gilles & Hook.) Tronc.** 2005. 100f. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

JANSSEN, A.M.; SCHEFFER, J.J.; BAERHEIM-SVENDSEN, A. Antimicrobials activities of essential oils. **Pharm. Week.**, v.9, p.193-197, 1987.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; MAGNO JÚNIOR, R.G.; LOPES, E.A.G.L. 6leos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakospora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.83-90, 2007.

SALGADO, A.P.S.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SOUZA, J.A.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.2, p.249-254, 2003.

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

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biocologia Ciência e Desenvolvimento**, v.11, p.16-21, 1999.

STEIN, S.E. NIST Mass Spec Data Center. In: LINSTROM, P.J.; MALLARD, W.G. (Ed.). **Retention Indices in NIST Chemistry Web Book**. Gaithersburg MD: National Institute of Standards and Technology, 2005. (NIST Standard Reference Database, 69). Disponível em: <<http://nebook.nist.gov>>. Acesso em: 24 ago. 2007.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gasliquid partition chromatography. **Journal Chromatogr.**, v.11, p.463-471, 1963.

VIGO-SCHULTZ, S.C.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; PORTZ, R.L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em couve-flor. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.27, n.4, p.515-524, 2006.

ARTIGO 10

MANCHA FOLIAR DE *Pseudocercospora ocimicola* EM *Ocimum selloi*

(Publicado Revista **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.3, p.316, 2006)

João de Cássia B. Costa¹, José L. Bezerra¹, Larissa C.B. Costa², Eduardo Alves³, Anderson R. Almeida³, Eloísa A.G.L. Lopes³, José E.B.P. Pinto⁴

¹CEPEC/CEPLAC/MAPA, Cx. Postal 07, CEP 45650-000, Itabuna, BA, e-mail: jcbioctrl@ceplac.gov.br; ²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rod. Ilhéus-Itabuna, km 16, CEP 45650-000, Ilhéus, BA; ³Departamento de Fitopatologia; ⁴Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Cx. Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG.

-NOTA CIENTÍFICA-

1. ABSTRACT

Pseudocercospora ocimicola* leaf spot on *Ocimum selloi

Ocimum selloi is reported for the first time as a host of *Pseudocercospora ocimicola*.

Ocimum selloi Benth. é uma espécie medicinal da família Lamiaceae, conhecida popularmente como alfavaquinha, atroveran ou elixir-paregórico. Na medicina caseira, é empregada para o controle de gases intestinais, gastrites, vômitos, tosses, bronquites, gripes, febres e resfriados (Lorenzi & Matos, 2002). Resultados preliminares confirmaram a sua atividade antiespasmódica, analgésica, antiinflamatória (Vanderlinde et al., 1994a;b) e o seu efeito como repelente contra mosquitos (Paula et al., 2003). Folhas amarelas com manchas foliares foram observadas em plantas de *O. selloi* cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras. Os sintomas caracterizaram-se pela presença de lesões foliares castanho-claras isoladas ou coalescentes, dispersas, subcirculares, de bordos irregulares, com dimensões variando de 3 a 5

mm de diâmetro, ocorrendo, principalmente, em folhas maduras situadas até o terço inferior da planta (Figura 1A). Quanto às características morfológicas do fungo, observaram-se estromas intra-estomáticos (Figura 1E), castanhos, cilíndricos, pseudo-parenquimáticos, irrompentes com 14-24 μm de diâmetro; micélio interno escasso formado de hifas inter e intracelulares; conídios filiformes, hialinos, 5-9 septados, 97-310 x 2-3 μm (Figuras 1B, C e D) e conidióforos subialinos, septados, geniculados, simples ou ramificados na base, 58-178 μm de comprimento e 2,5-5 μm de diâmetro na parte mediana (Figuras 1B-E). Estas características conferem com a descrição da espécie *P. ocimicola* (Petr. & Cif.) Deighton que já foi descrita sobre *Ocimum* sp. (Brasil), *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) Kuntze (Brasil), *O. americanum* L. (Myanmar), *O. basilicum* L. (China, Taiwan), *O. gratissimum* L. (Cuba), *O. sanctum* L. (Cuba, Myanmar) (Braun & Freire, 2002), *O. kilimandscharicum* Gürke e *O. micranthum* Willd., em outros países, como República Dominicana, Fiji, Índia, Nova Zelândia, Taiwan e Vanuatu (Crous & Braun, 2003). O comprimento dos conídios em *O. selloi* excede aquele apresentado por Deighton (1976). Este é o primeiro relato de *P. ocimicola* em *O. selloi*.

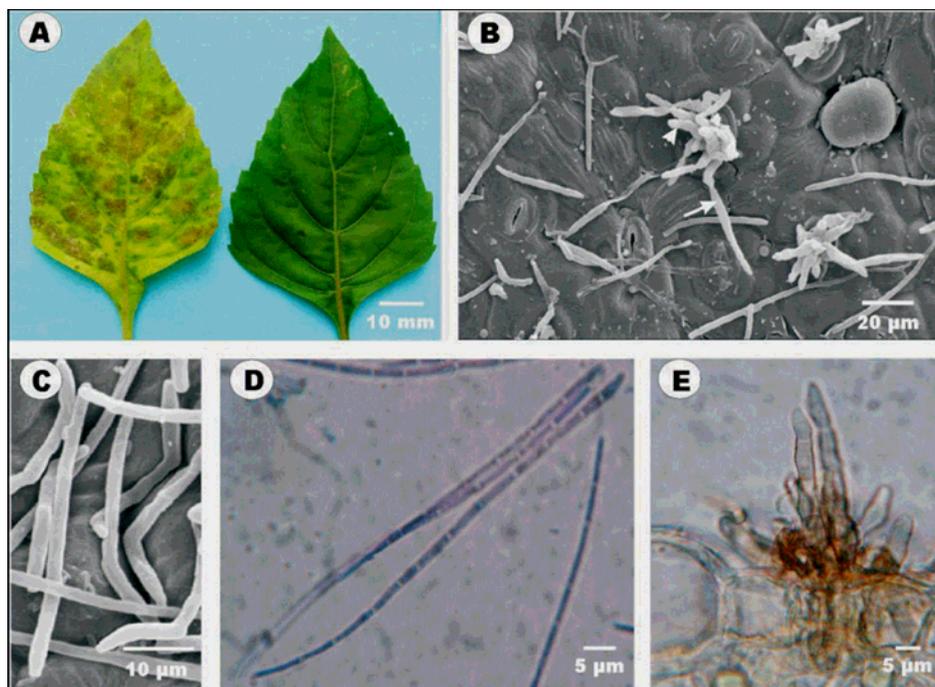


FIGURA 1. A. Folha de *Ocimum selloi* com sintomas de *Pseudocercospora ocimicola* à esquerda e sem sintomas à direita; eletromicrografias de varredura: B. superfície foliar evidenciando célula conidiogênica (cabeça de seta) e conídios (seta); C. conídios; fotomicrografias: D. conídios e E. conidióforos.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAUN, U.; FREIRE, F. C. O. Some cercosporoid hyphomycetes from Brazil - II. *Cryptogamie Mycologie*, v. 23, n. 4, p. 295-328, 2002.

CROUS, P. W.; BRAUN, U. **Mycosphaerella and its anamorphs**: 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. Utrecht: CBS, 2003. 563p.

DEIGHTON, F. C. Studies on *Cercospora* and allied genera. 6. *Pseudocercospora* Speng. *Pantospora* Cif. and *Cercoseptoria* Pdr.

Mycological Papers, v. 140, p. 1-168, 1976.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 254p.

PAULA, J.P.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.253-260, 2003.

VANDERLINDE, F.A.; COSTA, E.A.; D'ANGELO, L.C.A. Atividades farmacológicas gerais e atividade antiespasmódica do extrato etanólico de *Ocimum selloi* Benth. (elixir-paregórico). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, CE: UFCE, 1994a.

VANDERLINDE, F.A.; COSTA, E.A.; D'ANGELO, L.C.A. Atividade antiinflamatória e analgésica do extrato etanólico de *Ocimum selloi* Benth. (elixir-paregórico). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, CE: UFCE, 1994b.