

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS – PPGCN  
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN

MARIA REGILENE DE FREITAS COSTA PAIVA

PRODUÇÃO E QUALIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DA *LIPPIA GRACILIS* SCHAUER  
EM FUNÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE  
FÓSFORO.

MOSSORÓ

2014

MARIA REGILENE DE FREITAS COSTA PAIVA

PRODUÇÃO E QUALIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DA *LIPPIA GRACILIS* SCHAUER  
EM FUNÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE  
FÓSFORO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de Oliveira Matias

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

MOSSORÓ

2014

MARIA REGILENE DE FREITAS COSTA PAIVA

PRODUÇÃO E QUALIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DA *LIPPIA GRACILIS* SCHAUER  
EM FUNÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE  
FÓSFORO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de Oliveira Matias  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Aprovada em 26 de Fevereiro de 2014.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Luiz Gonzaga de Oliveira Matias (Orientador)  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

---

Prof. Dr. Carlos Henrique Catunda Pinto  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

---

Prof. Dr. Renato Silva de Castro  
Instituto Federal do Rio Grande do Norte

*Primeiramente a Deus, que em todos os momentos esteve  
comigo e me concedeu saúde, paz e força para vencer.*

*Ao meu pai, Manoel Raimundo da Costa, (In Memoriam),  
pelo amor, cuidado e incentivo nos estudos que me deu.*

*À minha mãe, Joana Luíza de Freitas, a responsável pela  
minha educação e formação.*

*Aos meus irmãos, Maria Reijane, Regiane Freitas e  
Rikelly Priscila, meus eternos companheiros e amigos.*

*Ao meu esposo, Onésimo de Oliveira Paiva, que com amor e carinho está ao meu lado,  
apoiando-me e torcendo pelo nosso sucesso.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida; pela graça concedida; pelo amor e cuidado, assim como por realizar mais um desejo do meu coração.

Aos meus pais, Joana Freitas e Manoel Costa (*In Memoriam*). Obrigada pelos ensinamentos de vida; por ser a base na construção dos meus princípios e pelo imenso amor a mim dedicado.

Aos meus irmãos, Maria Reijane, Regione Freitas e Rikelly Priscila, por toda confiança e apoio.

Aos meus sobrinhos, Luan Alan, Luíza Rayane, Luane Ramony, Lucas Vinícius, Letícia e João Pedro, pelo imenso amor e carinho a mim dedicado.

Ao meu esposo, Onésimo Paiva, pelo auxílio nos momentos que necessitei, pela paciência e compreensão nos dias de estudo, pelo amor e carinho, e por estar sempre ao meu lado.

À Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), pela oportunidade de realização deste curso.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, pelos conhecimentos transmitidos, que foram fundamentais para minha formação acadêmica.

Ao apoio financeiro fornecido pela Fundação de Apoio à Pesquisa do Rio Grande do Norte (FAPERN).

Ao Prof. Dr. Luiz Gonzaga de Oliveira Matias, pela orientação neste trabalho.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque, pela coorientação, amizade, paciência, compreensão e ensinamentos compartilhados durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fabio Henrique Tavares de Oliveira, pela dedicação em cada trabalho realizado, pelo incentivo e apoio, pela amizade e pela grande ajuda neste trabalho.

Ao Prof. Ms. Jaécio Carlos Diniz, por me receber muito bem no Laboratório de Química de Produtos Naturais do Departamento de Química, e pela enorme contribuição dada neste trabalho.

Ao funcionário técnico do Laboratório de Botânica da UERN, Fábio Mesquita, pelo apoio na realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Cultura de Tecidos, Eleneide Gurgel, Mônica Silva, Valdiglêzia Arruda, Ricardo Gonçalves, Keithy Andrade e Gessyka Silva pela inestimável colaboração na realização deste trabalho.

Aos meus amigos do mestrado, José Laércio, Emanoella Delfino, Marta Postai e Bruna Abreu, pela amizade, conselhos e incentivos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada.

## RESUMO

A planta *Lippia gracilis* Schauer é endêmica do Nordeste brasileiro e possui óleo essencial com diversas utilidades medicinais. Considerando que a adubação é uma prática fundamental para a exploração econômica dessa cultura, montou-se um experimento em casa-de-vegetação para avaliar a resposta da *L. gracilis* Schauer à adubação nitrogenada na presença e na ausência da adubação fosfatada. O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Foram avaliados doze tratamentos, correspondentes a seis doses de nitrogênio (0, 100, 200, 300, 400 e 500 mg dm<sup>-3</sup> de N) combinadas com duas doses de fósforo (0 e 100 mg dm<sup>-3</sup> de P). A unidade experimental era formada por um vaso plástico contendo oito litros de substrato e uma planta de *L. gracilis* Schauer, obtida por estaquia. As fontes de N e de P utilizadas nas adubações foram ureia e fosfato monoamônico (MAP). Aos 60 dias após o início da aplicação dos tratamentos, as plantas foram colhidas e realizadas as análises químicas para determinação dos teores de clorofilas a e b, clorofila total, carotenóides totais, aminoácidos solúveis totais, proteínas totais, além da análise nutricional nas folhas, produção de matéria seca, teor do óleo essencial produzido e a cromatografia dos constituintes do óleo. Os resultados obtidos indicaram que a adubação nitrogenada aumentou os rendimentos de matéria seca da parte aérea da planta e de óleo essencial, tanto na presença quanto na ausência da adubação fosfatada. Os resultados obtidos indicam que o aumento da disponibilidade de nitrogênio influenciou todas as variáveis estudadas tanto na ausência quanto na presença da adubação fosfatada. A produção de matéria seca apresentou efeito quadrático para as doses de N, desse modo, nas condições desse experimento à produção máxima de matéria seca foi obtida com 114,01g/planta de N, o que corresponde à dose de 400mg/dm<sup>-3</sup> de N. A cromatografia gasosa mostrou que os constituintes de interesse comercial permaneceram presentes no óleo essencial em quantidades significativas com adubação mineral.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alecrim da Chapada. Plantas Medicinais. Adubação Mineral.

## ABSTRACT

The plant *Lippia gracilis* Schauer is endemic to the Brazilian northeast and possesses essential oil with diverse medicinal properties. Considering that fertilization is a fundamental practice for the economical exploration of this culture, an experiment was assembled in a greenhouse to evaluate the response of the *Lippia gracilis* Schauer over nitrogenous fertilization in the presence and absence of phosphate fertilization. The experiment was brought together in the delineation entirely design, with five repetitions. Twelve treatments were appraised, corresponding six doses of nitrogen (0, 100, 200, 300, 400 e 500 mg dm<sup>-3</sup> of N) combined with two doses of phosphorus (0 e 100 mg dm<sup>-3</sup> of P). The experimental unity consisted of an eight-liter plastic vase containing substrate, and one *L. gracilis* Schauer plant, obtained from cuttings. The N and P sources utilized in the fertilization procedures were urea and monoammonium phosphate (MAP). 60 days after the treatment application started, the plants were harvested and chemical analyses were performed to determine the ratio of chlorophylls a and b, total chlorophyll, total carotenoids, total soluble amino acids, total proteins, besides nutritional analysis of leaves, production of dry matter, produced essential oil ratio, and oil constituents chromatography. The achieved results indicated that nitrogenous fertilization increased dry matter profit of the plant aerial part and essential oil, both in presence and absence of phosphatic fertilization. The obtained results indicate that the increase of nitrogen availability influenced all studied variables in presence and absence of phosphate fertilization. The dry matter production presented quadratic effect for N doses, thus, in this experiment conditions the maximum dry matter production was obtained with 114,01g/plant of N, which corresponds to 400mg/dm<sup>-3</sup> of N dose. The gas chromatography showed that the constituents of commercial interest remained present in the essential oil at significant quantities with mineral fertilization.

**KEYWORDS:** Plateau Rosemary. Medicinal Plants. Mineral Fertilization.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química do solo do local de coleta na cidade de Felipe Guerra-RN.....	21
Tabela 2. Análise física do solo do local de coleta na cidade de Felipe Guerra-RN...	21
Tabela 3. Análise química do substrato.....	22
Tabela 4. Análise física do substrato.....	22
Tabela 5. Doses de nutrientes aplicadas em cada tratamento na primeira aplicação...	23
Tabela 6. Doses de Ureia parcelada após a primeira aplicação.....	23
Tabela 7. Matéria seca, rendimento do óleo, teor do timol, carvacrol e $\rho$ -cimeno na <i>Lippia gracilis</i> em função de doses de N na ausência e presença de P.....	30

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do timol, carvacrol e $\rho$ -cimeno.....	16
Figura 2. Clorofila a em função de doses de N na ausência e presença de P.....	26
Figura 3. Clorofila b em função de doses de N na ausência e presença de P.....	27
Figura 4. Clorofila Total em função de doses de N na ausência e presença de P.....	27
Figura 5. Carotenóides em função de doses de N na ausência e presença de P.....	27
Figura 6. Carboidratos em função de doses de N na ausência e presença de P.....	28
Figura 7. Proteínas em função de doses de N na ausência e presença de P.....	28
Figura 8. Teor de N nas folhas em função de doses de N na ausência e presença de P.....	29
Figura 9. Teor de P nas folhas em função de doses de N na ausência e presença de P.....	30
Figura 10. Matéria seca da planta em função de doses de N na ausência e presença de P.....	31
Figura 11. Teor de óleo em função de doses de N na ausência e presença de P.....	32
Figura 12. Teor de Timol em função de doses de N na ausência e presença de P.....	33
Figura 13. Teor de Carvacrol em função de doses de N na ausência e presença de P.....	33
Figura 14. Teor de $\rho$ -cimeno em função de doses de N na ausência e presença de P.....	34
Figura 15. Rota biosintética do timol e carvacrol a partir do $\Upsilon$ - terpineno e $\rho$ -cimeno.....	34

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	12
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
1.1. <i>LIPPIA GRACILIS</i> SCHAUER .....	14
1.2. ÓLEO ESSENCIAL.....	15
1.2.1. Óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> Schauer.....	15
1.2.2. Importância econômica dos óleos essenciais .....	17
1.3. NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS .....	17
1.3.1. Nitrogênio e Fósforo .....	19
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.1. INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO .....	21
2.2. CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO .....	22
2.3. ANÁLISES .....	24
2.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	255
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	266
3.1. ANÁLISES BIOQUÍMICAS .....	266
3.2. ANÁLISE FOLIAR DO N E P.....	28
3.3. PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA, RENDIMENTO E QUANTIFICAÇÃO DO ÓLEO .....	30
4. CONCLUSÕES .....	366
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	377

## INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são compostos químicos voláteis menos densos e mais viscosos que a água à temperatura ambiente, podendo ser extraídos a partir de uma grande variedade de plantas, sendo normalmente encontrados, em baixas concentrações, em glândulas especiais da planta, denominadas tricomas (NAVARRETE *et al.*, 2011).

Os óleos essenciais são provenientes do metabolismo secundário dos vegetais e, segundo Morais (2009), esses óleos são constituídos por uma mistura complexa de diversas classes de substâncias, dentre elas os fenilpropanóides, mono e sesquiterpenos, para os quais é atribuída a atividade antimicrobiana de muitos desses óleos.

As principais características dos óleos essenciais são sua fragrância e suas atividades antimicrobianas e antioxidantes, sendo, portanto, largamente utilizados em indústrias de perfume; de aditivos naturais para aromatizar alimentos; nas indústrias farmacêuticas, por conter estruturas fenólicas que o tornam ativo contra microrganismos; e em indústrias de cosméticos (NAVARRETE *et al.*, 2011). A alta demanda por óleos essenciais como matéria-prima para diversas indústrias do mercado mundial faz com que haja uma necessidade do aumento em sua produção, a fim de atender todo o comércio interno e externo destes produtos (BIZZO *et al.*, 2009).

A produção de óleo essencial no mundo é estimada em 45 a 50 mil toneladas, atingindo valores de U\$1 bilhão anuais (GAMA, 2011). O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, sendo estes considerados os quatro maiores produtores mundiais do produto (BIZZO *et al.*, 2009). Os autores ainda afirmam que esta posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais extraídos dos cítricos, como subprodutos da indústria de sucos. O Brasil produz e exporta, por ordem de importância, óleos de laranja, limão, eucalipto, pau-rosa, lima e capim-limão (FERRAZ *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais de espécies da flora medicinal da Caatinga apresentam-se como uma fonte promissora de novos antimicrobianos, pois esse bioma, com suas peculiaridades climáticas, proporciona um incremento na biossíntese de óleos essenciais. Na maioria das vezes, os óleos essenciais apresentam aumento em seu teor quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperaturas elevadas (MORAIS, 2009). Esta condição climática proporciona um aumento no teor do óleo, e por isso as plantas produtoras de óleo essencial do Nordeste brasileiro apresentam vantagens, visto que nessas regiões as

temperaturas são em média de 28°C, podendo ser cultivadas em grande escala para extração e comercialização desses compostos.

Na medicina tradicional nordestina, espécies pertencentes ao gênero *Lippia* (Verbenaceae) são bastante utilizadas, e dentre essas espécies, a *Lippia gracilis* Schauer se destaca. Esta espécie é um arbusto nativo da Caatinga e produz um óleo essencial com proporções variáveis de fitoquímicos antimicrobianos de ação comprovada (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2008; NETO *et al.*, 2010).

A espécie apresenta propriedades medicinais, como atividade antimicrobiana no tratamento de infecções gastrointestinais, respiratórias, cutâneas, e destaca-se por apresentar altos teores de monoterpenos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006).

A síntese de princípios ativos nas plantas medicinais é derivada do metabolismo secundário e pode ser regulada tanto por fatores genéticos quanto ambientais. Entre os fatores de estresse que interferem na composição química da planta, a nutrição merece destaque, pois a deficiência ou o excesso de nutrientes pode interferir na produção de biomassa e na quantidade de princípio ativo (MAPELI *et al.*, 2005).

Portanto, o *status* nutricional da planta tem grande importância na obtenção de produtos do metabolismo secundário, sendo por isso muito importante ter um programa de adubação voltado especificamente para a cultura desejada. Os nutrientes que apresentam maior relevância em um programa de adubação em solos do Nordeste brasileiro são o N e P. De acordo com Malavolta *et al.* (1997), o nutriente mais importante é o N, devido à grande quantidade requerida pelas plantas e pela alta dinâmica do solo, e o segundo mais importante é o P. Os solos do Nordeste possuem baixos teores de P, sendo considerados os mais limitantes para o desenvolvimento das plantas.

Tendo em vista a grande importância da adubação nitrogenada e fosfatada para maioria das culturas, e levando em consideração a restrição de resultados de pesquisa sobre a influência desse tipo de adubação no incremento de óleos essenciais, este estudo tem como objetivo avaliar a produção da planta *Lippia gracilis* Schauer sob diferentes doses de adubação mineral, visando aumentar a rentabilidade da cultura e definir as doses recomendadas de N e P.

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1. *Lippia gracilis* Schauer

A espécie *Lippia gracilis* pertence à família Verbenaceae e é constituída por aproximadamente 100 gêneros e 2.600 espécies (CRONQUIST, 1981) encontradas em regiões temperadas, tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (BONZANI *et al.*, 2003). Seus representantes apresentam hábitos variados, desde árvores de grande porte (*Tectoma grandis* L.) até ervas (*Verbena officinalis* L.) (METCALFE; CHALK, 1972; BRAGA *et al.*, 2009).

O gênero *Lippia* é o segundo maior da família Verbenaceae, com aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores em três centros de dispersão, sendo o Brasil o maior deles, com 111 espécies, que se destacam por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu aroma forte e geralmente agradável (TERBLANCHÉ; KORNELIUS, 1996; PASCUAL, 2001; GOMES, 2009). O gênero *Lippia* é conhecido por apresentar, principalmente, atividade antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante e larvicida (BOTELHO *et al.*, 2007; MENDES *et al.*, 2010; DAMASCENO *et al.*, 2011).

*Lippia gracilis* Schauer, conhecida popularmente como alecrim-da-chapada ou alecrim-de-serrote, é uma planta aromática endêmica do Nordeste brasileiro, próprio da vegetação semiárida. É encontrada predominantemente nos estados da Bahia, Sergipe e Piauí (LORENZI e MATOS, 2002) e apresenta-se como um arbusto de aproximadamente 2,5 m de altura, bem ramificado, de folhas pequenas e flores brancas, ambas bastante odoríferas (GOMES *et al.*, 2011). A planta possui grande resistência à seca e altas temperaturas, perdendo suas folhas somente após um longo período de estiagem (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

No Nordeste do país as espécies de *Lippia* são usadas na medicina popular para o tratamento de resfriados, gripes, bronquites e tosse. Em muitos casos, as partes usadas são as folhas e flores na forma de infusão ou decocto administradas oralmente ou através de emplastos (PASCOAL *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Além dessas utilidades Matos, (2002) sugere essa espécie como antisséptica local, no tratamento da seborréia, na cura de impingem e dermatoses.

A espécie apresenta propriedades medicinais destacando-se por apresentar altos teores de monoterpenos. Os compostos químicos presentes no óleo essencial, principalmente

os monoterpenos carvacrol e timol, tem apresentado forte ação contra bactérias e fungos (ALBUQUERQUE et al., 2006; GOMES et al., 2011).

Entre as plantas utilizadas como medicinais, a *L. gracilis* tem se destacado pelas suas comprovadas propriedades bactericida e antifúngica, tornando-a uma planta promissora para as indústrias química e farmacêutica.

## 1.2. Óleo essencial

### 1.2.1. Óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides. Estes compostos são descritos como “secundários” e, embora não sejam necessários ao ciclo da vida das plantas, desempenham papel na interação destas com o meio ambiente (PERES, 2004).

As características farmacológicas das plantas estão diretamente ligadas às substâncias que elas produzem por meio de seu metabolismo secundário. Essas substâncias são denominadas óleos essenciais (OLIVEIRA, 2012).

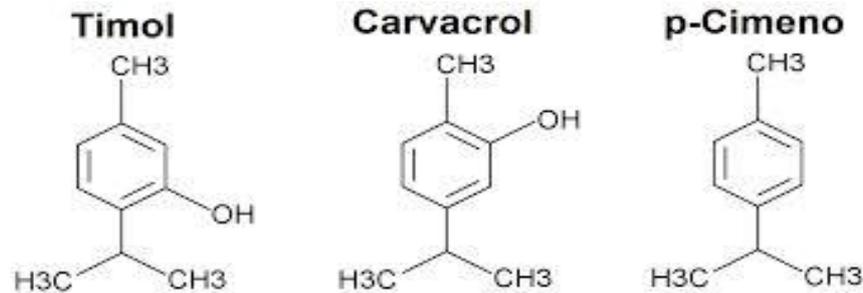
O óleo essencial é uma mistura complexa de substâncias voláteis lipofílicas (metabólitos secundários), geralmente odoríferas e líquidas. Podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essenciais, devido a algumas de suas características físico-químicas, como volatilidade, solubilidade em solventes orgânicos (como o éter) e aroma intenso, muitas vezes agradável (MATTOS et al., 2007).

No gênero *Lippia*, a secreção de óleos essenciais tem sido associada à presença de tricomas, os quais normalmente são de formas variadas entre grupos vegetais, mas, em geral, uniformes dentro de um mesmo táxon (GOMES et al., 2011).

O óleo essencial de *L. gracilis* geralmente é extraído das folhas e flores. Geralmente possuem atividade anti-inflamatória (GUILHON et al., 2011), antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 2006; NETO et al., 2010), inseticida (SILVA et al., 2008) e efeito analgésico (MENDES et al., 2010).

O óleo essencial obtido a partir desta espécie contém concentrações variáveis de compostos orgânicos com atividade antimicrobiana, destacando-se o carvacrol, o timol, e o p-cimeno (Figura 1) (ALBUQUERQUE et al., 2006; BURT, 2007; CAVALCANTI, 2006; CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS, 2009; DUKE, 2009; NETO, 2007; NEVES et al., 2008; DANTAS, et al., 2010).

Figura 1. Estrutura molecular do timol, carvacrol e p-cimeno



Fonte: JOCA, 2012.

O timol e carvacrol são fenóis monoterpénóides biosintetizados em plantas a partir do  $\gamma$ -terpineno e p-cimeno. Por isso, estes últimos estão sempre presentes em óleos essenciais que contém timol e carvacrol (BASER; DEMIRCI, 2007).

A composição química do óleo de *L. gracilis* Schauer mostra flutuações quantitativas dos componentes majoritários, provocadas possivelmente pelas condições genéticas, pela localidade e pelas condições em que a planta é cultivada. Com isso, é comum pesquisadores encontrarem diferentes proporções dos constituintes nas análises fitoquímica das pesquisas. (GOMES *et al.*, 2011).

Lorenzi e Matos (2002) afirmaram em pesquisa que a análise fitoquímica do óleo da *L. gracilis* registra até 2% de óleo essencial, cuja composição contém timol ou mistura de timol e carvacrol. Matos (2000) afirma que o óleo é constituído por p-cimeno (14,5%), gama terpineno (10,6%) e carvacrol (38,4%) como constituintes majoritários, enquanto Silva *et al.*, (2008) mencionam que os principais constituintes do óleo da *L. gracilis* são o carvacrol (44,43%), p-cimeno (9,42%),  $\gamma$ -terpineno (9,16%),  $\beta$ -cariofileno (8,83%), e o timol (3,83%).

Trabalhos realizados com a *L. gracilis* revelam que o rendimento e a composição do óleo essencial variam de acordo com as condições climáticas, características do solo, temperatura, horário de colheita, entre outros. Diante disso, pesquisas devem ser realizadas com o objetivo de determinar as condições ideais de cultivo para cada região onde esta possa garantir melhor qualidade do óleo e um maior rendimento, proporcionando, assim, maior lucro para o produtor.

### 1.2.2. Importância econômica dos óleos essenciais

Óleos essenciais são fontes de matéria-prima para indústrias química, medicamentos, perfumaria e alimentos, possuindo alto valor de mercado agregado. Desta forma, possuem um interesse crescente para pesquisas científicas, devido às suas atividades antifúngicas e antibacterianas.

O mercado mundial de óleo essencial movimenta em torno de US\$ 15 milhões/ano, apresentando crescimento aproximado de 11% anuais (BIZZO *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais derivados de citros são responsáveis pelo alto valor da produção desse tipo de substâncias, pois são largamente utilizados em perfumaria, materiais de limpeza e na área farmacêutica em geral. No Brasil, a principal espécie produtora de óleo medicinal é a *Eucalyptus globulus*, enquanto a espécie produtora de óleo para a perfumaria é a *E. citriodora*, rica em citronelal, ao lado de *E. staigeriana*, rica em citral. (BIZZO *et al.*, 2009).

Devido às atividades bactericidas e antifúngicas já comprovadas da *L. gracilis*, seu óleo essencial apresenta potencial econômico para concorrer no mercado mundial deste produto, pois existe demanda por novos produtos com atividade antimicrobiana e inseticida. Devido a esse fato, é fundamental o desenvolvimento de pesquisas aplicadas à produção de óleo essencial dessa espécie, de modo a se obter grande quantidade de óleo com ótima qualidade e máximo rendimento.

### 1.3. Nutrição mineral de plantas

O estudo da nutrição de plantas trata da aquisição de elementos nutritivos e da função desses elementos na vida das plantas. Como uma ciência, a nutrição de plantas é uma especialidade dentro do tópico geral da fisiologia vegetal. As funções metabólicas e bioquímicas dos elementos químicos ligam a nutrição de plantas a outros aspectos da fisiologia, da bioquímica e da biologia molecular de plantas. Por outro lado, as interações das raízes de plantas com o seu ambiente químico associam a nutrição de plantas à ecologia (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

A nutrição de plantas é uma das principais ferramentas usadas para incrementar a produtividade e a rentabilidade das culturas. Para o produtor alcançar grande produtividade de uma determinada cultura, torna-se primordial o uso de adubos químicos, utilizando-os em

quantidades adequadas, de modo a atender a critérios econômicos e, ao mesmo tempo, ambientais, para que se possa alcançar alta produtividade e conservar as propriedades físicas do solo, mantendo-o em equilíbrio.

O uso indiscriminado de adubos químicos pode causar grande impacto ambiental no solo onde este causa desagregação das partículas, levando-o à desertificação, além de contaminar os mananciais hídricos, alterando o ecossistema ao seu redor. Contudo, quando utilizado de maneira correta, proporciona maior produtividade e rentabilidade da cultura e maior lucro para o produtor, além de manter o ambiente em equilíbrio.

Para o estabelecimento de um programa apropriado de adubação, é necessário identificar os principais problemas inerentes à nutrição da planta e, posteriormente, determinar quais nutrientes são limitantes, suas quantidades, épocas e formas de aplicação corretas (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

A dose do nutriente a ser aplicada depende fundamentalmente do teor do elemento disponível no solo e a expectativa de rendimento a ser obtido. As doses são obtidas por meio de experimentos de calibração e são fornecidas através de tabelas de recomendações de adubação de cada estado ou região brasileira, ou nos pacotes tecnológicos que existem para a cultura nas áreas de aptidão agrícola (PEREIRA, 2011).

O desenvolvimento vegetal e a produção de óleos essenciais em plantas aromáticas são influenciados por vários fatores ambientais, incluindo condições edáficas. Neste sentido, os macronutrientes N, P e K atuam influenciando vários eventos bioquímicos do metabolismo primário e secundário de plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo Sangwan *et al.* (2001), a aplicação de fertilizantes em plantas aromáticas normalmente afeta a produção de óleos essenciais, tendo assim necessidade de se avaliar as exigências de cada espécie, bem como o manejo adequado da adubação.

Para *Lippia gracilis* Schauer, as informações sobre adubação ainda são pouco conhecidas, não possuindo tabela de recomendação de adubação. Embora as espécies do gênero *Lippia* sejam fontes de importantes compostos potencialmente ativos, as informações científico-agronômicas sobre estas plantas crescem em ritmo lento (DINIZ *et al.*, 2003; MARINHO *et al.*, 2011).

*L. gracilis* Schauer é encontrada em solos calcários, onde, de acordo com Scholl e Nieuwenhuis (2003), existe uma grande quantidade de cal (carbonato de cálcio) e aparecem, na maioria das vezes, em áreas áridas e muito áridas, tendo a água como fator limitante para a agricultura, além de possível afloramento rochoso. Esses tipos de solos apresentam boa estrutura e boa capacidade de retenção de água, apresentando-se férteis, apesar do seu baixo

teor de matéria orgânica. Mesmo a *L. gracilis* sendo considerada uma planta rústica, não significa que não precisa de nutrientes ou que não responda à adubação mineral.

Atualmente, a *Lippia* está despertando grande interesse econômico para indústrias química e farmacêutica, pois representa uma nova alternativa de mercado para a produção de medicamentos naturais.

A elaboração de recomendações de fertilização nitrogenada e fosfatada para a cultura da *L. gracilis* com base em resultados de pesquisas irá evitar a aplicação de doses de nutrientes aquém ou além das necessidades dessa cultura, proporcionando benefícios econômicos e ambientais. Doses de nutrientes aquém das necessidades da planta causam baixa produtividade, porém, doses excessivas de nutrientes podem causar prejuízos econômicos e ambientais. Portanto, o desenvolvimento de uma recomendação de adubação baseada em curvas de resposta é indispensável para o cultivo da *L. gracilis* Schauer.

### 1.3.1. Nitrogênio e Fósforo

No sistema solo-planta, o nitrogênio mineral é absorvido nas formas de nitrato ou amônio, os quais entram em contato com as raízes das plantas preferencialmente pelo fluxo de massa (MALAVOLTA *et al.*, 1997; PEREIRA, 2011).

No solo, o nitrogênio apresenta diversas formas orgânicas e inorgânicas que estão dinamicamente equilibradas por meio do ciclo do N, o qual é bastante complexo. O nitrogênio pode se incorporar ao sistema solo-planta a partir dos restos culturais, por processos de fixação biológica, adubação com fertilizantes industriais, e também por precipitação induzida por descargas elétricas (RAIJ, 1991; PEREIRA, 2011).

O N é constituinte de vários compostos orgânicos nas plantas, como aminoácidos, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, clorofilas, dentre outros (TAIZ; ZEIGER, 2010). É um macronutriente essencial, sendo fundamental para o crescimento das plantas. De acordo com Epstein e Bloom (2006), sua deficiência é a mais dramática em seus efeitos, exceto pela seca; sua ausência causa clorose generalizada e hábito estiolado; o crescimento é retardado e lento, e as plantas adquirem uma aparência não viçosa. Por ser um elemento móvel, as partes mais maduras são as primeiras a apresentarem os sintomas, pois o nitrogênio transloca-se de regiões mais velhas para as mais jovens, que crescem ativamente.

O nitrogênio é o nutriente mais limitante para muitas culturas no mundo, e o seu uso eficiente é de extrema importância econômica para os sistemas de produção. Além do mais, a dinâmica natural do nitrogênio e a perda deste no sistema solo-planta criam um

desafio único para seu correto manejo (FAGERIA; BALIGAR, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2010).

Dentre os fatores que influenciam o desenvolvimento das plantas, a adubação fosfatada merece destaque, em virtude dos solos brasileiros apresentarem comumente baixos teores desse elemento, como afirmam os estudos de Raij *et al.*, (1982). Os autores revelam deficiência generalizada de fósforo disponível nos solos brasileiros, ocorrendo casos em que não se consegue qualquer produção das culturas sem aplicação desse nutriente, como ocorre, por exemplo, nos Cerrados na região Centro-Oeste.

A folhagem verde-escura ou azul-esverdeada é um dos primeiros sintomas da deficiência do P. Além disso, muitas espécies frequentemente apresentam pigmentos vermelhos, purpúreos e marrons nas folhas, sendo estes especialmente ao longo das nervuras. A planta apresenta, além destes sintomas, crescimento reduzido e, quando em deficiência severa, tornam-se enfezadas (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

O fósforo é o nutriente mais limitante da produtividade de biomassa em solos tropicais; importante para divisão celular, diretamente relacionado com o acúmulo de matéria seca, fotossíntese, formação de açúcares e amidos, também influencia na absorção e no metabolismo de vários outros nutrientes, especialmente o nitrogênio (NOVAIS; SMITH, 1999; REPKE *et al.*, 2012).

O fósforo aumenta a eficiência do nitrogênio absorvido, o qual se une às cadeias carbonadas, incrementando, assim, a formação de novos tecidos. Consequentemente, a longevidade das folhas fotossinteticamente ativas, as quais sob condições ambientais favoráveis, elevam a eficiência do uso da radiação solar, aumentando, portanto, o acúmulo de matéria seca e produção de grãos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Instalação do experimento

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais (FANAT), no Campus Central da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), com a latitude de 06°12'43" S e longitude de 37°20'39" W, na cidade de Mossoró –RN.

O experimento obedeceu ao esquema inteiramente casualizado, sendo aplicados 12 tratamentos com 5 repetições, totalizando 60 plantas. Estacas com aproximadamente 20 cm de comprimento foram utilizadas como fonte de propágulo, sendo estas coletadas de plantas matrizes localizadas no Sítio Boqueirão, na Cidade de Felipe Guerra-RN, com latitude de 5° 60' 22" S e longitude de 37° 67'92" W. Segundo IDEMA (2013), as características climáticas do município constituem-se por um clima muito quente, semiárido e temperatura média anual em torno de 27,8°C, com estações chuvosas que podem se estender até o mês de outubro. As características químicas e físicas do solo da área da coleta encontram-se dispostas nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Análise química do solo do local de coleta na cidade de Felipe Guerra-RN.

N	pH	CE	MO	P	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	(H+A)	SB	t	CTC	V	m	PST
g/Kg	(água)	dS/m	g/Kg	-----	mg dm <sup>-3</sup> ---	-----	-----	-----	-----	cmolc dm <sup>-3</sup> -----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
0,14	8,21	0,26	27,96	2,9	299,7	24,9	12,50	4,40	0,00	0,00	17,78	17,78	17,78	100	0	1

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Tabela 2. Análise física do solo do local de coleta na cidade de Felipe Guerra-RN.

Frações granulométricas					Densidade
-----Kg/Kg-----					----Kg/dm <sup>3</sup> ----
Areia Grossa	Areia Fina	Areia Total	Silte	Argila	Aparente
0,22	0,33	0,55	0,27	0,18	2,49

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Após a coleta, a base das estacas foram imersas em solução de ácido naftaleno acético (50 mgL<sup>-1</sup>) por 24 horas antes do plantio para induzir o enraizamento, e logo em seguida foram plantadas em vasos plásticos com capacidade de 8 kg de substrato, sendo este formado por areia lavada, barro vermelho e composto orgânico comercial (Polifertil®) na proporção de 2:1:1/2, respectivamente. Em cada vaso foram plantadas 4 estacas, as quais permaneceram por 50 dias, quando foi realizado o desbaste, deixando apenas uma planta por

vaso. As características químicas e físicas do substrato encontram-se dispostos nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Análise química do substrato.

N	pH	CE	MO	P	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	(H+A)	SB	t	CTC	V	m	PST
g/Kg	(água)	dS/m	g/Kg	-----mg dm <sup>-3</sup> -----	-----cmolc dm <sup>-3</sup> -----						-----%-----					
1,12	8,4	-	7,8	256,8	101,7	488,8	4,5	0,7	0	0	7,59	7,59	7,59	100	0	28

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Tabela 4. Análise física do substrato.

Frações granulométricas					Densidade		Porosidade Total
-----Kg/Kg-----					-----Kg/dm <sup>-3</sup> -----		%
Areia Grossa	Areia Fina	Areia Total	Silte	Argila	Aparente	Real	-
0,71	0,16	0,88	0,04	0,09	1,538	2,60	40,8462

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

## 2.2. Condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação telada com sombrite, que barra 70% de luminosidade, e temperatura em torno de 29°C. A irrigação foi realizada de maneira manual, utilizando uma proveta e aplicando 1.000 ml de água diariamente para repor as perdas por evapotranspiração e lixiviação. A quantidade de água disponibilizada às plantas foi dada pela retirada da capacidade de vaso, colocando um vaso com substrato seco em um recipiente com volume de água conhecido. Quando a água atingiu a superfície do substrato, por capilaridade, foi quantificada a água retida, sendo esta a capacidade do vaso.

Após 65 dias do plantio das estacas, foram aplicados 11 doses com N e P com diferentes concentrações em forma de regressão, sendo que o tratamento utilizado como testemunha não recebeu nenhuma dose de N e P. Os demais nutrientes que não estavam sendo avaliados foram aplicados em todos os tratamentos na mesma proporção (Tabela 5).

Cada tratamento foi repetido por 5 vezes, o que resultou em 60 vasos. Os nutrientes N e P que estavam sendo avaliados foram aplicados na irrigação a partir de Fosfato monoamônio (MAP), Ureia e Dihidrogenofosfato de potássio, sendo realizado 1 aplicação de MAP na primeira aplicação e 3 aplicações de Ureia parceladas em 10, 20 e 30 dias após a primeira aplicação (Tabela 6); o Dihidrogenofosfato de potássio foi utilizado apenas no tratamento 7 onde houve apenas a aplicação de P.

Tabela 5. Doses de nutrientes aplicadas em cada tratamento na primeira aplicação.

Tratamentos	Dose de N	Dose de P	MAP	Ureia	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	KCl
	-----mgdm <sup>-3</sup> -----		(g/vaso)	(g/vaso)	(g/vaso)	(g/vaso)
1	0	0	-	-	-	1,3026
2	100	0	-	0,4345	-	1,3026
3	200	0	-	0,4345	-	1,3026
4	300	0	-	0,4345	-	1,3026
5	400	0	-	0,4345	-	1,3026
6	500	0	-	0,4345	-	1,3026
7	0	100	-	-	1,9997	1,3026
8	100	100	2,1727	-	-	1,3026
9	200	100	2,1727	-	-	1,3026
10	300	100	2,1727	-	-	1,3026
11	400	100	2,1727	-	-	1,3026
12	500	100	2,1727	-	-	1,3026

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Tabela 6. Doses de Ureia parcelada após a primeira aplicação.

Tratamentos	Ureia (g/vaso)		
	10 dias após a primeira aplicação	20 dias após a primeira aplicação	30 dias após a primeira aplicação
1	-	-	-
2	0,1923	0,1923	0,1923
3	0,5294	0,5294	0,5294
4	0,8666	0,8666	0,8666
5	1,2037	1,2037	1,2037
6	1,5408	1,5408	1,5408
7	-	-	-
8	0,1923	0,1923	0,1923
9	0,5294	0,5294	0,5294
10	0,8666	0,8666	0,8666
11	1,2037	1,2037	1,2037
12	1,5408	1,5408	1,5408

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

### 2.3. Análises

No 60º dia após o início da aplicação dos tratamentos, as plantas foram colhidas e levadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos da UERN, onde foi pesada a matéria fresca da parte aérea e realizadas as análises dos aminoácidos solúveis totais, clorofilas a e b, clorofila total e carotenóides totais.

A extração da clorofila a/Chla, clorofila b/Chlb e carotenoides foi realizada mediante a utilização de etanol a 80% (WINTERMANS; DE MOTTS, 1965), sendo que a quantificação das clorofilas a, b e total foi realizada utilizando espectrofotômetro nos comprimentos de onda 645 nm e 663 nm, respectivamente (ARNON, 1949), e os carotenoides foram quantificados utilizando o comprimento de onda 470 nm (LICHTENTHALER, 1987).

Para determinação da matéria seca, as folhas foram colocadas separadamente em sacos de papel craft e postas em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 65°C durante 5 dias até a estabilização do peso, sendo pesadas através de uma balança analítica de precisão.

Após a determinação do peso da matéria seca foram pesadas 2g de folhas diagnósticas e enviadas ao Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) para análise dos macronutrientes N e P presentes nas folhas, no qual o N foi determinado a partir da digestão sulfúrica e quantificado pelo método Kjeldahl, conforme a Embrapa, e o P foi determinado a partir da digestão nítrica em forno microondas, sendo suas determinações realizadas por espectrometria para P.

Posteriormente foram retiradas mais 3g para a realização das análises de proteínas totais e carboidratos solúveis totais. A extração e quantificação das proteínas totais foram empregadas o método do Biureto (GORNALL *et al.*, 1949). Para a extração e quantificação de açúcares solúveis totais (AST), foi utilizado o método de acordo com Corrêa (2009).

Para a extração do óleo essencial, foi utilizado o restante de todas as folhas das plantas e, em seguida, calculado o rendimento e feito à quantificação dos constituintes timol, carvacrol e *p*-cimeno.

A extração do óleo essencial foi realizada através do método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. As folhas secas de cada tratamento foram levadas ao Laboratório de Química de Produtos Naturais do Departamento de Química da UERN, onde foram pesadas e colocadas em balão de fundo redondo com capacidade de 2L, contendo água destilada. O balão foi acoplado ao aparelho de Clevenger modificado e a

extração foi realizada pelo período de 2 horas, controlando-se a temperatura para aproximadamente 100°C, para evitar a evaporação dos constituintes voláteis do óleo.

Após a destilação, o óleo foi recolhido em provetas tampadas e armazenadas em geladeira, cobertas com papel alumínio, sendo no dia seguinte filtrados com Sulfato de sódio anidro P.A (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para remover a umidade e, em seguida, foram colocados em frascos de vidro bem fechados cobertos com papel alumínio e armazenados para posterior determinação de sua composição por cromatografia gasosa.

O rendimento do óleo foi calculado a partir da seguinte equação:

$$TO = (M \text{ óleo} / M \text{ folha}) \times 100,$$

sendo:

TO – teor de óleo

M óleo – massa do óleo

M folha – massa das folhas

Para a análise cromatográfica dos óleos e a respectiva quantificação dos seus componentes majoritários - timol, carvacrol e *p*-cimeno -, foi utilizado um cromatógrafo líquido Shimatzu Class-VP.

A quantificação do timol, carvacrol e *p*-cimeno foi realizada utilizando o método do padrão externo, através da construção de curvas de calibração, descrito por Ciola (1998). Os solventes utilizados para as análises cromatográficas foram de grau HPLC.

#### **2.4. Análises estatísticas**

As análises estatísticas consistiram na realização de análises de variância (ANAVA) e de regressão. O efeito da adubação fosfatada foi testado pelo teste F, dentro da própria ANAVA.

A análise de regressão foi realizada para avaliar o efeito da adubação nitrogenada na ausência e na presença da adubação fosfatada. Para cada variável ajustou-se o modelo que apresentava maior R<sup>2</sup>, cujos parâmetros foram todos significativos até 10% de probabilidade pelo teste t. Estas análises foram efetuadas com o software SAEG<sup>®</sup>, de acordo com Ribeiro Júnior (2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

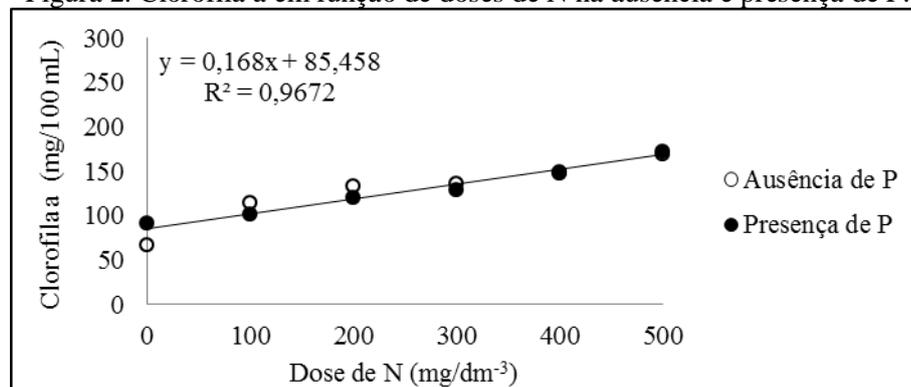
#### 3.1. Análises bioquímicas

As análises de regressão mostraram que para as análises das clorofilas a, b e total, carotenoides, carboidratos e proteínas, não houve diferença estatística significativa na ausência e presença da adubação fosfatada, mostrando que neste substrato as plantas não sofreram diferença com o incremento do P, porém, embora não tenha havido diferença estatística para adubação fosfatada, há um aumento nos elementos em função do incremento do N, sendo significativo a 1% de significância. Para as análises realizadas, o modelo que se ajustou foi o linear (figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7).

Segundo Taiz e Zeiger, (2004), o nitrogênio (N) faz parte da constituição de várias macromoléculas das plantas, tais como proteínas, aminoácidos, enzimas, coenzimas, clorofila, ácidos nucléicos e açúcares estruturais em paredes celulares. Com isso, o aumento das clorofilas a, b e total de forma linear pode ser explicado pela maior disponibilidade de N no substrato, favorecendo a maior atividade fotossintética. Costa *et al.*, (2008), analisando o efeito de diferentes doses de adubos orgânicos no crescimento vegetativo, no teor e na composição química do óleo essencial de elixir paregórico, encontraram resultados semelhantes para os teores de clorofila a, b e total os quais aumentaram linearmente com as doses de esterco avícola, o qual em geral é rico em N.

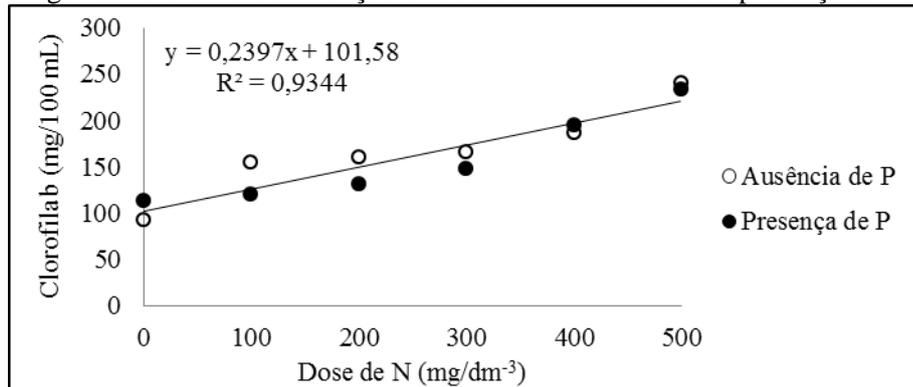
Os resultados dos teores de clorofila encontrados no presente trabalho discordam dos encontrados por Corrêa *et al.*, (2009), que observaram relação quadrática entre os níveis de adubação orgânica e as clorofilas a, b e total em plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.). Podemos ressaltar que a resposta a adubação tanto mineral como orgânica vai depender da espécie.

Figura 2. Clorofila a em função de doses de N na ausência e presença de P.



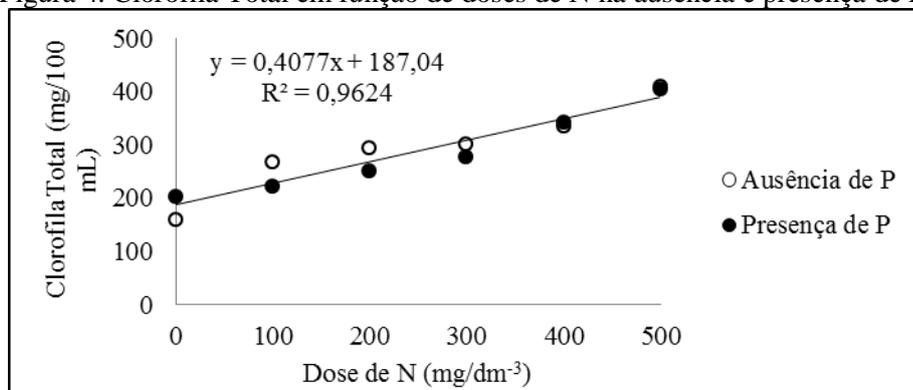
Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Figura 3. Clorofila b em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

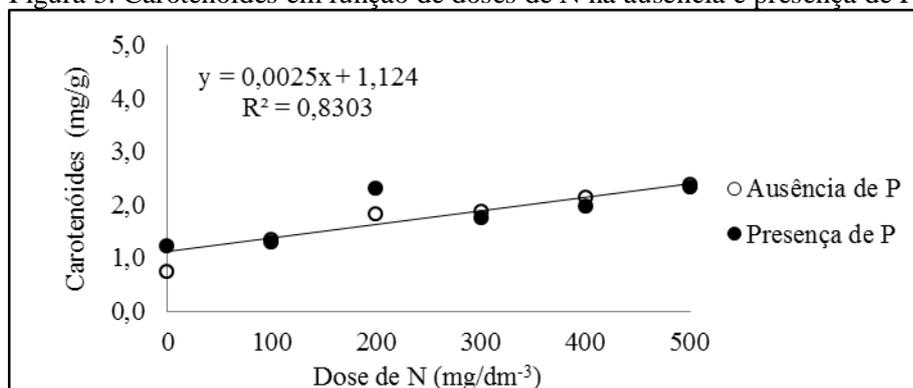
Figura 4. Clorofila Total em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

A adubação nitrogenada influenciou no aumento dos carotenóides (figura 4). De forma semelhante, Lima *et al.*, (2011), quando avaliaram a resposta de *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio, quanto ao crescimento e à produção de pigmentos fotossintéticos, constataram que as concentrações de nitrogênio influenciaram na razão clorofila total/carotenóides, em ambos os estágios de desenvolvimento da planta.

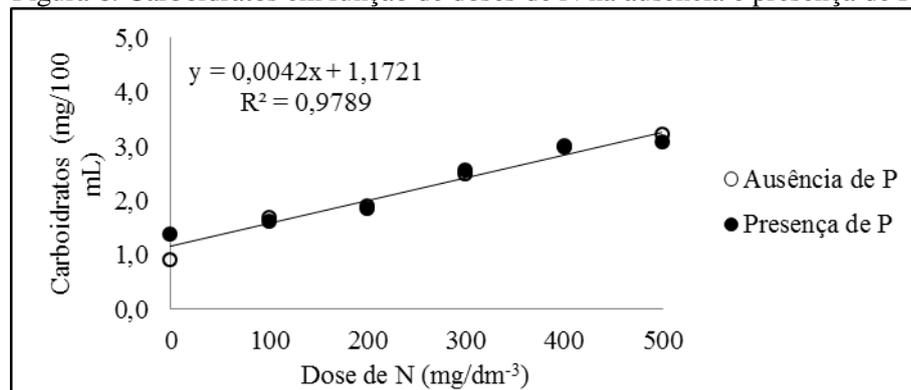
Figura 5. Carotenóides em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

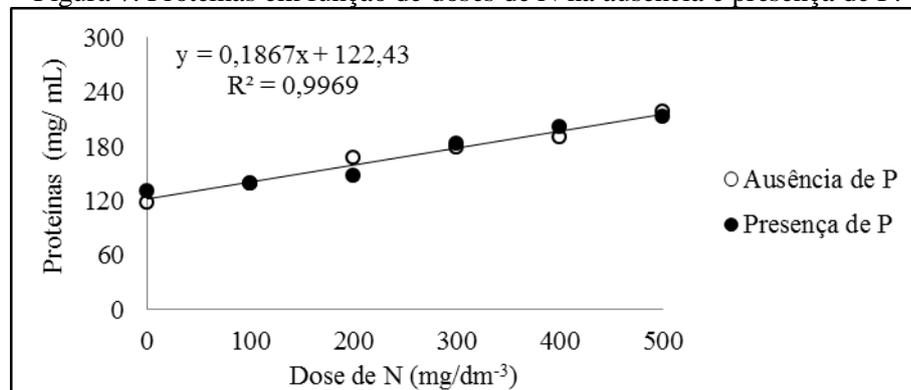
Os carboidratos e proteínas sofreram influência da adubação nitrogenada, aumentando de acordo com o aumento das doses (Figuras 5 e 6). Isto porque folhas bem supridas em N e P são mais eficientes na captação da energia solar, têm maior capacidade de assimilar CO<sub>2</sub> e sintetizar proteínas e carboidratos, influenciando o crescimento e desenvolvimento da planta e resultando, conseqüentemente, em maior acúmulo de biomassa (MARSCHNER, 1995; MATTOS, 1996).

Figura 6. Carboidratos em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Figura 7. Proteínas em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

### 3.2. Análise foliar do N e P

A análise química do tecido foliar é importante para avaliar o estado nutricional das plantas, em complemento à análise química do solo e à diagnose visual, e reflete a dinâmica de nutrientes no sistema solo-planta. (SILVA; BORGES, 2008).

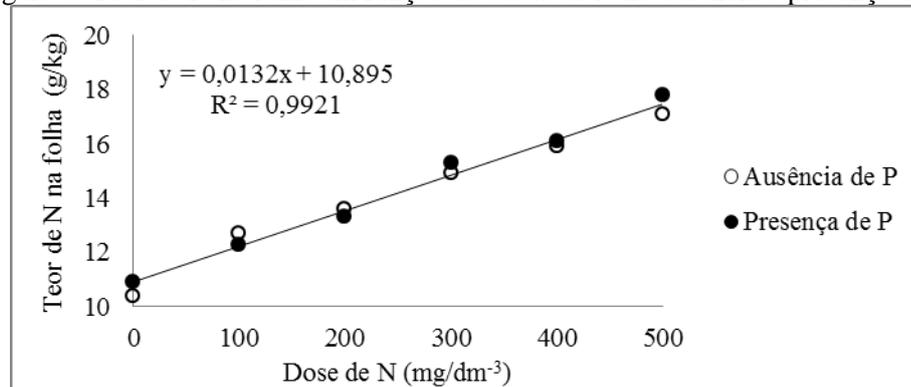
A parte da planta que melhor reflete o estado nutricional das culturas, segundo Malavolta *et al.* (1997), é a folha, pois o teor dos elementos encontrados em suas células é

consequência do efeito dos fatores que atuaram e interagiram até o momento em que esse órgão for colhido para análise química.

De acordo com a análise nutricional foliar (Figura 8), podemos constatar que não houve efeito de doses de P no teor de N nas folhas, contudo, houve um aumento de forma linear na concentração do N à medida que as doses de N aumentaram, sendo significativo a 1% de significância e sendo, ainda, o modelo linear o melhor que se ajustou.

Abreu *et al.*, (2000), avaliando o nitrogênio e fósforo na produção vegetal para indução de mucilagem em plantas medicinais de insulina, verificaram que tanto as quantidades de N como as de P aumentaram nas folhas quando aumentaram as doses da adubação nitrogenada e fosfatada.

Figura 8. Teor de N na folha em função de doses de N na ausência e presença de P.

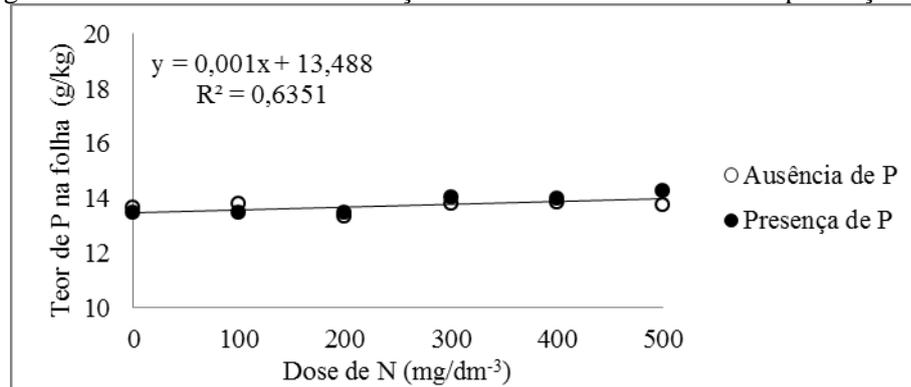


Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

O teor de P na planta (Figura 9) não variou com as doses de N, e nem com as doses de P, apresentando-se praticamente inalterado.

Sales *et al.* (2009) encontraram comportamento semelhante com o P quando avaliou o efeito da adubação orgânica com esterco de curral na presença e ausência de calagem na planta hortelã-do-campo, e constatou que os macronutrientes Mg, P e S praticamente se mantiveram inalterados com o aumento das doses de adubo orgânico.

Figura 9. Teor de P na folha em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Desta forma, podemos considerar que o teor de nutrientes nas folhas está diretamente relacionado com a quantidade de nutrientes do substrato, pois a planta respondeu de forma linear na concentração do N à medida que as doses de N aumentaram, não respondendo à adubação fosfatada, o que nos leva a afirmar que em nossas condições a quantidade de P presente no substrato já era suficiente para uma boa produção da *L. gracilis*.

### 3.3. Produção de matéria seca, rendimento e quantificação do óleo

O presente trabalho revelou que o estado nutricional de *L. gracilis* se reflete na produção de matéria seca, na produção do óleo essencial e no rendimento do seu óleo (Tabela 7).

Tabela 7. Teor do óleo, teor do timol, carvacrol e  $p$ -cimeno na *Lippia gracilis* em função de doses de N na ausência e presença de P.

Dose de N	Dose de P	Matéria Seca	Teor do óleo	Timol	Carvacrol	$p$ -Cimeno
-----mgdm <sup>-3</sup> -----		(g)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	0	17,7	1,21	41,4	31,2	5,2
100	0	86,2	2,27	4,8	53,4	7,0
200	0	104,3	2,59	58,7	15,9	4,2
300	0	115,3	2,94	4,5	51,0	8,4
400	0	117,6	2,9	31,4	27,6	6,5
500	0	119,17	2,91	10,6	48,2	9,2
0	100	24,83	1,25	52,2	15,0	4,8
100	100	81,83	1,87	17,4	44,2	10,9
200	100	102,63	2,26	39,9	31,7	6,8
300	100	107,37	2,65	24,7	27,2	4,9
400	100	110,17	2,63	10,6	52,4	7,7
500	100	111,87	2,64	45,6	25,3	5,4

Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

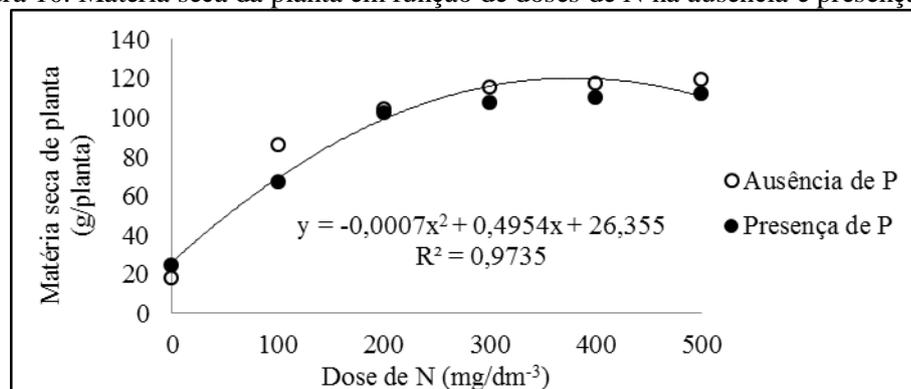
No que diz respeito à produção de matéria seca da parte aérea das plantas, com N na ausência e presença do P, verificou-se uma relação diretamente proporcional ao aumento das doses de N, no entanto, não foi observada influência do P no seu incremento.

De acordo com a análise de variância pelo teste F, a aplicação das doses de N, tanto na ausência quanto na presença do P na matéria seca, apresentou efeito significativo ao nível de 1% de significância.

O N foi o elemento fundamental para o aumento da matéria seca da parte aérea, onde visualmente foi possível observar alongamento dos ramos, aumento do número das brotações, aumento no tamanho das folhas, além de melhorar o rendimento do óleo, fato que Ram *et al.* (1995) e Sangwan *et al.* (2001) confirmaram quando descreveram que a adubação nitrogenada influencia o teor e a qualidade dos óleos essenciais. Segundo Deschamps (2012), em muitos casos o nitrogênio aplicado nas adubações aumenta o teor de óleo essencial em plantas aromáticas, devido ao aumento da biomassa por área, área foliar e taxa fotossintética.

A produção de matéria seca apresentou efeito quadrático para as doses de N, desse modo nas condições desse experimento à produção máxima de matéria seca foi obtida com 114,01g/planta de N o que corresponde à dose de 400mg dm<sup>-3</sup> de N (Figura 10).

Figura 10. Matéria seca da planta em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

O N foi o nutriente de maior influência para melhor desempenho da planta, sendo este responsável pelo elevado aumento da matéria seca e rendimento do óleo essencial.

Para o rendimento do óleo essencial não houve efeito de doses de P; todavia, houve um aumento de forma linear à medida que as doses de N aumentaram.

A produção e armazenamento do óleo essencial na *Lippia* ocorrem em tricomas glandulares situados na parte aérea das plantas, e como a adubação nitrogenada promoveu

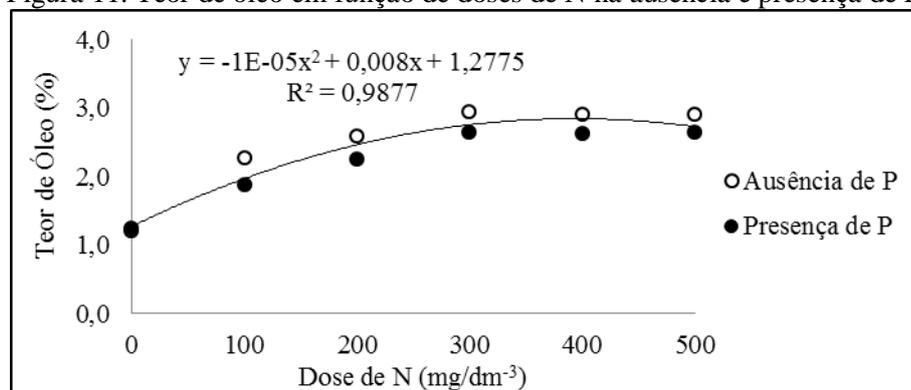
aumento da área foliar, certamente o número de tricomas aumentou também, incrementando, por consequência, o rendimento de óleo.

Resultados semelhantes foram obtidos por Brant *et al.* (2010), quando, estudando a produção de biomassa e teor do óleo essencial de cidrão em função da adubação orgânica com esterco bovino, verificou que o menor teor médio de óleo essencial ocorreu na ausência de adubação e os maiores teores ocorreram na presença do esterco bovino.

Existem duas rotas para biossíntese de terpenos, quais sejam, a rota do ácido mevalônico e a rota do metileritritol fosfato (MEP), sendo através desta última que o P participa diretamente, por meio de um conjunto de reações para produção do óleo essencial (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Doses crescentes de N, tanto na ausência quanto na presença de P, foram favoráveis ao rendimento do óleo (Figura 11). Entretanto, a eficiência da adubação nitrogenada sem o P pode ser explicada pelo alto teor desse elemento mineral ( $256 \text{ mg dm}^{-3}$ ) no substrato no qual o experimento foi montado.

Figura 11. Teor de óleo em função de doses de N na ausência e presença de P.



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

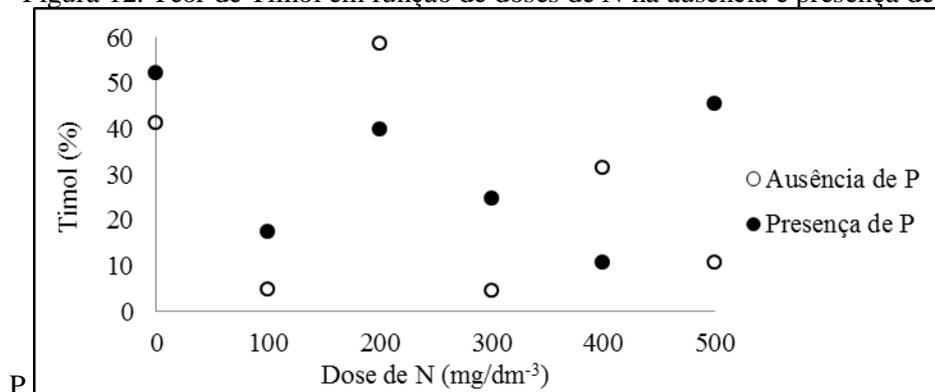
As análises de variância e de regressão dos teores de timol, carvacrol e p-cimeno não apresentaram nenhum modelo que se ajustasse em plantas adubadas com doses crescentes de N, tanto na ausência quanto na presença de P (Figuras 12, 13 e 14).

O percentual dos constituintes dos óleos essenciais varia em função do horário da colheita das folhas, e nesse experimento a coleta das amostras foi realizada em horários diferentes, visto que acompanhou a desmontagem do experimento, que durou cerca de 8 horas. Certamente esse intervalo de horas influenciou o percentual dos constituintes, resultando em maiores proporções de carvacrol e timol nos horários com maiores e menores temperaturas, respectivamente.

Neves e Brandão (2007), quando analisaram a influência do horário de coleta no teor de timol e carvacrol e no rendimento do óleo essencial de *Lippia gracilis*, verificaram que na colheita de 11 horas do dia não havia timol e o carvacrol apresentava um percentual de 56.1%. Silva *et al.* (2009) estudaram a variação de timol, carvacrol e  $\rho$ -cimeno em *Lippia microphylla* Cham ao longo do dia e verificaram que o óleo obtido da coleta realizada ao meio-dia tinha o carvacrol como constituinte majoritário, com 42,88%, e o timol com apenas 5,33%. Já quando a coleta foi realizada às 8 horas da manhã, o percentual de timol e carvacrol foi de 53,23% e 0,71%, respectivamente.

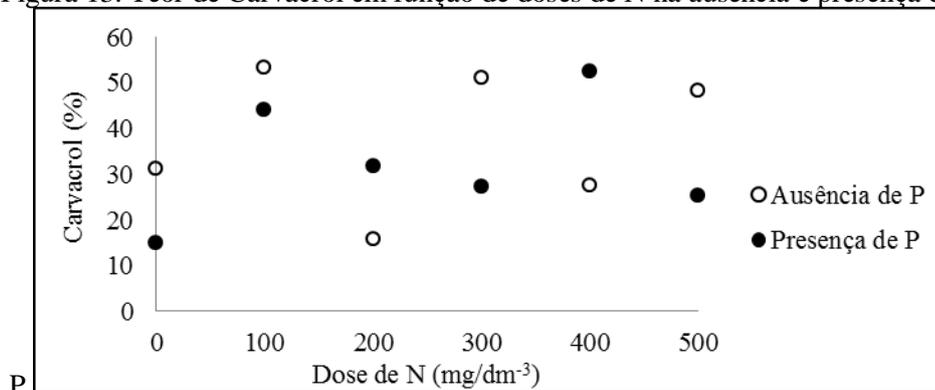
A variação de alguns componentes majoritários em relação ao horário de colheita pode ter sido em virtude da velocidade do metabolismo da planta, da atividade secretora dos pelos glandulares (ARRIGONI-BLANK, 2005) e influência das flutuações climáticas diárias. Estes fatores podem afetar a síntese e secreção de óleos essenciais (LUZ *et al.*, 2009). Sendo assim, o conhecimento do melhor horário de colheita para obtenção de maiores quantidades do princípio ativo almejado é essencial nas decisões agrônomicas.

Figura 12. Teor de Timol em função de doses de N na ausência e presença de



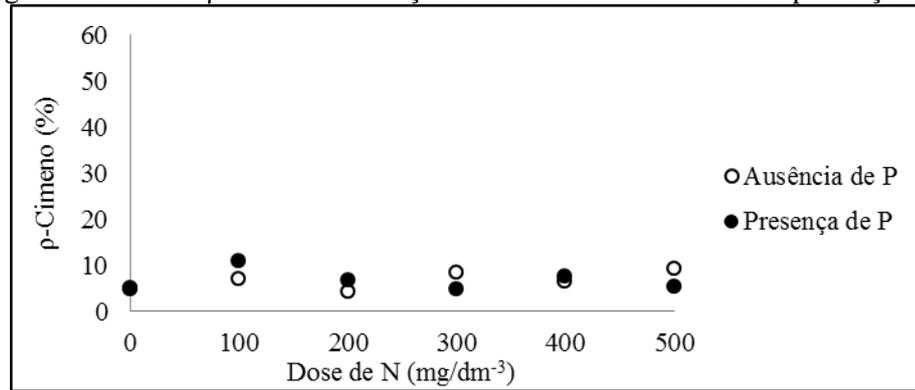
Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

Figura 13. Teor de Carvacrol em função de doses de N na ausência e presença de



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

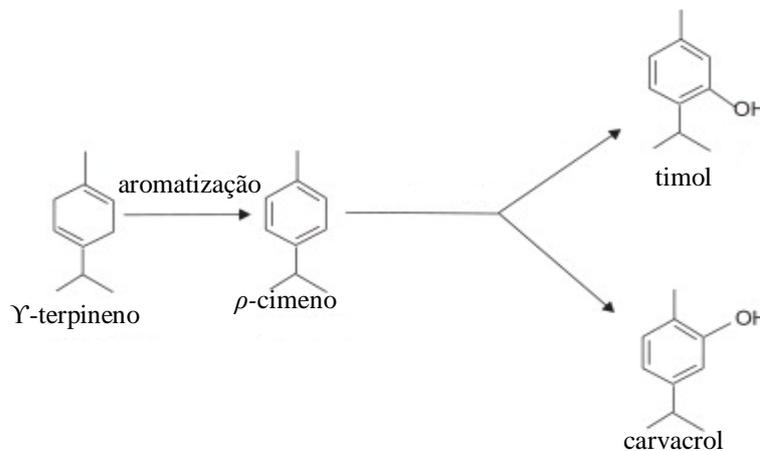
Figura 14. Teor de  $\rho$ -cimeno em função de doses de N na ausência e presença de P



Fonte: Dados obtidos na pesquisa, 2013.

O  $\gamma$ -terpineno presente nas plantas que produzem óleo essencial são transformadas através da aromatização em  $\rho$ -cimeno, o qual é precursor do timol e carvacrol, como mostra a Figura 15 (ROWSHAN; BAHMANZADEGAN; SAHARKHIZ, 2013). Esse fato pode explicar o motivo pelo qual, nas análises de cromatografia, o  $\rho$ -cimeno é sempre encontrado em menores proporções que o timol e o carvacrol.

Figura 15. Rota biosintética do timol e carvacrol a partir do  $\gamma$ - terpineno e  $\rho$ -cimeno.



Fonte: Rowshan; Bahmanzadegan; Saharkhiz (2013).

Nas condições do presente experimento, as plantas responderam bem à adubação nitrogenada e não responderam à adubação fosfatada, visto que o substrato era rico em fósforo, o qual foi suficiente para suprir as necessidades de fósforo das plantas, aumentando o teor de matéria seca e melhorando a produção de pigmentos, o que refletiu de maneira positiva na taxa fotossintética e, conseqüentemente, numa maior produção de carboidratos e proteínas. Esses produtos do metabolismo primário certamente contribuíram para o aumento no rendimento do óleo essencial.

Os resultados encontrados na presente pesquisa são de grande importância para a possível produção da *L. gracilis* em grande escala, visto que esta planta possui óleo essencial com princípios ativos de alto valor de mercado e que precisa de pesquisas para possibilitar sua produção comercial de forma ambientalmente correta e economicamente viável.

#### 4. CONCLUSÕES

O N influenciou de maneira positiva no aumento da matéria seca da parte aérea e no aumento do rendimento do óleo essencial; provavelmente o fósforo presente no substrato oriundo da matéria orgânica foi suficiente para atividades desejadas, fazendo com que as plantas não respondessem à adubação fosfatada.

As diferentes doses de N, na ausência e na presença de P, proporcionaram aumento das clorofilas a, b e total, carboidratos, carotenoides e proteínas das plantas.

A cromatografia líquida mostrou que os constituintes de interesse comercial permaneceram presentes no óleo essencial em quantidades expressivas com adubação mineral.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, I. N.; PINTO, J. E. B. P.; FURTINI NETO, A. E.; BERTOLUCCI, S. K. V.; LADEIRA, A.; GEROMEL, C. Nitrogênio e fósforo na produção vegetal e na indução de mucilagem em plantas de insulina. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 536-540, 2002.
- ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; JÚNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, v. 49, p. 527-535, 2006.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**. Maryland, v.24, n.1, p. 1-15, 1949.
- ARRIGONI-BLANK, M. F. **Estudos agrônomo e químico de *Hyptis pectinata* L. Point e avaliações das atividades antiedematogênica, antinociceptiva e isoenzimática**. Alagoas, 2005. 145p. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia). Programa de pós-graduação em química e biotecnologia-PPGQB. Universidade Federal de Alagoas.
- BASER, K.H.C.; DEMIRCI, F. Chemistry of Essential Oils. In: Berger RG Ed. **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprospecting and Sustainability**. Heidelberg, Springer. p.43-86, 2007.
- BIZZO, H. R.; HOVEL, A. M. C.; REZENDE C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectiva. **Química Nova**. v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BOTELHO, M. A.; RUELA, R. S.; MONTENEGRO, D.; COSTA, J. G. M.; SANTOS, J. A.; FRANÇA, M. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical Biology Research On Line**. v.40, n.3, p.349-356, 2007.
- BONZANI, N. E; FILIPPA, E. M.; BARBOZA, G. E. Estudio anatómico comparativo de tallo en algunas especies de Verbenaceae. **Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Bot.**, v. 74, p. 31-45, 2003.
- BRAGA, C. L. **Doses de nitrogênio no desenvolvimento de girassol ornamental (*Helianthus annuus* L.) de vaso**. Botucatu, 2009. 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Programa de Pós Graduação em Agronomia-PPGA. Universidade Estadual Paulista.
- BRAGA; J. M. F.; PIMENTEL, R. M. M.; FERREIRA, C. P.; RANDAU, K. P.; XAVIER, H. S. Morfoanatomia, histoquímica e perfil fitoquímico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 2, 2009.
- BRANT, R. S.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ALBUQUERQUE, C. J. B. Produção de biomassa e teor do óleo essencial de cidrão em função da adubação orgânica. **Horticultura Brasileira**. n. 28, p. 111-114, 2010.
- BURT, S. A. **Antibacterial activity of essential oils: potential application in food**. Netherlands, Utrecht: Utrecht University, p. 136, 2007.

CAVALCANTI, V. O.; **Atividade micobacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer**. Dissertação. Recife, UFPE, 2006.

CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS. **Checklist de plantas do nordeste**. In: Associação Plantas do Nordeste. Disponível em: <<http://www.cnip.org.br/bdpm/ficha.php?cookieBD=cnip7&taxon=5935>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho: HPLC**. 1 Ed., São Paulo, p.179, 1998.

CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, E. S.; OLIVEIRA, C.; CASTRO, E. M.; BRANT, R. S. Características anatômicas foliares de plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) submetidas a diferentes fontes e níveis de adubação orgânica. **Acta Scientiarum Agronomy**. v. 31, n. 3, p. 439-444, 2009.

COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P. CASTRO, E. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; REIS, E. S.; ALVES, P. B.; NICULAU, E. S. Tipos e doses de adubação orgânica no crescimento, no rendimento e na composição química do óleo essencial de elixir paregórico. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2173-2180, 2008.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, NY: Columbia University Press, 1981. 1262p

DAMASCENO, E.I.T.; SILVA, J.K.R.; ANDRADE, E.H.A.; SOUSA, P.J.C.; MAIA, J. G. S. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis* Schauer, Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 78-85, 2011.

DANTAS, L. I. S.; ROCHA, F. A. G.; MEDEIROS, F. G. M.; SANTOS, J. A. B. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre patógenos de importância na indústria de alimentos. **Holos**, n. 26, v. 5, 2010.

DESCHAMPS, C.; MONTEIRO, R.; MACHADO, M. P.; BIZZO, H.; BIASI, L. A. Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha x piperita* L. em resposta a fontes e doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 14, n. 1, p.12-17, 2012.

DINIZ, J. D. N.; ALMEIDA, J. L.; TEIXEIRA, A. L. A.; GOMES, E. S.; HERNANDEZ, F. F. F. Ácido giberélico (ga3) e 6-benzilaminopurina (bap) no crescimento in vitro de macela [*Egletes viscosa* (L.) Less.]. **Ciência e Agrotecnologia**. v.27, n.4, p.934-938, 2003.

DUKE, J. A. **Phytochemical and Ethnobotanical Databases**. Activities of a specific chemical query. 2009. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/duke/chem-activities.html>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas**. 2ed. Londrina: Planta. 2006. 392p.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, n. 88, p. 97-185, 2006.

FERRAZ, JOÃO B. S.; BARATA, L. E. S.; SAMPAIO, P. T. B.; GUIMARÃES, G. P. Perfumes da floresta amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 61, n. 3, 2009

GAMA, E. V. S. **Biomassa, óleo essencial e nutrição de *Lippia Alba* (Mill) N. E. Br. em função da adubação com compostos orgânicos inoculados e sem inoculação de actinomicetos**. 2011. 93p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Programa de pós-graduação em ciências agrárias – PPGCA. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

GOMES, S. V. F. **Desenvolvimento de método por cromatografia líquida de alta eficiência para diferenciação de genótipos de *Lippia gracilis* Schauer**. 2009. 163 f. Dissertação (Mestrado em Química). Núcleo de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

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

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**. v. 177, p. 751-766, 1949.

GUILHON, C. C.; RAYMUNDO, L. J. R. P.; ALVIANO, D. S.; ARIE F. BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; MATHEUS, M. E.; CAVALCANTI, S. C. H.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.135, p.406-413, 2011.

IDEMA. Instituto de Desenvolvimento Sustentável e Meio Ambiente do Rio Grande do Norte. **Perfil dos municípios**. Disponível em: <[http://www.idema.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/idema/socio\\_economicos/enviados/perfil\\_f.asp](http://www.idema.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/idema/socio_economicos/enviados/perfil_f.asp)>. Acesso em: 20 nov. 2013.

JOCA, H. C. **Carvacrol reduz a excitabilidade neural pela inibição dos canais para sódio dependente de voltagem**. 2012. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Programa de pós-graduação em ciências fisiológicas – PPCF. Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Fortaleza.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol.**, San Diego, v.148, p. 362-385, 1987.

LIMA, M. C.; AMARANTE, L.; MARIOT, M. P.; SERPA, R. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em *Achillea millefolium* L. cultivada sob diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**. v.41, n.1, p. 45-60, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 512p. 2002.

LUZ, J. M. Q.; EHLERT, P. A. D.; INNECCO, R. Horário de colheita e tempo de secagem de alfavaca-cravo. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.4, p.539-542, 2009.

MALAVOLTA, E. **ABC da análise de solos e folhas: amostragem, interpretação e sugestões de adubação.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 127 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas.** 2.ed. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 319p. 1997.

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

MARINHO, M. J. M.; ALBUQUERQUE, C. C.; MORAIS, M. B.; SOUZA, M. C. G.; SILVA, K. M. B. Estabelecimento de protocolo para micropropagação de *Lippia gracilis* Schauer. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** v. 13, n. 2, 2011.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** London: Academic Press, 1995. 902p.

MATOS F. J. A. **Plantas medicinais: Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** 2.ed. Fortaleza, 2000. 346p.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas.** 4 ed. Fortaleza: Edições UFC, 2002. 267p.

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

MATTOS, S. H.; INNECCO, R.; MARCO, C. A.; ARAÚJO, A. V. **Plantas medicinais e aromáticas cultivadas no Ceará: tecnologia de produção e óleos essenciais.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2007. p. 61-63. (série BNB - ciência e tecnologia 2).

MENDES, S. S.; BOMFIM, A. R. R.; JESUS, H. C. R.; BLANK, A. F. ESTEVAMA, C. S.; ANTONIOLLI, S. M. Evolution of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology,** v. 129, n.4, p. 391-397, 2010.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons.** London: Oxford University Press, 1972.

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

MOTA NETO, R.; MATOS, F. J. A.; ANDRADE, V. S.; MELO, M. C. N.; CARVALHO, C. B. M.; GUIMARÃES, S. B.; PESSOA, O. D. L.; SILVA, S. L.; SILVA, S. F. R.; VASCONCELOS, P. R. L. The essential oil from *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae, in diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 20, n. 2, p. 261-266, 2010.

MOTA NETO, R. ***Lippia gracilis*, *Lippia gracilis* e L-Glutamina e suas ações antibacteriana, antioxidante e imunomoduladora em modelos de ratos diabéticos.** Dissertação. Fortaleza: UFC, 2007.

NAVARRETE, A.; WALLRAF, S.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v. 50, p. 4667-4671, 2011.

NEVES, I. A.; BRANDÃO, S. S. F. **Influência do horário de coleta no teor de timol e carvacrol e no rendimento do óleo essencial de *Lippia gracilis* schauer**. In: 47º Congresso Brasileiro de Química. SBQ, Natal, 2007. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/7/7-737-870.htm>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

NEVES, L. A.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; SCHWARTZ, M. O. E. Chemical Composition of the Leaf Oils of *Lippia gracilis* Schauer from two Localities of Pernambuco. **The Journal of essential oil research**, 2008, v. 20, n.2, p. 157-160.

NOVAIS, R. F.; SMITH, T. J. **Fósforo em solos e planta em condições tropicais**. Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399p.

OLIVEIRA, C. E. L. **Caracterização do óleo essencial de *Lippia gracilis* SCHUM e de seus principais constituintes por termogravimetria**. Dissertação. Campinas: UNICAMP, 2012.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; SANTOS, S. S.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, C. S.; ALVIANO, D. S.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil Original Research Article. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n 1, p. 103-108, 2006.

OLIVEIRA, O. R.; TERAQ, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C. C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**. v. 39, n. 1, p. 94-100, 2008.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review Review Article. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201-214, 2001

PEREIRA, R. G. **Produção de sorgo granífero adubado com nitrogênio e fósforo na chapada do Apodi-RN**. Mossoró, 2011. 81p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Programa de pós-graduação em fitotecnia-PPGF, Universidade Federal Rural do Semiárido.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba. 2004. p. 1-10.

RAIJ, B. VAN. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba: Ceres: Potafos, 1991, 343p.

RAIJ, B. VAN.; ROSADO, P.C.; LOBATO, E. Adubação fosfatada no Brasil: Apreciação geral, conclusões e recomendações. In: Oliveira, A. J. **Adubação fosfatada no Brasil**. Brasília: Embrapa, 1982. p.10-28.

RAM, M.; RAM, D.; SINGH, S. Irrigation and nitrogen requirements of Bergamot mint on a sandy loam soil under sub-tropical conditions. **Agricultural Water Management**. v.27, n.1, p.45-54, 1995.

REPKE, R. A.; OLIVEIRA, M. W.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, D. F. **Influência da Adubação Fosfatada na Produção de Dois Híbridos de Sorgo Forrageiro**. XXIX Congresso nacional de milho e sorgo. Águas de Lindóia, 2012. Disponível em: <[http://www.abms.org.br/29cn\\_milho/08239.pdf](http://www.abms.org.br/29cn_milho/08239.pdf)>. Acesso em: 21 nov. 2013.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 301 p.

RODRIGUES, H. C. A.; CARVALHO, S. P.; SOUZA, H. A.; CARVALHO, A. A. Cultivares de mamoneira e adubação nitrogenada na formação de mudas. **Acta Scientiarum. Agronomy**. v. 32, n. 3, p. 471-476, 2010.

ROWSHAN, V.; BAHMANZADEGAN, A.; SAHARKHIZ, M. J. Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. Elsevier, v. 49, p. 97-101, 2013.

SALES, J. F.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; SILVA, F. G.; CORREA, R. M.; CARVALHO, J. G. Acúmulo de massa, teor foliar de nutrientes e rendimento de óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL.) cultivado sob adubação orgânica. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 1, p. 60-68, 2009.

SANGWAN, N. S. et al. **Regulation of essential oil production in plants**. Plant Growth Regulation. v.6, n.34, p.3-21, 2001.

SCHOLL, L. V.; NIEUWENHUIS, R. **Manejo da fertilidade do solo**. Wageningen: Fundação agromisa. 2003. 90p.

SILVA, J. T. A.; BORGES, A. L. Solo, nutrição mineral e adubação da bananeira. Informe Agropecuário, v.29, p.25-37, 2008.

SILVA, M. M; SILVA, E. M; TAVEIRA, M. L; FLACH, A, COSTA, L. A. M. A. **Variação de timol e carvacrol em *Lippia microphylla* Cham. ao longo do dia**. In: 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. SBQ, Fortaleza, 2009. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T1075-1.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

SILVA, D. F.; FERRO, J. H. A.; TRINDADE, R. C. P.; OLIVEIRA, M. W.; COSTA, J. P. V.; CALHEIROS, A. S. **Estado nutricional e acúmulo de nutrientes em mamoneira submetidas a diferentes doses de fosforo**. III Congresso brasileiro de mamona. Salvador, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/publicacoes/cbm3/trabalhos/FERTILIDADE%20E%20ADUBACAO/FA%2015.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 526p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 5. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 764 p.

TERBLANCHÉ, F. C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) – A literature review. **Journal of Essential Oil Research**, 8: 471-485, 1996.

WINTERMANS, J. F. G. M.; MOTS, A. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll and their pheophytins in ethanol. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.109, n.0, p.448-453, 1965.