

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

Ana Paula de Souza Mambrí

***Lavandula dentata* L. SOB O EFEITO DA RADIAÇÃO SOLAR E DE
DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA**

Santa Maria, RS

2016

Ana Paula de Souza Mambrí

***Lavandula dentata* L. SOB O EFEITO DA RADIAÇÃO SOLAR E DE
DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, linha de pesquisa: Propagação, desenvolvimento e metabolismo vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Melânia Palermo Manfron

Co-orientador: Prof^o. Dr. Jerônimo Luiz Andriolo

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Souza Mambri, Ana Paula

Lavandula dentata L. SOB O EFEITO DA RADIAÇÃO SOLAR E
DE DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA / Ana Paula Souza
Mambri.- 2016.

75 p.; 30 cm

Orientadora: Melânia Palermo Manfron

Coorientador: Jerônimo Luiz Andriolo

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2016

1. Lavandula dentata L. 2. Óleo volátil 3. épocas de
colheita 4. Atividade antimicrobiana 5. genotoxicidade I.
Palermo Manfron , Melânia II. Andriolo, Jerônimo Luiz III.
Título.

©2016

Todos os direitos autorais reservados a Ana Paula Souza Mambri. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Irmão Robertão, n.438, Bairro Urlândia, Santa Maria, RS. CEP 97070-460

Fone: (55) 3211-1062; E-mail: ana.mambri@gmail.com

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as dificuldades e alegrias que aconteceram na minha vida, as quais me fizeram tornar uma pessoa mais forte e melhor por dentro.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-graduação em Agrobiologia pela oportunidade de realização deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, que muito contribuíram significativamente em minha formação.

À minha orientadora, Dr^a Melânia Palermo Manfron, pela amizade, apoio e pela sua disposição e paciência demonstradas durante sua orientação.

Ao co-orientador, Dr. Jerônimo Luiz Andriolo, pelo apoio e por estar sempre à disposição partilhando seus conhecimentos e ajudando sempre que precisei.

À minha família pelo apoio e incentivo dados durante o curso.

À minha mãe Maria e meus irmãos Cristina, Patrícia, Fabiane, Fabricio e Fábio por estarem sempre ao meu lado.

A meu pai (*in memoriam*) que onde estiveres, espero que tenhas orgulho de mim.

Ao meu companheiro Alan Motta Schumacher pelo incentivo, paciência, amor e dedicação.

Aos colegas do Labinfito em especial a Rafaela, obrigado pela paciência e pelo seu tempo disponibilizado para o auxílio na realização de minhas análises.

Aos colegas do grupo olericultura Franciele, Suany, Myriam, Raul, Tuanês, Andriele, Juliete pela parceria, e a dedicação de vocês em contribuir e auxiliar durante os experimentos na fitotecnia.

À CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã.”
(Chico Xavier)

Ana Paula de Souza Mambri

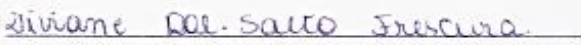
***Lavandula dentata* L. SOB O EFEITO DA RADIAÇÃO SOLAR E DE
DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, linha de pesquisa: Propagação, desenvolvimento e metabolismo vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título em **Mestre em Agrobiologia**.

Aprovado em 08 de julho de 2016:


Melânia Palermo Manfron, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientador)


Thais Scotti do Canto-Dorow, Dra. (UNIFRA)


Viviane Dal-Souto Frescura, Dra. (UFSM)
Santa Maria, RS

2016

RESUMO

***Lavandula dentata* L. SOB O EFEITO DA RADIAÇÃO SOLAR E DE DIFERENTES ÉPOCAS DE COLHEITA**

AUTORA: Ana Paula de Souza Mambrí
ORIENTADORA: Melânia Palermo Manfron

Plantas do gênero *Lavandula* são conhecidas por uma variedade de compostos voláteis e empregadas há séculos na fabricação de perfumes e aplicações medicinais. São várias as espécies no mundo com potencial produtivo, como por exemplo, a espécie *Lavandula dentata* L. cultivada em vários países onde se inclui o Brasil, para fins aromáticos e medicinais. Além da diversidade de variedades, plantas de lavanda são bastante resistentes às condições adversas de clima e temperatura. São muitas as características que as diferenciam desde seus caracteres morfológicos à constituição de seus óleos voláteis que apresentam funções ecológicas bem estabelecidas na planta. Podendo ainda ocorrer uma variação destes compostos intraespecífica, e estas diferenças podem estar associadas às interações da planta com o ambiente, que desencadeiam vários processos bioquímicos que resultam em diferenças tanto na proporção quanto na composição fitoquímica do óleo volátil. Produtos naturais, tais como o óleo volátil vem sendo intensamente estudados, quanto seus aspectos produtivos e atividades biológicas. O presente trabalho teve como objetivo determinar o efeito de duas intensidades da radiação solar, e de diferentes épocas de colheita na produção de fitomassa, rendimento e composição química do óleo volátil de folhas e inflorescências de *L. dentata* no cultivo sem solo, bem como avaliar a atividade antimicrobiana, genotóxica e antiproliferativa do composto volátil. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em sistema fechado, as plantas foram cultivadas com solução nutritiva em vasos de polipropileno contendo areia como substrato. Foram coletadas para cada época folhas e inflorescências para determinar a massa fresca e seca das plantas. O restante das plantas de cada parcela foi utilizado para extração do óleo volátil pelo método de hidrodestilação e a composição determinada por cromatografia gasosa (GC/MS). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, os dados de fitomassa e rendimento foram submetidos ANOVA e as variáveis que apresentaram diferença significativa foram determinadas pelo teste de Tukey, e os dados de genotoxicidade foram comparados pelo teste Qui-quadrado (χ^2). Avaliou-se a produção de biomassa da parte aérea e óleo volátil da lavanda sob duas intensidades de radiação (com e sem sombreamento), em três épocas de coleta (150, 213 e 320) dias após o plantio. O óleo volátil foi avaliado quanto o efeito antimicrobiano pelo método de bioautografia e genotoxicidade nas concentrações (100%) e (0,05%), respectivamente. O rendimento do óleo, a massa fresca (MF) e seca (MS) de folhas (F) e inflorescências (I) foi afetada pelo sombreamento e pelas diferentes épocas de coleta, a (MFI) foi maior na colheita da primavera (213 DAP) sem sombreamento enquanto a (MFF), a melhor época foi no período de verão (320 DAP), e não houve efeito quanto ao uso do sombreamento 50% para (MF). Porém, houve uma redução dos valores médios de MSF e MSI. A produção de óleo volátil nas folhas foi superior em todas as coletas, realizada no verão, aos 320 DAP. Os constituintes majoritários encontrados no óleo volátil foram 1,8 cineol, cânfora e linalol. O óleo (100%) apresentou atividade antimicrobiana moderada para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Salmonella typhimurium*, o óleo volátil (0,05%) de lavanda não apresentou atividade antiproliferativa nem efeito genotóxico.

PALAVRAS-CHAVE: Lavanda. Composição química. Óleo volátil. Genotoxicidade. Bioautografia.

ABSTRACT

***Lavandula dentata* L. UNDER THE INFLUENCE OF SOLAR RADIATION AND HARVEST OF DIFFERENT TIMES**

AUTHOR: Ana Paula de Souza Mambrí

ADVISER: Melânia Palermo Manfron

Lavandula genus plants are known by a variety of volatiles and used for centuries in perfumes and medicinal applications. Several species in the world with productive potential, for example, *Lavandula dentata* L. species grown in many countries which includes Brazil, to aromatic and medicinal purposes. In addition to the diversity of varieties of lavender plants are quite resistant to adverse conditions of weather and temperature. There are many features that differentiate them from their morphological characters to the constitution of their volatile oils that have ecological functions well established in the plant. And there can be intraspecific variation of these compounds, and these differences can be related to the plant interactions with the environment, which trigger various biochemical processes that result in differences both in proportion as the phytochemical composition of the volatile oil. Natural products, such as volatile oil has been intensively studied for its productive aspects and biological activities. This study aimed to determine the effect of two intensities of solar radiation, and different harvesting times in biomass production, yield and chemical composition of the volatile oil from leaves and *L. dentata* plant inflorescences in soilless cultivation and how to evaluate the antimicrobial activity, genotoxic and antiproliferative the volatile compound. The experiment was conducted in a greenhouse in a closed system, the plants were grown in nutrient solution in polypropylene pots containing sand as substrate. They were collected for each harvest leaves and inflorescences to determine the fresh and dry weight of plants. The remaining green mass of each plot was used for the extraction of volatile oil by hydrodistillation method and the composition determined by gas chromatography (GC / MS). We used a completely randomized design, the biomass data and income were submitted ANOVA and the variables that showed significant differences were determined by Tukey test, the genotoxicity data were compared using the chi-square test (X^2). We evaluated the aboveground biomass production and essential oil of lavender in two radiation intensity (with and without shading), at different times of collection (150, 213 and 320) days after planting. And also assess the antimicrobial effect by the method and bioautography genotoxicity oil concentrations (100%) and (0.05%), respectively. The oil yield, fresh weight (MF) and dry (MS) leaves (F) and inflorescences (I) were affected by shading and different times of collection, (MFI) was higher in the spring harvest (213 DAP) without shading and (MFF), while for leaves the best time was in the summer period (320 DAP), and there was no effect on the use of 50% shading to (MF). However, there was a reduction in average values of MSF and MSI. The production of volatile oil in the leaves was higher in all collections held in the summer, to 320 DAP. The major constituents found in the volatile oil were 1.8 cineole, camphor and linalool. The oil (100%) showed moderate activity against the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella typhimurium*, the volatile oil (0.05%) from lavender showed no antiproliferative activity or genotoxic effect.

KEYWORDS: Lavender. Chemical composition. Volatile oil. Genotoxicity. Bioautography.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1- Metabolismo secundário de plantas aromáticas e suas interações com o ambiente.....15

Figura 2 – Plantas de *Lavandula dentata* L. (a); inflorescências (b); folhas (c); e seus principais constituintes químicos do óleo volátil (d).....22

ARTIGO 2

Figura 1 – Material vegetal e extração do óleo volátil da *Lavandula dentata* L. a) cultivo em ambiente protegido; b) plantas em plena floração; c) extração do óleo volátil em aparelho Clevenger.53

Figura 2 - Bioautografia do óleo volátil de *Lavandula dentata* L. (a) perfil dos compostos químicos (luz UV) e seus Rfs.; (b) *Staphylococcus aureus*; (C) *Bacillus cereus*; (d) *Salmonella typhimurium*.....56

Figura 3 - Células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* submetidas aos tratamentos com óleo volátil (0,05%) de *Lavandula dentata* L. a) seta indicando célula em anáfase com pontes cromossômicas; b) seta indicando célula em metáfase; c) seta indicando célula em telófase. Aumento 40x. Escala 10µm.....58

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

- Tabela 1. Produção de massa fresca e seca (g.planta^{-1}) das folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* L. cultivada em três épocas de colheita com e sem sombreamento (fresh and dry mass (g.plant^{-1}) of leaves and inflorescences of lavender in three harvest seasons with and without shading). Santa Maria, UFSM, 2014.45
- Tabela 2. Rendimento (g.planta^{-1}) de óleo das folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* L. cultivada em três épocas de colheita com e sem sombreamento (oil yield (g.plant^{-1}) of leaves and inflorescences of lavender in three harvest seasons with and without shading). Santa Maria, UFSM, 2014.46
- Tabela 3. Composição química do óleo volátil de folhas e inflorescências de plantas de *Lavandula dentata* L. em três épocas de colheita (EP1; EP2; EP3) com e sem sombramento (Chemical composition of the volatile oil of lavender in three harvest (EP1; EP2; EP3) seasons with and without shading). Santa Maria, UFSM, 2014.47

ARTIGO 2

- Tabela 1 – Bioautografia do óleo volátil de plantas de *Lavandula dentata* L.....56
- Tabela 2 - Tratamentos com óleo volátil de folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* L., controles, número total de células, células em interfase, células em divisão e determinação do índice mitótico (IM%) observado no teste *Allium cepa*.....60
- Tabela 3 - Porcentagem de alterações cromossômicas (CA%) encontradas em 3000 células analisadas pelo teste de genotoxicidade do óleo volátil de folhas e flores de *Lavandula dentata* L. (BN: Binucleada; Q: quebra cromossômica; P: ponte cromossômica)60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Metabolismo secundário das plantas.....	14
2.2 Óleo volátil	17
2.3 Família Lamiaceae	19
2.4 Gênero <i>Lavandula</i>	19
2.5 <i>Lavandula dentata</i> L.	22
2.6 Fatores que afetam a produção de óleo volátil	24
2.7 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método bioautográfico.....	26
2.8 Genotoxicidade	28
ARTIGO 1	31
Crescimento, rendimento e composição do óleo volátil de lavanda em cultivo sem solo.....	31
RESUMO.....	31
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO	32
MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ARTIGO 2	48
Potencial genotóxico, antiproliferativo e atividade antimicrobiana do óleo volátil de <i>Lavandula dentata</i> L.	48
RESUMO.....	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS.....	52
Material vegetal e extração do material vegetal.....	52
Bioautografia.....	53
Análise genotóxica do óleo volátil da lavanda pelo teste de <i>Allium cepa</i>	54
Análise estatística.....	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
3 DISCUSSÃO GERAL	64
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
5 REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

A demanda crescente por compostos derivados de plantas medicinais e aromáticas, com finalidade terapêutica, cosmética e agronômica tem aumentado, em nível mundial. Essa tendência, em parte é explicada pela popularidade dos produtos naturais, e também o aumento da população que, tem cada vez mais procurado fontes relativamente seguras e saudáveis.

O Brasil tem sido um notável reservatório de numerosos recursos vegetais, entre esses, diversas espécies nativas e exóticas de plantas aromáticas e medicinais pertencentes à Lamiaceae, conhecidas pelo seu aroma. Essas espécies são usadas por suas propriedades medicinais e preservativas em alimentos.

Segundo, Serafini (2001) um grande número de espécies com potencial aromático são pouco estudadas, em comparação com países da Europa e Ásia que dominam o mercado de óleos voláteis. Além disso, a produção de plantas aromáticas no Brasil é adequada às regiões de economia baseada em minifúndios, pois além de gerar uma fonte de renda extra com a produção de óleo volátil, também pode ser utilizada como atração agroturística diversificando sua produção.

Para o Brasil que não está totalmente introduzido na cadeia produtiva de óleos voláteis ainda é necessário estudos e pesquisas, relacionados à viabilidade de espécies potencialmente produtivas de biomassa e óleo volátil.

As espécies pertencentes à família das Lamiaceae estão entre as principais especiarias, como *Mentha* spp. (hortelã), *Ocimum gratissimum* L. (manjeriço), *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), e *Lavanda* spp. (lavanda, ZIELINSKA; MATKOWSKI, 2014). São plantas que apresentam um grande potencial produtivo nas condições de clima e solo do Brasil.

Espécies aromáticas, como as do gênero *Lavandula* são populares, abrangem mais de 39 espécies e são de interesse comercial. Com características de plantas herbáceas e perenes também sintetizam um conjunto bastante diversificado de compostos químicos denominados, óleos voláteis, com importantes funções ecológicas e fisiológicas em sua interação planta-ambiente. Algumas espécies de lavanda produzem óleos voláteis com larga utilização na indústria farmacêutica e alimentícia, devido à ação de seus constituintes químicos sobre um determinado grupo de organismos vivos, já outras espécies são utilizadas como plantas ornamentais e decorativas (BOELEN, 1995; KIM; LEE, 2002; DUDAREVA, 2006).

Espécies de lavandas são cultivadas em diversos países da Europa, Oriente médio, Ásia e norte da África. Estima-se que a produção mundial de óleo de lavanda é de 200 toneladas por ano e os países que dominam o mercado de óleo essencial de lavanda são a Bulgária, Reino Unido e França (ZHELJAZKOV et al., 2013; LESAGE-MEESSEN, 2015).

Lavandula dentata L. apresenta ampla adaptação nas diversas condições edafoclimáticas onde é cultivada no Brasil. O óleo volátil da lavanda é formado pela mistura complexa de substâncias química, e a qualidade do óleo produzido é importante para o uso medicinal, farmacêutico e aromaterapia (BIASI; DESCHAMPS, 2009). As principais classes de compostos químicos do óleo volátil extraído de suas folhas e inflorescências são os monoterpenos e sesquiterpenos, que contêm substâncias com atividades terapêuticas e antimicrobianas com baixa capacidade de desenvolver e selecionar microrganismos resistentes pela complexidade das substâncias e seu modo de ação. Esse mecanismo de controle torna-se um excelente produto, no combate de agentes patogênicos resistentes às drogas farmacêuticas (RAUT; KARUPPAYIL, 2014; LORENZI; SOUZA, 2001).

Apesar da ação terapêutica das plantas, o conhecimento sobre a efetiva atuação e toxicidade dos compostos voláteis sobre os organismos vivos não foram suficientemente estudados. Mesmo sendo uma alternativa no tratamento de doenças é necessário avaliar a sua capacidade antiproliferativa e genotóxica para se ter o uso seguro e eficaz destes produtos, pois muitas substâncias bioativas presentes nos óleos voláteis podem ser potencialmente tóxico e ter efeitos carcinogênicos (VEIGA JUNIOR et al., 2005; SIMÕES, 2007).

Dentre os diversos testes empregados na pesquisa para avaliar a toxicidade e o potencial proliferativo de produtos naturais, a partir de extratos, frações vegetais e óleos voláteis, o teste *Allium cepa* L. (cebola) apresenta-se como um bom bioindicador para o primeiro *screening* da genotoxicidade, e uma significativa correlação com sistemas teste de mamíferos (CHAUHAN et al., 1999; BAGATINI et al., 2007)

Muitos estudos mostram ainda que a proporção e os componentes presentes nos óleos voláteis não são constantes podem estar relacionados a diversos fatores, os quais contribuem para variabilidade química e produtiva dos metabólitos secundários. Esses incluem o material genético dos vegetais, condições ambientais,

variações geográficas, estágio fenológico e as condições de manipulação e armazenamento das plantas (USANO-ALEMANY et al., 2011).

Em pesquisas realizadas com plantas aromáticas e medicinais há relatos que a intensidade da radiação solar e a época de colheita estão entre os principais fatores ambientais para se obter elevados rendimentos de compostos voláteis.

A intensidade da luz é o principal fator que controla o crescimento e os vários estádios de desenvolvimento de uma planta e desempenha um papel importante na biossíntese dos metabólitos secundários, pois estes dependem dos produtos resultantes do processo da fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A sazonalidade, a época em que as plantas são coletadas é um dos fatores de importância no cultivo de plantas aromáticas, porque está relacionada tanto com as variáveis do ambiente quanto com o estágio fenológico da espécie e poderá afetar o crescimento da planta, rendimento do óleo volátil, assim como sua qualidade. A produção em larga escala de lavanda requer eficiência no manejo e os estudos no Brasil referentes, a espécie *L. dentata*, sobre informações agrônomicas essenciais como melhor época de colheita, disponibilidade radiação solar, temperatura e outros fatores relacionados ao seu cultivo que influenciam a produção do óleo volátil, bem como de seus constituintes químicos, ainda são escassos.

Há necessidade de desenvolverem-se pesquisas que visem estabelecer o melhor período de colheita da lavanda, assim como definir sistemas de produção de plantas aromáticas de interesse econômico que proporcionem elevado rendimento e qualidade e que cumpram com as exigências do mercado. Uma dessas alternativas é o cultivo em ambiente protegido e fora do solo que mostra ser promissor e vantajoso, destacando algumas delas como maior controle da radiação, temperatura, no fornecimento de água e nutrientes (CASTELLANE; ARAÚJO, 1995 SANTOS, 2000). Pesquisas envolvendo esses parâmetros com diferentes sistemas de cultivo que possam influenciar no conteúdo e composição do óleo volátil da *L. dentata* ainda são escassas.

O objetivo desta pesquisa foi o de determinar o efeito da intensidade da radiação solar e da época de colheita na produção de biomassa e composição fitoquímica do óleo volátil de inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* L. como também determinar a atividade antimicrobiana de substâncias presentes no óleo volátil e avaliar o potencial antiproliferativo e genotóxico através do teste *Allium cepa*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 METABOLISMO SECUNDÁRIO DAS PLANTAS

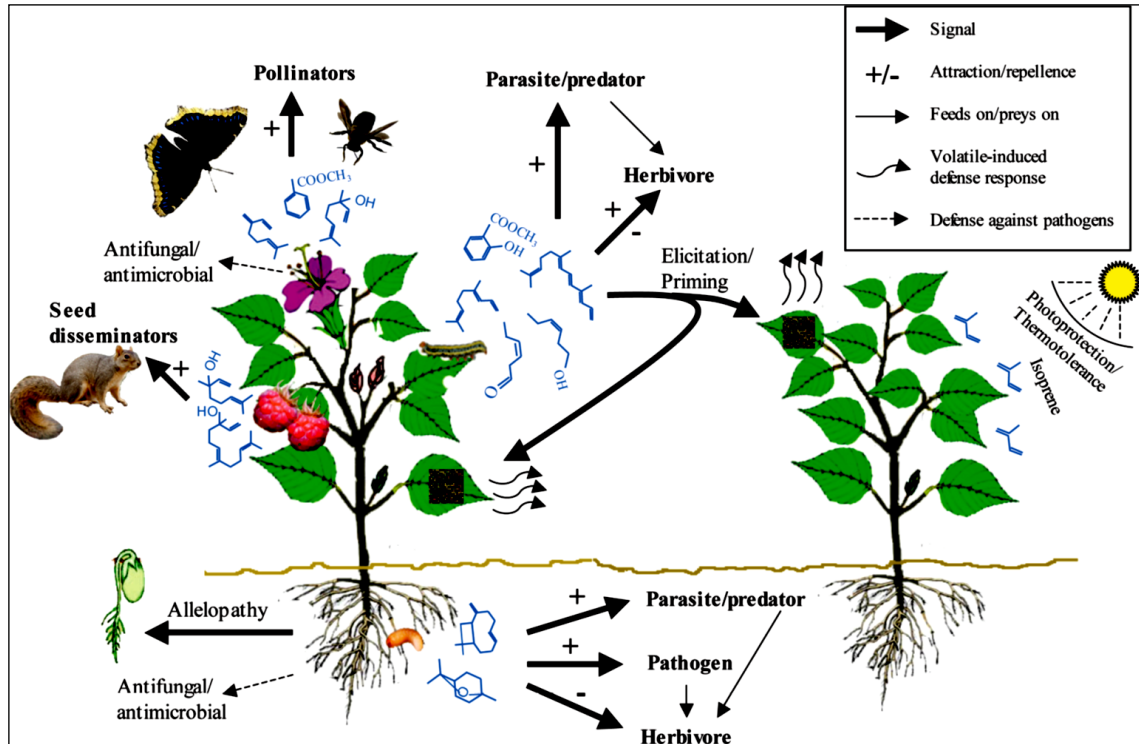
Há décadas as plantas têm sido utilizadas e estudadas intensamente para atender as necessidades humanas como uma importante fonte de alimento e de remédios naturais. Também se descobriu que plantas acumulam milhares de pequenas moléculas com específicas funções e atividade farmacológica.

Em todas as plantas, substâncias são sintetizadas a partir dos metabólitos primários, estes considerados essenciais e vitais às espécies vegetais como os carboidratos, aminoácidos, nucleotídeos e ácidos graxos (DEWICK, 2002; SIMÕES, 2007).

Ao contrário dos metabólitos primários, que apresentam funções bem estabelecidas, os vegetais também têm a capacidade de produzir uma grande quantidade de compostos orgânicos, denominados metabólitos secundários, que estão presentes em pequenas quantidades, e atuam em diferentes funções fisiológicas na planta. Porém, não são comuns a todos os vegetais e podem estar restritos a apenas uma espécie ou a um grupo de espécies relacionadas.

Os metabólitos secundários não participam diretamente do crescimento e desenvolvimento das plantas. Esses podem atuar na interação da planta com o ambiente, ou seja, na defesa dos vegetais contra ataques de herbívoros e patógenos, agir como atrativos tanto na atmosfera quanto na rizosfera (odor, cor ou sabor), para insetos polinizadores e, ainda, atuarem como aleloquímicos na competição de plantas vizinhas competitivas ou na germinação destas, nas simbioses plantas-microrganismo (Figura 1). O isopreno (unidade básica dos terpenos), de uma planta aromática confere fotoproteção e termotolerância (MAFFEI, 2010; SEIXAS et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Figura 1- Metabolismo secundário de plantas aromáticas e suas interações com o ambiente.



Fonte: (Dudareva et al., 2006).

Produtos do metabolismo secundário são caracterizados por uma enorme diversidade de fitoquímicos de baixo peso molecular, com estruturas complexas e únicas, onde cada planta tem seu próprio conjunto específico de metabólitos secundários e podem apresentar alta toxicidade. Sua concentração é considerada muito baixa (em torno de 1% do peso seco) nos tecidos vegetais podendo variar o que depende do estado fisiológico e de desenvolvimento que a planta se encontra. E sua produção também é constantemente afetada por condições bióticas e abióticas de estresse ou interação entre ambas (OKSMAN-CALDENTY et al., 2004).

Fitoquímicos produzidos pelas plantas estão interconectados com produtos do metabolismo primário que fornecem moléculas utilizadas como precursoras nas principais rotas de síntese de metabólitos secundários. As principais rotas de biossíntese que produzem a maior parte de todos os metabólitos secundários são as vias do ácido chiquímico e ácido mevalônico. E com base nas suas origens

biossintéticas podem ser divididos: isoprenóides (terpenos), Compostos nitrogenados (alcaloides) e compostos fenólicos (CASTRO et al., 2004).

Dentre esses grupos, fenilpropanóides conhecidos também como compostos fenólicos e os terpenóides, apresentam grande importância em espécies aromáticas produtoras de óleos voláteis. A grande maioria dos constituintes presentes no óleo volátil está incluída no grupo dos terpenos e são caracterizados por uma ampla variedade de tipos estruturais. São hidrocarbonetos de fórmula geral $(C_5H_8)_n$ formada a partir de unidades de isopreno. Esses compostos podem ser monocíclicos acíclico, bicíclico e tricíclico (ABED, 2007). Com base na diversidade e sua estrutura química, podem ser classificados em vários grupos como monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20) (SIMÕES, 2007).

De acordo com Biasi & Deschamps (2009) os compostos de natureza volátil representados por terpenos são uma mistura de compostos monoterpenos e sesquiterpenos. Os fenilpropanóides são encontrados em menor quantidade no óleo volátil e conferem o odor e sabor característico de algumas espécies e também uma variedade de funções biológicas. Apesar disso, a biossíntese destas substâncias voláteis ocorre por vias metabólicas distintas.

Terpenos e fenilpropanóides podem ser formados no cloroplasto ou no citoplasma através de duas rotas diferentes e totalmente independentes, pela rota do ácido mevalônico ou pela rota do metileritritol fosfato (MEP). A rota do ácido mevalônico inicia-se com moléculas de acetil-CoA e a rota do (MEP) a partir de intermediários da glicose ou do ciclo de redução fotossintética do carbono, piruvato ou 3-fosfoglicerato (3-PGA). Nessas duas rotas, após sucessivas reações são formadas, as unidades básicas pentacarbonadas denominada isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP) que serão utilizadas como precursor para a síntese de monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (20) e outros. A síntese dos fenilpropanóides ocorre pela via do chiquimato, a partir da produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina. A classe mais comum de compostos fenólicos é sintetizado a partir da fenilalanina, catalisada pela enzima fenilalanina amônia liase (PAL) que resulta na formação dos ácidos cinâmico e p-cumarico que por meio de reações subsequentes tem-se a formação de compostos fenólicos simples denominados de fenilpropanóides (DEWICK, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2013; MUNÓZ-BERTOMEU et al., 2006).

2.2 ÓLEO VOLÁTIL

O termo óleo volátil, também conhecido como “óleo essencial” surgiu no século 16 pelo alquimista e médico Suiço Paracelso Von Hohenheim, que conseguiu isolar um componente de uma planta, a qual ele declarou ser a “quinta essência da matéria” (BURT, 2004). No entanto, desde as antigas civilizações o homem já havia descoberto que algumas plantas emitiam uma diversidade de substâncias com aromas. Pois estas devido ao seu aroma eram utilizadas para diversos fins, como em banhos aromáticos, perfumar ambientes, embalsamar múmias, em cerimônias religiosas e no tratamento de diversas enfermidades (LIS-BALCHIN, 2002).

Com o decorrer do tempo, se descobriu que óleos voláteis, produtos derivados do metabolismo secundário, constituíam uma fonte de compostos biológicos e economicamente importantes. Muitos compostos voláteis atuam como um sistema de defesa da planta na proteção contra altas temperaturas e radiação solar, para repelir ou intoxicar predadores e fitopatógenos; como aleloquímicos, na competição entre plantas; e na reprodução, como atrativo de agentes polinizadores (PICHERSKY; GERSHENZON, 2002).

Empregados como uma matéria prima importante na indústria, usados como aromatizantes, em fragrâncias, fixadores de fragrâncias, composições farmacêuticas e fitoterápicas, na agricultura no controle biológico de pragas e doenças. Têm a capacidade de inibir o crescimento de vários microrganismos patogênicos e com a vantagem de não acumular-se no meio ambiente e o risco do desenvolvimento de estirpes resistentes é muito pequeno (VARONA et al., 2013; DUDAREVA et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2008).

Conforme Simões (2007) os óleos voláteis são produtos naturais que estão presentes em plantas aromáticas, caracterizados por serem misturas complexas de compostos químicos, de baixo peso molecular e, geralmente apresentam aroma agradável. São líquidos à temperatura ambiente, pouco solúvel em água e altamente solúvel em solventes orgânicos. A principal diferença em relação aos óleos fixos é sua natureza volátil e não são comuns a todos os vegetais, estando restritos apenas a alguns grupos taxonômicos, enquanto que os óleos fixos são constituídos de uma mistura de substâncias lipídicas.

Nos últimos 15 anos, com o avanço das pesquisas, o conhecimento sobre a ocorrência, distribuição e função de plantas aromáticas cresceu significativamente,

assim como a capacidade de identificar e isolar composição química das misturas voláteis e enzimas/genes que atuam e regulam a biossíntese destes compostos (DUDAREVA et al., 2004).

Atualmente estima-se que um total de 1700 compostos voláteis já foram descritos, a partir de mais de 90 famílias de plantas, tais como Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Poaceae e Rutaceae estas com espécies muito conhecidas pela capacidade de produzir óleos voláteis de valor medicinal e industrial (DUDAREVA et al., 2006; RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

Os óleos voláteis podem ser sintetizados nos diferentes órgãos vegetais como botões, flores, folhas, frutos, caules, raízes e sementes e armazenados em estruturas secretoras externas denominadas tricomas glandulares e internas, em canais oleíferos que estão distribuídos em quantidade diferentes em órgãos vegetativos e reprodutivos da planta (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

Os compostos podem ser extraídos das plantas pelos métodos destilação a vapor, hidrodestilação ou extração com solvente (NAKATSU et al., 2000; AKTHAR et al., 2014), em escala comercial o método mais empregado é o de destilação a vapor (VAN DE BRAAK; LEIJTEN, 1999).

A composição dos óleos voláteis na maioria das vezes apresenta de 20-100 constituintes, sendo dois a três compostos químicos majoritários em concentrações altas se comparados com os outros constituintes presentes no óleo. Em *Thymus kotschyanus* L. (tomilho) espécie que pertence a família das Lamiaceae, a mesma da lavanda, tem como constituintes principais o timol (38,6%), o carvacrol (33,9%), o γ -terpineno (8,2%) (NICKAVAR et al., 2005). E em muitos casos a atividade do óleo volátil não esta diretamente associada aos compostos que estão em maior concentração, mas no efeito sinérgico de vários constituintes presentes (ISMAN et al., 2008).

Quimicamente os óleos voláteis são principalmente os terpenos e fenilpropanóides derivados de vias biosintéticas distintas, onde estão incluídas a maioria dos constituintes encontrados em espécies aromáticas. Fazem parte deste grupo os monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos (FIGUEIREDO et al., 2008).

Em termos gerais, a constituição e a proporção dos compostos voláteis envolvem a interação de diferentes rotas bioquímicas e genes em plantas.

As moléculas de monoterpenos e sesquiterpenos representam aproximadamente 90% dos constituintes do óleo volátil, o perfil fitoquímico extraído

das plantas varia quanto ao número de moléculas e a composição química. São diversos os fatores que afetam a química dos óleos voláteis, além da variação genética, a variedade, nutrição das plantas, aplicação de fertilizantes, a localização geográfica, o clima, as variações sazonais, o stress durante o crescimento ou maturidade e também a secagem pós-colheita e armazenamento. O rendimento e a composição ainda podem ser afetados pelo tipo de material vegetal e do método de extração empregado (HUSSAIN et al., 2008; RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

2.3 FAMÍLIA LAMIACEAE

Plantas da família Lamiaceae estão amplamente distribuídas nas diferentes regiões do Brasil, representadas por 28 gêneros e 350 espécies (LORENZI; SOUZA, 2008). São formadas por espécies arbustivas e herbáceas, conhecidas principalmente por serem espécies aromáticas, medicinais produtoras de óleos voláteis e outros compostos fitoquímicos, além de espécies com potencial ornamental e decorativo (TOUATI et al., 2011).

Muitas espécies dessa família são importantes pelo valor econômico e por acumular uma grande quantidade de metabólitos secundários com propriedades biológicas e terapêuticas comprovadas para estes constituintes químicos. São várias propriedades medicinais já conhecidas, com efeito quimioterapêutico, antiviral, antimicrobiano, antimutagênico, antioxidante, anti-inflamatório. Dentre estas, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), Lavanda (*Lavandula* spp.), salvia (*Salvia officinalis* L.), melissa (*Melissa officinalis* L.) e a Menta (*Mentha* spp.) com utilização na indústria farmacêutica, de perfumes, de cosméticos, e de aromatizantes de alimentos ou como condimento (LORENZI; MATOS, 2008; HAMMER; CARSON, 2011).

2.4 GÊNERO LAVANDULA

Nativas da região do Mediterrâneo, Península Arábica, das Ilhas Canárias e Índia, o gênero *Lavandula* compreende 39 espécies identificadas, além de diversas variedades de híbridos denominados de lavandins e cerca de 400 cultivares registradas (GUITTON, 2012; PATON, 2004). São espécies que possuem

propriedades aromáticas e medicinais, e cultivadas em uma grande variedade de regiões de clima temperado e tropical. Entre os principais países produtores se destacam a França, a Bulgária, o Reino Unido e Espanha há também produção em países do Saara africano, na Arábia e na Índia (HANAMANTHAGOUDA et al., 2010; UPSON; ANDREWS, 2004).

As plantas do gênero *Lavandula* geralmente são perenes, subarborescentes, apresentam haste lenhosa, muito ramificadas na base e com folhas e inflorescências com aroma agradável. As principais diferenças estão baseadas no seu hábito de crescimento, caracteres morfológicos que incluem a forma da folha, número e coloração das flores que varia de tons de violeta, azul, lilás e branco e ainda o perfil fitoquímico (LIS-BALCHIN, 2002). Além desta diversidade de caracteres, as plantas ainda podem apresentar diferenças significativas no conteúdo e na composição dos óleos voláteis em função de diversas condições agroclimáticas e da região de cultivo (CHAWLA, 2009; GOBBO-NETTO; LOPES, 2007).

As espécies mais comuns são *Lavandula angustifolia* (*Lavandula officinalis* e *Lavandula vera*), *Lavandula dentata*, *Lavandula latifolia*, *Lavandula spica*, *Lavandula stoechas*, *Lavandula dhofarensis*, *Lavandula pendunculata* e *Lavanda x intermedia* que são híbridos estéreis entre *L. angustifolia* x *L. latifolia* conhecidas como lavandins ou lavandas híbridas (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

Os óleos voláteis são sintetizados e armazenados em estruturas secretoras externas conhecidas como tricomas glandulares e extraídos de partes reprodutivas e vegetativas das plantas por hidrodestilação ou extração com CO₂ supercrítico (HASSIOTIS et al., 2014; JULLIEN et al., 2014).

Na maior parte das espécies de lavanda são misturas complexas e contêm em torno de 20-100 constituintes químicos presentes nas diversas variedades em diferentes concentrações. Embora cada espécie contenha seu perfil característico há um predomínio de monoterpenos, seguidos por sesquiterpenos. Entre os monoterpenos encontrados com maior frequência em lavandas, estão o linalol, acetato de linalol, borneol, cânfora, e 1,8-cineol (UPSON; ANDREWS; 2004; SARKER et al., 2012).

Os terpenos encontrados em plantas de lavanda ocorrem de forma generalizada e são resultado do metabolismo secundário das plantas e suas funções ainda não são bem conhecidas, no entanto, realizam suas funções ecológicas específicas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Plantas de *Lavandula* também são conhecidas pelas suas múltiplas funções, e representam grande importância no mercado de óleos essenciais de diversos países, além de haver um grande interesse na utilização e melhoria nas características qualitativas e quantitativas dos compostos naturais (HASSIOTIS et al., 2010).

De acordo com a qualidade de seus óleos voláteis, esses podem ser empregados nos diversos setores industriais. Óleos com elevado teor de linalol e acetato de linalina e baixo teor de cânfora são considerados de “alta qualidade”, e, portanto são utilizados em produtos de perfumaria e cosméticos (PAUL et al., 2004). Os aplicados na medicina popular, geralmente apresentam maiores quantidades de cânfora e 1,8-cineol, e são empregados como inalantes para aliviar tosses e resfriados (THEIS; KOREN, 1995). Os efeitos terapêuticos conhecidos da lavanda, são como sedativo, antioxidante, antimicrobiano, analgésico e anticonvulsivante (SUDRIÁ et al., 1999; KASHANI et al., 2011; SIENKIEWICZ et al., 2011; KOVATCHEVA et al, 2001), também como aromatizante de alimentos e bebidas (BOMBARDA et al., 2008; DA PORTO et al., 2009), na aromaterapia como relaxante (BRADLEY et al., 2007; SOLTANI et al, 2013). Outros usos, na agricultura ecológica, como inseticida, herbicida, e áreas com solos danificados por erosão e/ou fogo (CONTI et al. 2010; GONZÁLEZ-COLOMA et al., 2011; MENGUAL et al., 2014; BOUAYAD et al., 2013).

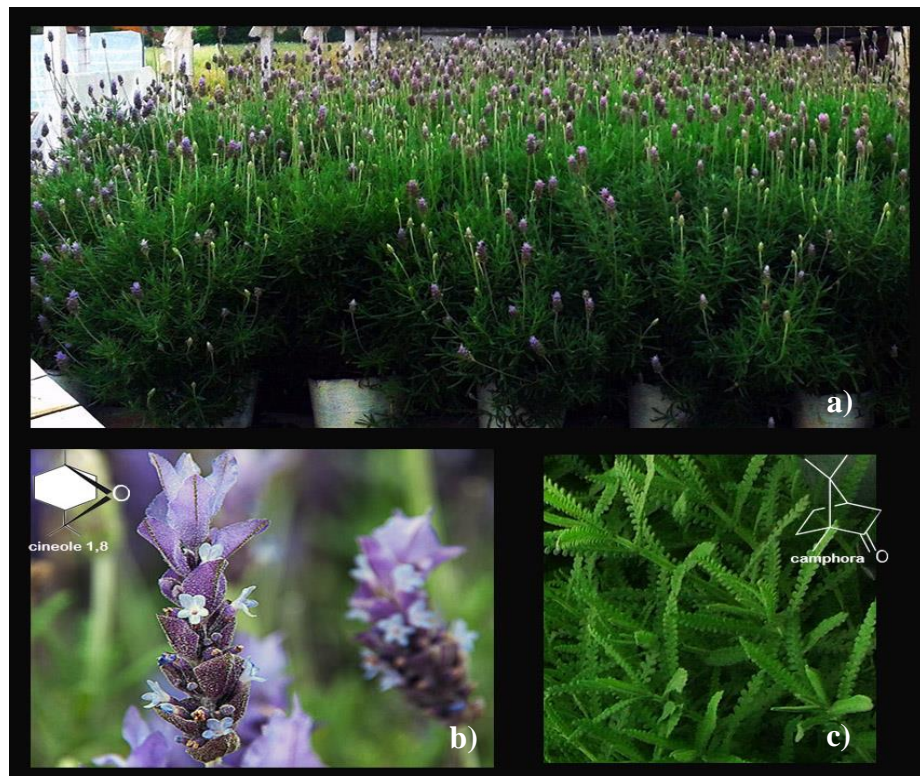
Lavandula angustifolia é a espécie mais cultivada no mundo. Cresce naturalmente no sudeste da França, com altitudes superiores a 700m. Suas principais cultivares são ‘Alba’, ‘Hidcote’, ‘Munstead’, ‘Royal Velvet’ o óleo volátil é rico em acetato de linalila (30 a 35%) e linalol (20 a 36%). A *L. latifolia* possui as folhas mais largas e mais acinzentadas, seu óleo é usado na aromaterapia. No entanto, seu principal uso é como ingrediente na fabricação de perfumes e fragrâncias (SÁNCHEZ-GRAS et al., 1996). A *L. x intermedia* apresenta características intermediárias entre as espécies de *L. angustifolia* e *L. latifolia*. A cultivar lavandin ‘Grosso’ é a mais cultivada, apresenta alta produtividade e boa qualidade de óleo essencial (BEUS, 2006). A *L. stoechas* é uma planta xerófila, que cresce naturalmente em regiões áridas do mediterrâneo como Espanha e sudeste da França. Os óleos voláteis desta lavanda são reconhecidos por possuir compostos com atividade antimicrobiana (HAJHASHEMI et al., 2003; MOON et al., 2007).

2.5 *Lavandula dentata* L.

A *Lavandula dentata* L. conhecida também como Alfazema ou lavanda “French” são plantas aromáticas, nativas da região do mediterrâneo, das ilhas do Atlântico e da Península Árabe (BOWN, 2005). São cultivadas em vários países do Mediterrâneo, Norte da África, Europa e Índia.

As características desta espécie são bastante visíveis e distintas de outras lavandas (Figura 2). São subarbustos lenhosos e perenes, muito ramificado na base, de 30 a 70 cm de altura, o caule é quadrangular. As folhas são lineares, opostas, pequenas, com bordos serrados, as folhas e caules apresentam coloração verde a verde acinzentado e as inflorescências são brácteas florais estéreis, dispostas em racemos terminais, com coloração em tons de violeta ou lilás com tamanhos de 5-10mm. E as brácteas férteis apesar de possuir a mesma forma das brácteas estéreis apresentam uma coloração marrom-esverdeada a violeta (LORENZI, 2002; MCNAUGHTON, 2006; CLEMENTE; HABER, 2013).

Figura 2 – Plantas de *Lavandula dentata* L. (a); inflorescências (b); folhas (c); e seus principais constituintes químicos do óleo volátil (d).



Fonte: (Mambrí, 2014).

É uma planta que está adaptada a diferentes condições edafoclimáticas, possui elevada resistência a invernos rigorosos e verões quentes, em sua condição de origem (BIASI; DESCHAMPS, 2009), crescem naturalmente em regiões montanhosas, áridas e terrenos rochosos (CHU; KEMPER, 2001). De acordo, com Mcnaughton (2006) são necessárias duas condições para que haja uma boa produção da lavanda, o cultivo a pleno sol, e em solos bem drenados.

No sistema de cultivo da lavanda nos países destinados a produção em escala industrial para a obtenção de óleo volátil, no hemisfério norte, a colheita é realizada nos meses do verão, de julho a setembro, e também quando a maior parte das plantas está em plena floração, ou seja, quando as flores do ápice estão abertas. Quanto ao manejo da poda recomenda-se retirar em torno de um terço a 50% da parte aérea da planta (BUSTAMANTE, 1996; RIVA, 2012).

No Brasil, a *L. dentata* é uma espécie exótica, mas apresentou em várias regiões boa adaptação, como no caso das regiões de Monte Verde (MG) e Cunha (SP) onde é cultivada para fins comerciais.

O cultivo comercial da planta é destinado, principalmente, para a extração de óleos voláteis das folhas e flores com fins aromáticos e medicinais, e por possuir um longo período de florescimento é uma planta empregada para compor projetos paisagísticos em arranjos de jardins, floreiras e vasos.

O perfil fitoquímico do óleo apresenta em torno de 100 substâncias, Entre os principais constituintes encontrados em seu óleo estão os monoterpenos oxigenados sendo eles; 1,8-cineol, cânfora, fenchona, fenchol e linalol, seguidos dos monoterpenos hidrocarbonados α -pineno, β -pineno e limoneno, os sesquiterpenos oxigenados e sesquiterpenos hidrocarbonados (DOB et al., 2005). Os compostos majoritários encontrados nesta espécie de lavanda possuem propriedades medicinais e terapêuticas com ação antiespasmódica, antifúngica e antimicrobiana (CHU; KEMPER, 2001; IMELOUANE et al., 2009).

Diversos estudos realizados sobre a composição química mostram que o óleo volátil de *Lavandula dentata* L. apresenta elevada variabilidade na composição química e no teor dos constituintes majoritários. Nos compostos identificados como principais constituintes temos a cânfora (50-72%), borneol (47%) e 1,8-cineol (12-32%) em amostras do Marrocos. Enquanto em amostras provenientes da Espanha foram 1,8-cineol (39-67%), β -pineno (27-42%), por α -pineno (9,6-13,2%), trans-

pinocarveol (5,8-9,8%) e linalol (2-10%) (Bousmaha et al., 2006). Estudos similares com as mesmas espécies na Tunísia 1,8-cineol, cânfora, e L-fenchone, correspondendo a 33,54, 18,89 e 8,36% nos óleos das folhas e de 19,85, 23,33 e 7,13% nos óleos flor, respectivamente (TOAUTI et al., 2011). Estes resultados mostram uma variação qualitativa do óleo de lavanda, e estas diferenças podem ser atribuídas à origem geográfica das plantas, ou seja, uma resposta adaptativa da planta ao ambiente.

2.6 FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO DE ÓLEO VOLÁTIL

As plantas ao longo do tempo desenvolveram vários mecanismos na sua interação com o ambiente, e isso incluiu a liberação de um conjunto de compostos orgânicos voláteis de seus tecidos vegetais para atmosfera e para raízes. E embora as plantas sejam beneficiadas com a produção de óleos voláteis para suas funções ecológicas específicas, a produção destes compostos representa um investimento em energia e recursos para a planta, e seu crescimento poderá ser limitado, uma vez que estes compostos produzidos sejam dispendiosos à planta (MAFFEI, 2010).

Muitos destes compostos são bastante úteis para a indústria de alimentos e farmacêutica, e apesar desta produção ainda não estar bem elucidada pela complexidade deste sistema na última década houve um grande progresso na identificação, isolamento e biossíntese destes compostos decorrentes de avanços tecnológicos, da parte de instrumentação, análise bioquímica e biologia molecular permitindo avanço nas pesquisas, quanto à produção e à variabilidade fitoquímica dos óleos voláteis.

Reconhecer o melhor período de produção se faz necessário, para conhecer os fatores que influenciam na composição e no rendimento de óleos voláteis, além daqueles ligados ao genótipo que em algumas espécies apresentam diferenças marcantes, e em outras são mais estáveis.

São inúmeros os fatores descritos na literatura que afetam a constituição e produção do óleo, pois os estímulos provocados pelo ambiente ou pela interação com a planta podem redirecionar as rotas metabólicas resultando na biossíntese de diferentes constituintes (MUNOZ-BARTOLOMEU et al, 2007; CASTRO, 2002).

Segundo Figueiredo et al. (2008) nem todas as espécies produzem compostos semelhantes nos diferentes órgãos da planta, essa composição poderá

sofrer alguma variação. Dentre os fatores bióticos, o estágio de desenvolvimento da planta e as diferentes partes da planta são determinantes no rendimento e na composição, e essa variação poderá ser mais evidente nas partes reprodutivas da planta, estas funcionam como atrativos, orientação para insetos polinizadores.

Em vários casos na literatura há um aumento no rendimento do óleo, nos órgãos florais, na fase reprodutiva da planta (durante a antese). Da mesma forma a composição química pode sofrer alterações significativas. Com *Salvia officinalis* L. (VERMA et al., 2015), *Lavandula dentata* L. (TOAUTI et al., 2011), *Hyssopus officinalis* L. (PANDEY et al., 2014) se obteve uma variação tanto quantitativa quanto no conteúdo dos compostos do óleo volátil.

Fatores abióticos como temperatura, intensidade de radiação, pluviosidade, localização geográfica, sazonalidade e horário de coleta podem interferir na produtividade e nas substâncias presentes no óleo volátil da planta, estes ainda poderão atuar conjuntamente e apresentar correlação entre si.

Em muitas espécies, a composição e o rendimento do óleo volátil poderão mudar conforme a época do ano. No geral, a melhor época de colheita é específico de cada espécie e deverá ser determinado de acordo com a composição e rendimento de óleo mais adequado, a partir de um ponto de vista comercial, agrônomo ou medicinal.

Para *Cymbopogon martini* Roxb. Wats. (palmarosa), durante seis meses de cultivo, a colheita realizada aos 70-80 após o plantio, produziu óleo volátil de boa qualidade (KAKARAPARTHI et al., 2015). Para *Ocimum* spp. manjerição (VERMA et al., 2012) e *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, erva-cidreira (CASTRO et al., 2002) o maior rendimento de biomassa e de óleo volátil foi maior na fase plena floração primavera-verão, e o menor foi obtido em cortes realizado no outono-inverno. Masetto (2011) avaliando o efeito das épocas de colheita (janeiro e abril) no teor e composição do óleo volátil de inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* L. observou que houve interferência no teor e composição do óleo volátil nas diferentes épocas.

Além destas alterações, também poderá ter variações diurnas. Ehlert et al. (2013) observou em *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, o pico atingido pelo limoneno foi em coleta realizada às 16 horas (32,81%) enquanto que o de carvona foi às 10 horas (66,47%). Santos et al., 2005 trabalhando com a mesma espécie encontrou a maiores concentrações para ambos os quimiotipos às 15 horas.

Portanto, as condições edáficas e ambientais de uma determinada região sempre terão uma relação no crescimento e desenvolvimento das plantas, e a produção de óleos voláteis é extremamente dependente das variáveis meteorológicas, tais como temperatura, vento, radiação solar, precipitação (FIGUEIREDO et al., 2008; REEVE, 2005).

Em trabalhos realizados com duas espécies de *Mentha* verificou-se que os maiores valores de biomassa e rendimento do óleo volátil foram encontrados quando as plantas foram expostas as intensidades elevadas de radiação solar. Isso também ocorreu nos constituintes majoritários mentol e mentona (CASTRO, 2007). Observações similares ocorreram em *Salvia* e *Thymus*, com maior rendimento de óleo volátil nas plantas sob níveis mais elevados de radiação solar (LI et al. (1996). Nestes casos específicos os fatores climáticos foram analisados separadamente no entanto, em outros estudos *Matricaria chamomilla* L., camomila (FORMISANO et al., 2015); *Lavandula angustifolia* L., lavanda (HASSIOTIS et al., 2014), para a produção e a composição do óleo volátil são necessários atribuir à influência de várias fatores ambientais.

2.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PELO MÉTODO BIOAUTOGRÁFICO

Produtos naturais são importantes fontes de matéria prima na fabricação de novas moléculas na indústria farmacêutica, e atualmente são empregados como coadjuvantes em medicamentos (CLARDY; WALSH, 2004). Os óleos voláteis possuem propriedades biológicas, como antibacteriana, antifúngica, antiviral e antiprotozoários pela diversidade de sua composição química (BAKKALI et al., 2008; HAMMER et al., 2002; MONZOTE et al., 2006; DUSCHATZKY et al., 2005). A capacidade dos óleos voláteis de inibir o crescimento de alguns microrganismos patogênicos é a base de muitas aplicações seja na conservação de alimentos ou em aplicações medicinais, ou mesmo na agricultura.

Estudos indicam que a propriedade antimicrobiana atribuída aos óleos voláteis e seus constituintes pode ser dado a uma característica importante, a sua natureza hidrofóbica que atua sobre a membrana celular microbiana alterando suas estruturas e tornando-as mais permeáveis resultando na perda de componentes celulares

internos e por interferir no fluxo de íons de potássio, o que pode ocasionar a morte celular (SIKKEMA et al., 1994; BURT, 2004; BAJPAI et al., 2012).

Mesmo com os avanços na área da saúde houve um crescente aumento em infecções bacterianas, devido ao surgimento de cepas resistentes a antibióticos e a um aumento da população com baixa imunidade. Portanto, há necessidade de explorar novas moléculas, métodos alternativos, produtos naturais, uma vez que, o uso de fármacos disponíveis tornou-se ineficaz na prevenção e no tratamento contra agentes patogênicos, causando pressão seletiva que ocasionou o surgimento de microrganismos resistentes a múltiplas drogas (RAUT; KARUPPAYIL, 2014; GALVÃO et al., 2012).

A utilização das diversas moléculas complexas que compõe os óleos voláteis, empregadas sozinhas ou em combinação com produtos químicos sintéticos constitui uma grande ferramenta para combater patógenos associados a doenças infecciosas, não infecciosas e as que provocam a contaminação e deterioração dos alimentos (SAMY; GOPALAKRISHNAKONE, 2010).

Pesquisas têm sido desenvolvidas para confirmar a eficácia biológica dos óleos voláteis de distintas plantas e de seus compostos químicos contra bactérias e fungos para um amplo espectro de agentes patogênicos.

Elgayyar et al., (2001) examinou a eficácia do óleo volátil do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), coentro e orégano (*Origanum vulgare* L.) no controle do crescimento e sobrevivência de microrganismos patogênicos e saprófitas. Os resultados do estudo mostraram que o óleo das plantas testadas teve efeito inibidor contra a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Yersinia enterocolitica*. Da mesma forma, Sokovic et al., (2009) observou a atividade antibacteriana dos óleos voláteis extraídos de folhas de tomilho e hortelã frente ao *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* e *Vibrio parahaemolyticus* os resultados mostraram que as plantas analisadas possuem atividade antibacteriana. O óleo volátil de *Lavandula bipinnata* L. também apresentou ação inibitória contra bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysentery*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacilos subtilis* e fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum* e *Candida albicans* (HANAMANTHAGOUDA et al., 2010). No entanto, o efeito não foi semelhante com a espécie *Lavandula coronopifolia*, a dose de 180 µg/mL não mostrou nenhuma atividade frente os microrganismos *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e de *Candida albicans* (HASSAN et al., 2014).

Os componentes dos óleos voláteis têm sido estudados isoladamente os compostos α -bisabolol, α -terpineno, terpinen-4-ol, cineol, nerolidol mostraram forte atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Campylobacter jejuni* (KUREKCI et al., 2013).

Entre as metodologias utilizadas para avaliar a atividade antimicrobiana de compostos naturais destacam-se os métodos por difusão em ágar, método de macrodiluição e microdiluição e bioautografia. A bioautografia e o método de difusão em ágar permitem detectar a presença ou ausência de substâncias com atividade antimicrobiana, considerados ensaios qualitativos (VALGAS, 2002).

O método bioautográfico é bastante difundido em estudos envolvendo produtos naturais, com este tipo de ensaio pode-se localizar e visualizar zonas de inibição de compostos ou frações que foram aplicados, na cromatoplaça, por cromatografia em camada delgada (CCD) e que possuam atividade antimicrobiana. Geralmente, os métodos bioautográficos são divididos em três categorias: difusão no ágar ou bioautografia de contato, imersão ou método de sobreposição do ágar e bioautografia direta. Dentre as vantagens desse método esta a rapidez, economia e a simplicidade. (HORVÁTH et al., 2010; ARESI, 2011).

Os fatores que podem influenciar no resultado da bioautografia são a fase móvel e seus aditivos, tipo de adsorvente, esterilização da cromatoplaça, microrganismo teste, tempo de incubação, reagentes de detecção e a utilização de estufa em atmosfera úmida (BOTZ et al., 2001). Portanto, as condições experimentais devem ser as mais controladas possíveis.

2.8 GENOTOXIDADE

A exposição contínua dos seres vivos a substâncias mutagênicas provenientes do meio ambiente, podem produzir efeitos adversos aos organismos, seja induzido por agentes químicos, físicos ou biológicos. Os danos afetam as células, seus processos de duplicação e transcrição gênica, assim como alterações cromossômicas e mutações que levam a processos cancerosos e morte celular (COSTA; MENK, 2000).

Segundo Frescura (2012) o efeito antiproliferativo de uma substância pode informar sobre sua capacidade de inibir a proliferação de células cancerígenas,

enquanto o efeito antimutagênico se refere sobre a capacidade de uma substancia inibir a ação de mutagênicos. Estes efeitos podem ser verificados durante o ciclo celular de uma planta (BAGATINI et al., 2007).

Os óleos voláteis são compostos lipofílicos que podem atravessar as membranas celulares e ser facilmente absorvidos pela pele. Em alguns óleos voláteis foi mostrado que a presença de determinados compostos voláteis ou efeito sinérgico destes, possam um efeito, inibitórios ou estimulantes sobre o ciclo celular sendo extremamente importante no tratamento adjuvante contra doenças como câncer (SANTOS; PINHEIRO, 2014). No entanto, óleos voláteis não são totalmente seguros quanto ao seu uso, alguns possuem toxicidade. Estudos revelaram efeitos, como hipersensibilidade que frequentemente observados pelo uso de cosméticos que apresentam em sua formulação compostos isolados ou extratos de origem vegetal. O composto cinamaldeído presente em altas concentrações no óleo da canela, funcho e do alho podem provocar uma sensibilização (reação alérgica); a tujona, fenchona, cânfora e pinocanfora encontrados em lavanda, sálvia e manjerição são considerados neurotóxicos sob altas concentrações podendo provocar convulsões, distúrbios sensoriais e psíquicos (VEIGA JUNIOR et al., 2005).

A avaliação da capacidade antiproliferativa e genotoxicidade de produtos naturais pode ser realizada, a partir de ensaios biológicos utilizando a cebola o teste *Allium cepa*, como organismo alvo para o monitoramento da bioatividade dos compostos químicos (NOLDIN et al., 2003). Este teste é frequentemente utilizado na avaliação de óleos voláteis, extratos e infusões de plantas por ser um método prático, simples e econômico. Consiste basicamente em submeter bulbos de cebolas ao enraizamento em água destilada e depois coloca-se em contato direto com as substancias bioativas durante um período de tempo, e após avaliar as alterações cromossômicas e as divisões da células meristemáticas de raízes de *A. cepa* (BAGATINI et al, 2007; KUHN, 2015).

ARTIGOS

ARTIGO 1- Crescimento, rendimento e composição do óleo volátil de lavanda em cultivo sem solo

Artigo submetido à revista Horticultura Brasileira

ARTIGO 2- Potencial genotóxico, antiproliferativo e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Lavandula dentata* L.

ARTIGO 1

Crescimento, rendimento e composição do óleo volátil de lavanda em cultivo sem solo

Ana Paula S Mambrí; Jerônimo L Andriolo; Melânia P Manfron; Suany Maria G. Pinheiro; Francieli L. Cardoso; Myriam G. Neves

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria – RS, Brasil; ana.mambri@gmail.com; jeronimoandriolo@gmail.com; melaniapalermo@gmail.com; agronomyriam@hotmail.com; franci-lc@hotmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de sucessivas épocas de colheita e do sombreamento na produção de fitomassa, rendimento e composição fitoquímica do óleo volátil de folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* L. em cultivo sem solo. As plantas foram cultivadas em sistema fechado de cultivo sem solo no Departamento de Fitotecnia da UFSM. O plantio foi em 8 de março de 2014 e foram realizadas três coletas sucessivas aos 150, 213 e 320 dias após o plantio, no inverno, primavera e verão, respectivamente. No período entre 20 de agosto de 2014 e seis de fevereiro de 2015, foi instalada uma tela com 50% de sombreamento, em delineamento fatorial 3 X 2 casualizado em parcelas subdivididas com 36 plantas por parcela. Em cada coleta foram determinadas a massa verde e seca, rendimento e composição química do óleo volátil das folhas e inflorescências. O óleo volátil foi extraído por hidrodestilação em Clevenger e a identificação e a quantificação dos compostos no óleo volátil foram determinados por cromatografia gasosa/espectrometria de massas (CG/MS). A massa fresca das inflorescências foi mais elevada na primavera sem sombreamento, enquanto a massa fresca de folhas foi mais elevada no verão, sem efeito do sombreamento. O rendimento do óleo volátil foi mais elevado nas folhas e no verão sem sombreamento. Um total de 31 compostos foram identificados e quantificados. Dentre estes os majoritários foram 1,8 cineol, cânfora e linalol. Concluiu-se que podem ser feitas várias colheitas sucessivas ao longo do ano sem substituição das plantas em cultivo sem solo e sem sombreamento.

Palavras-chave: *Lavandula dentata* L., planta aromática, solução nutritiva, fitomassa.

33

34

Growth, yield and volatile oil composition of lavender in soilless culture

35 **ABSTRACT**

36

37 The objective of this research was to evaluate the effect of successive harvest seasons
38 and shading on growth, yield and phytochemical volatile oil composition of leaves and
39 inflorescences of soilless *Lavandula dentata* L. Plants were grown in a closed soilless
40 system at Departamento de Fitotecnia, UFSM. Planting was at 8 March 2014, and three
41 successive harvests were made at 150, 213 and 320 days after planting, in winter,
42 spring and summer, respectively. From 20 August 2014 to 2 February 2015 a 50%
43 shading screen was tested, in a split-plot randomized factorial 3 x 2 experimental design
44 with 36 plants per plot. Fresh and dry mass, content, yield and chemical oil composition
45 in leaves and inflorescences were determined in each harvest. The volatile oil was
46 extracted by hydrodistillation using clewenger type apparatus and identification and
47 quantification of oil compounds was made by chromatography/spectrophotometry.
48 Fresh mass of inflorescences was higher in spring, without shading effect, while fresh
49 mass of leaves was higher in summer on unshaded plants. A total of 31 compounds
50 were identified and quantified. Among these the majority were 1.8 cineole, camphor
51 and linalool. It was concluded that several successive harvests can be done along he
52 year in soilless cultivation, without replacing plants and that shading has not to be used.

53

54 **Keywords:** *Lavandula dentata* L.; aromatic plant; nutrient solution; phytomass.

55 **INTRODUÇÃO**

56

57 Vem crescendo no Brasil o interesse pelo cultivo de plantas condimentares e
58 aromáticas com potencial de produção de óleo volátil para o mercado nacional. A
59 *Lavandula dentata* L., conhecida popularmente como lavanda francesa, é uma dessas
60 espécies. Apresenta ampla adaptação em diversas condições de clima e solo, sendo
61 encontrada em vários países da Europa, Oriente médio, Ásia e norte da África onde é

62 utilizada como fonte de matéria prima na indústria farmacêutica, de alimentos,
63 cosméticos, aromas e agroindústria (Biasi & Deschamps, 2009). O óleo volátil da lavanda
64 apresenta propriedades antibacterianas e antifúngicas (Aly *et al.*, 2013), antioxidantes e
65 citotoxicidade (Imelouane *et al.*, 2010; Abdel-hady *et al.*, 2014). Vários compostos foram
66 citados como componentes principais no óleo volátil de *L. dentata* em plantas
67 cultivadas na Argélia, Arábia Saudita, Espanha, Marrocos e Turquia: 1,8 cineol, cânfora,
68 borneol, fenchol, á-pinene, â-pineno, *trans*-pinocarveol e linalol (Bousmaha *et al.*, 2005;
69 Mothana *et al.*, 2012).

70 Resultados da literatura mostram que a composição e a proporção relativa dos
71 componentes individuais que constituem os óleos essenciais não são constantes.
72 Podem ser alterados pelo quimiotipo da planta em resposta às interações com o
73 ambiente (Zheljzakov *et al.*, 2013), como temperatura e radiação solar (Figueiredo *et*
74 *al.*, 2008). A composição pode variar também de acordo com a época da coleta, a fase
75 de desenvolvimento da planta e os diferentes órgãos da planta (Bousmaha *et al.*, 2005).

76 No cultivo de plantas aromáticas para produção de óleos essenciais no Brasil e
77 também nos demais países predomina o cultivo no campo com uma única colheita
78 anual, feita geralmente quando as plantas atingem o máximo crescimento vegetativo
79 e/ou à plena floração (Silva, 2015). Na região Sul do Brasil, o crescimento e
80 desenvolvimento das plantas em cultivo convencional no solo nos meses de inverno
81 sofrem efeitos negativos de baixas temperaturas e elevada precipitação pluviométrica
82 (Álvares *et al.*, 2014). Uma das alternativas para minimizar esses efeitos é o cultivo
83 protegido e sem solo, o qual permite manejar as condições ambientais como a
84 temperatura e a intensidade de radiação solar, e também a disponibilidade de água e
85 de nutrientes. O cultivo protegido permite também um melhor planejamento da
86 produção ao longo do ano. No caso do cultivo de plantas aromáticas para fins de
87 produção comercial de óleos essenciais, a realização de várias colheitas ao longo do ano
88 é favorável do ponto de vista industrial.

89 A intensidade da radiação solar pode afetar o crescimento, rendimento e
90 composição dos óleos essenciais da lavanda. A radiação solar varia naturalmente no
91 decorrer das épocas do ano. Na região central do estado do RS, a intensidade da

92 radiação solar global situa-se próxima de $8,4 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ nos meses de inverno e pode
93 chegar a valores próximos de $40 \text{ MJ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ no verão (Álvares *et al.*, 2014). A
94 intensidade no inverno está no limite trófico que tem sido indicado para o cultivo de
95 hortaliças de verão (FAO, 2013) enquanto aquela no verão pode reduzir o crescimento
96 e afetar a fisiologia das plantas, porque altera principalmente o potencial de água da
97 planta. Resultados de literatura mostram que o crescimento de plantas de melissa
98 cultivadas no solo (*Melissa officinalis*) foi favorecido pelo sombreamento (Brant *et al.*,
99 2009) e reduzido em plantas de manjerição (*Ocimum basilicum*) cultivados em vasos no
100 cultivo protegido (Chang *et al.*, 2008). Em ambas as espécies, o sombreamento afetou a
101 composição do óleo. Não foram encontrados na literatura resultados sobre o
102 crescimento e rendimento do óleo de lavanda nas diferentes épocas do ano, nem sobre
103 o efeito da intensidade de radiação solar sobre essas variáveis.

104 O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de sucessivas épocas de colheita e
105 duas intensidades de radiação solar na produção de fitomassa, rendimento e
106 composição fitoquímica do óleo volátil de folhas e inflorescências de *Lavandula dentata*
107 em cultivo sem solo.

108

109 **MATERIAIS E MÉTODOS**

110

111 O experimento foi conduzido em estufa de polietileno na área experimental do
112 Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) no período
113 8 março de 2014 a 6 de fevereiro de 2015. A região caracteriza-se por apresentar clima
114 Cfa, subtropical úmido sem estação seca definida (Alvares *et al.*, 2014). A radiação solar
115 global e a temperatura diária do ar no interior da estufa foram medidas por Registrador
116 Eletrônico de Umidade e Temperatura - RHT10 – Humidity and temperatura USB
117 datalogger® e Daqpro 5300 marca Fourier®. As temperaturas médias diárias $18,2^{\circ}\text{C}$,
118 $19,8^{\circ}\text{C}$ e 25°C das épocas 1, 2 e 3 respectivamente. As médias de radiação solar foram
119 $8,84$, $10,41$ e $17,49 \text{ MJ.m}^{-2}$ respectivamente. Nas plantas sombreadas nas épocas 2 e 3
120 foram $21,1^{\circ}\text{C}$ e $27,1^{\circ}\text{C}$ temperaturas médias e radiação $5,20$ e $8,74 \text{ MJ.m}^{-2}$.

121 O dispositivo para cultivo das plantas foi constituído de bancadas com 0,8 m de
122 altura, com telhas de fibrocimento com 3,95 m de comprimento e 1m de largura,
123 apoiadas com declividade de 1% sobre uma estrutura de alvenaria. As telhas foram
124 revestidas com filme transparente de polietileno de baixa densidade com espessura de
125 100 μ m. Os canais, de 0,06 m de altura e 0,18 m de distância, foram preenchidos com
126 brita basáltica média empregada na construção civil, de tamanho de partículas entre
127 0,015 m e 0,020 m. Sobre as britas foram alocados vasos de polipropileno com
128 capacidade de 3 dm³ preenchidos com areia de granulometria inferior a 0,03 mm,
129 densidade de 1,6 kg dm⁻³ e capacidade máxima de retenção de água de 0,238 L dm⁻³,
130 dispostos sobre as bancadas em três fileiras, na distância de 35 cm entre fileiras e de 30
131 cm entre os vasos na fileira, totalizando 36 vasos por bancada com uma planta por vaso.

132 As mudas com estatura média de 0,15 m foram adquiridas do comércio local e
133 plantadas em vasos, no dia 08 de março de 2014 na densidade de nove plantas por
134 metro quadrado. Foi empregada a solução nutritiva para o cultivo sem solo do alecrim,
135 com a seguinte composição iônica, em mmol L⁻¹: 9,17 de NO₃⁻; 1,36 de NH₄⁺; 1,0 de
136 H₂PO₄⁻; 4,0 de K⁺; 4,46 de Ca⁺²; 2,0 de Mg⁺² e 2,0 de SO₄⁻². Os micronutrientes foram
137 fornecidos nas concentrações de, em mg L⁻¹, 0,03 de Mo; 0,26 de B; 0,06 de Cu; 0,50 de
138 Mn; 0,22 de Zn e 1,0 mg L⁻¹ de Fe na forma quelatizada. Os macronutrientes foram
139 fornecidos através dos fertilizantes nitrato de potássio, fosfato de amônio monobásico,
140 nitrato de cálcio-Calcinin® e sulfato de magnésio. A condutividade elétrica dessa solução
141 nutritiva foi de 1,0 dS m⁻¹ e o pH de 6,0 (FRESCURA, 2014).

142 O fornecimento da solução nutritiva foi feito através de fitas gotejadoras
143 conectadas a uma bomba submersa no interior do reservatório, acionada por um
144 programador horário. Para cada fileira de vaso foi distribuída uma fita gotejadora, com
145 um gotejador por vaso com vazão de 1,8 L h⁻¹. Foi empregado um coeficiente de
146 drenagem de 30% em cada fertirrigação e a solução drenada foi recolhida e retornada
147 ao reservatório de estocagem, em sistema fechado. Foram feitas até oito fertirrigações
148 diárias de 15min, estimadas levando em conta a radiação solar máxima incidente, a
149 transpiração potencial máxima de hortaliças por unidade de área foliar (FAO, 2013) e o
150 estágio de desenvolvimento da cultura, de forma a manter diuturnamente o volume de

151 água disponível no substrato sempre próximo daquele na capacidade máxima de
152 retenção de água.

153 A condutividade elétrica foi medida a cada dois dias e corrigida sempre que uma
154 variação de 10% foi verificada em relação ao valor inicial ($1,0 \text{ dS m}^{-1}$), mediante adição
155 de água ou alíquotas de nova solução nutritiva, com a concentração e o volume
156 ajustados para atingir o valor inicial. O pH foi mantido entre 5,5 e 6,5 tolerando-se um
157 desvio de 0,2 unidades, mediante adição de NaOH ou H_2SO_4 na concentração 1N,
158 conforme a necessidade. A solução nutritiva no interior dos reservatórios foi
159 completada sempre que o volume atingiu 50% do volume original.

160 Foram comparadas três épocas de colheita, no inverno, primavera e final do
161 verão. Cada uma das colheitas foi realizada ao ser identificada o início da senescência
162 das folhas basais das plantas. A primeira (T1) foi feita em todas as plantas da área
163 experimental no dia 20 de agosto, aos 150 dias após o plantio (DAP). Todas as hastes
164 secundárias das plantas foram podadas na terceira ramificação a partir do início da
165 ramificação. Imediatamente após essa primeira colheita foi aplicado o sombreamento
166 através de uma tela preta de polipropileno com redução de 50% da radiação solar
167 global, instalada a 1,50 metros acima do topo das plantas em 50% da área interna da
168 estufa de polietileno, permanecendo até o final do experimento. As plantas sombreadas
169 e não sombreadas foram deixadas a rebrotar após cada colheita. A segunda (T2) e a
170 terceira (T3) colheitas foram feitas nos dias 22 de outubro de 2014 e 6 de fevereiro de
171 2015, aos 213 e 320 DAP, respectivamente, de acordo com o mesmo critério adotado
172 na primeira colheita.

173 O delineamento adotado foi casualizado em parcelas subdivididas em esquema
174 fatorial 3×2 , as épocas de colheita nas parcelas e a intensidade da radiação solar nas
175 subparcelas. Cada parcela foi constituída por uma bancada com 36 plantas, com quatro
176 repetições. As determinações de crescimento foram feitas em dez plantas sorteadas nas
177 fileiras, excluindo as bordaduras.

178 Em cada uma das colheitas as inflorescências foram separadas manualmente das
179 folhas, a massa fresca determinada imediatamente após a colheita e a massa seca após
180 secagem em estufa de circulação forçada de ar, na temperatura de 60°C , até obter

181 massa constante entre duas determinações sucessivas. A massa verde das plantas
182 restantes em cada parcela foi empregada para extração dos óleos voláteis, no
183 laboratório.

184 Para a extração do óleo volátil, as folhas e inflorescências após coletadas foram
185 armazenadas em freezer com temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. A extração do óleo volátil foi
186 feita no Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal de Santa Maria, de
187 acordo com a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 5^o Ed. (2010). O teor de
188 óleo volátil (%) foi calculado a partir de uma relação entre a massa de óleo volátil e a
189 biomassa de amostra , enquanto que o rendimento do óleo volátil (g) foi calculado a
190 partir da relação entre a massa de óleo e a massa de folhas e flores da planta.

191 A composição do óleo foi determinada por cromatografia em fase gasosa (GC)
192 conectado a um detector de ionização de chama (FID) em sistema Agilent Technologies
193 6890N GC-FID®, equipado com coluna capilar HP 5MS (30 m x 0,25 mm, e 0,25 mm).
194 Hélio foi utilizado como gás de arraste, a uma taxa de fluxo de 1,3 mL / min. O
195 programador térmico foi de 50-300°C a uma velocidade de 5°C / min. Duplicatas de
196 amostras foram processadas da mesma maneira. Concentrações relativas dos
197 componentes foram calculadas com base em áreas de pico GC sem o uso de fatores de
198 correção.

199 A análise de GC-MS foi realizada num sistema Agilent Technologies AutoSystem XL
200 CG-EM operando no modo EI a 70 eV, equipado com um injetor de separação (250°C). A
201 temperatura linha de transferência foi de 280°C. Hélio foi utilizado a um fluxo de (1,5
202 mL / min) e empregou-se colunas capilares equivalentes da (GC) e um HP Innowax (30
203 mx 0,32 mm ID, 0,50 mm). O programa de temperatura foi o mesmo que o utilizado
204 para as análises de GC. O volume injetado foi de 1 mL dos óleos essenciais. A
205 identificação dos componentes do óleo volátil foi realizada com base no índice de
206 retenção (IR), com os dados de espectros de massas e IR de literaturas.

207 Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a significância das
208 diferenças entre as médias determinada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade,
209 empregando o programa SISVAR.

210 RESULTADOS E DISCUSSÃO

211

212 Houve interação significativa entre as três épocas de colheita e o sombreamento
213 para as características avaliadas massa fresca (MFI) e seca (MSI) das inflorescências
214 (Tabela 1). As maiores médias de massa fresca das inflorescências foram observadas na
215 colheita da primavera, sem sombreamento. O sombreamento de 50% reduziu a
216 produção de inflorescências em 37% na primavera e de 83% no verão.

217 Para a massa fresca de folhas houve efeito significativo entre as épocas
218 avaliadas, mas não houve efeito significativo do sombreamento. Entretanto, as médias
219 de massa seca das folhas apresentaram diferença significativa quanto ao
220 sombreamento e ao período de colheita. Enquanto a massa fresca de folhas na
221 primavera e no verão foi similar nas plantas normais e sombreadas, a massa seca das
222 plantas sombreadas foi 36% e 38% menor na primavera e no verão, respectivamente.
223 Essas diferenças se devem ao teor mais elevado de água nas plantas sombreadas, em
224 consequência de uma taxa de transpiração inferior nas plantas sombreadas. Esses
225 resultados diferem daqueles obtidos por Brant *et al.*, (2009) em *Melissa officinalis*, os
226 quais utilizando malha preta com redução de 50% na radiação solar verificaram que o
227 crescimento foi favorecido em relação ao cultivo a pleno sol. Entretanto, efeito similar
228 foi descrito por Gomes *et al.*, (2009) em *Lippia citriodora* L. com redução da massa
229 fresca e seca pelo sombreamento de 30%, 50% e 75%. Essas diferenças podem estar
230 associadas à disponibilidade de água, pois no cultivo sem solo a fertirrigação foi
231 ajustada de forma a suprir integralmente as necessidades diurnas de água das
232 plantas. A partir desses resultados, pode-se inferir que o sombreamento deve ser
233 evitado na produção de inflorescências em plantas de *L. dentata*.

234 Verificou-se nesse trabalho que a produção de biomassa encontrada foi superior
235 quando comparada a dados de cultivo realizados em diferentes regiões do Brasil. Em
236 Uberlândia, Minas Gerais, a produção máxima de biomassa de folhas foi de 61 g planta⁻¹
237 em cultivo protegido (Silva, 2015), enquanto no presente experimento atingiu o total de
238 910,4 g planta⁻¹. Na região de Curitiba, a produção de inflorescências foi de 9,08 g
239 planta⁻¹ (Masetto, 2009) em cultivo a campo enquanto foi de 42,73g planta⁻¹ no atual.

240 Essas diferenças podem ser atribuídas ao cultivo sem solo, ao período de realização da
241 colheita e também à realização de várias colheitas no decorrer do ano.

242 O rendimento do óleo volátil das partes frescas incluindo folhas e inflorescências
243 variaram com as épocas de colheita e com o sombreamento (Tabela 2). As folhas
244 apresentaram rendimentos superiores do que as inflorescências, tanto na condição
245 normal como sombreada. Esses resultados divergem daqueles encontrados por Touati
246 *et al.*, (2011) com a mesma espécie na Tunísia, onde o rendimento das inflorescências
247 foi 32,4% maior do que das folhas. Essa diferença pode ser atribuída às diferenças entre
248 as condições edafoclimáticas do Sul do Brasil e da Tunísia.

249 O rendimento do óleo volátil das folhas foi maior na colheita realizada no verão,
250 aos 320 dias após o plantio (2,4 g.planta⁻¹) seguido pela estação da primavera (1,14
251 g.planta⁻¹) e inverno (0,52 g.planta⁻¹). O sombreamento reduziu o rendimento do óleo
252 em 46,5% e 31,6% na primavera e no verão, respectivamente. Resultados da literatura
253 sobre o efeito do sombreamento na produção do óleo volátil de espécies medicinais e
254 aromáticas mostraram que cada espécie reage de maneira diferente. Níveis reduzidos
255 de radiação solar aumentam o rendimento de óleo volátil em plantas de manjeriço
256 (*Ocimum gratissimum*, Li *et al.*, 1996; Ade-Ademilua *et al.*, 2013) e pariparoba
257 (*Pothomorphe umbellata*, Mattana *et al.*, 2010) enquanto diminuiu em menta (*Mentha*
258 *arvensis*, Chagas *et al.*, 2013), erva-copaíba (*Otacanthus azureus*, Serudo *et al.*, 2013) e
259 alfazema-do-Brasil (*Aloysia gratissima*, Pinto *et al.*, 2007). Os resultados indicam que a
260 *Lavandula dentata* L. pode ser incluída no segundo grupo.

261 A produção mais elevada de flores foi obtida na primavera. No verão houve uma
262 redução de 25% no rendimento do óleo volátil. Essa redução é atribuída ao menor
263 número de inflorescências nessa época bem como a uma maior proporção no estágio
264 de senescência no momento da colheita (dados não mostrados). Tem sido demonstrado
265 na literatura teor mais elevado de óleo de *L. dentata* L. nas inflorescências no estágio de
266 botão emitidas no verão (Masseto *et al.*, 2011). Efeito da temperatura e do estágio de
267 desenvolvimento das inflorescências de *Lavandula angustifolia* no rendimento de óleo
268 também foi observado por Hassiotis *et al.*, (2014). Além desta variação quantitativa, os
269 resultados também mostraram variação qualitativa entre os óleos voláteis das duas

270 partes da planta avaliada. Estas diferenças podem ser respostas adaptativas às
271 exigências ecológicas. Os resultados apresentados indicam que a temperatura e
272 radiação solar aumentam o acúmulo de compostos voláteis. O mesmo foi encontrado
273 em trabalhos realizados com *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Barros *et al.*, 2009) e *Salvia*
274 *officinalis* (Verma *et al.*, 2015) onde os resultados mostraram que a variabilidade
275 sazonal afetou o rendimento e a qualidade do óleo volátil.

276 Nas análises cromatográficas CG-MS foram identificados ao todo 31
277 constituintes que representam 96%-95% do total de óleo volátil nas inflorescências e
278 folhas da planta. Nas folhas os constituintes principais foram o 1,8 cineol (38,57% a
279 41,09), linalol (10,56% a 15,62%), cânfora (9,32% a 10,43%) e sabineno (3,91% a 5,61%).
280 O sombreamento provocou pequeno aumento na proporção desses compostos, de
281 7,3% e 5,6% na primavera e no verão, respectivamente. Nas inflorescências, os
282 principais constituintes foram o 1,8 cineol (32,48% a 40,65%), cânfora (18,32% a
283 25,14%), linalol (7,22% a 11,59%) e fenchona (5,72%). Houve variação na composição e
284 na proporção entre as folhas e as inflorescências, destacando-se a cânfora, que foi
285 reduzida para aproximadamente a metade e de linalol que foi superior nas folhas. O
286 sombreamento também aumentou a proporção desses constituintes nas
287 inflorescências, como verificado nas folhas, em média 22,6% e 4,9% na primavera e no
288 verão, respectivamente. A modificação na composição e na proporção dos constituintes
289 químicos no óleo volátil por efeito do sombreamento confirma observações feitas por
290 outros autores em plantas aromáticas (Li *et al.*, 1996; Grausgruber-Gröger *et al.*, 2012;
291 Verma *et al.*, 2015). Entretanto, os teores dos constituintes verificados nesse trabalho
292 diferem dos encontrados na literatura, os quais também variam entre as regiões
293 produtoras. Bousmaha *et al.* (2005) avaliaram plantas de *L. dentata* L. na Argélia, os
294 compostos majoritários forma o 1,8-cineol, α -pineno, trans-pinocarveol e linalol. No
295 Marrocos, as concentrações relativas de beta pineno, pincarveol, myrtenal e alfa pineno
296 foram maiores (Imelouane *et al.*, 2010), enquanto, no Egito foram identificados outros
297 constituintes principais menthe-1,5-dien-8-ol, caryophyllene oxide, guaiaol (Abdel-Hady
298 *et al.*, 2014). Neste trabalho alguns destes compostos apresentam-se em quantidades
299 pequenas e outros não foram encontrados (Tabela 3). Essas diferenças refletem

300 provavelmente respostas fisiológicas diferenciadas das plantas às condições no
301 ambiente onde foram cultivadas.

302 Os resultados indicam que o cultivo sem solo pode ser uma alternativa para a
303 produção de biomassa de lavanda na região Sul do Brasil. É possível a realização de
304 várias colheitas ao longo do ano sem substituição das plantas, em estruturas de cultivo
305 protegido com elevada transmissividade à radiação solar. Tanto o sombreamento
306 artificial como outros fatores que reduzam a transmissividade do material de cobertura
307 devem ser evitados, porque reduzem a produção de inflorescências e o rendimento do
308 óleo. Para fins de produção de óleo em escala industrial, cronogramas de produção de
309 massa verde podem ser previstos, de forma a estender o período de processamento
310 industrial durante o ano. Devido ao volume restrito de meio radicular no cultivo sem
311 solo, a manutenção das plantas por períodos mais longos de tempo além dos 320 dias
312 deve ser objeto de novas pesquisas.

313 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

314

315 ABDEL-HADY NM; ABDALLAH GM; IDRIS, NF. 2014. Phytochemical studies and *in vivo*
316 antioxidant activity of two *Lavandula* species (Lamiaceae) against streptozotocin
317 induced oxidative stress in albino rats. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical*
318 *Research* 3: 30-40.

319 ADE-ADEMILUA EO; OBI HO; CRAKER LE. 2013. Growth and Essential Oil Yield of African
320 Basil, *Ocimum gratissimum*, under Light and Water Stress. *Journal of Medicinally*
321 *Active Plants* 1: 143-149.

322 ALVARES CA. 2014. Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische*
323 *Zeitschrift* 22: 711-728.

324 ALY MM; AL-GHAMDI M; BAFEEL SO; KHEDR AM. 2013. Antimicrobial Activities and
325 Phytochemical Analysis of the Essential Oil of *Lavandula dentata* and
326 *Plectranthus tenuiflorus*, Collected From Al Baha Region, Saudi Arabia. *Life*
327 *science journal* 10: 3302-3309.

- 328 BARROS FMC; ZAMBARDA EO; HEINZMANN BM. 2009. Variabilidade sazonal e
329 biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.
330 E. Brown (Verbenaceae). *Química nova* 32: 861-867.
- 331 BIASI LA; DESCHAMPS C. 2009. *Plantas Aromáticas: do cultivo à produção de óleo*
332 *essencial*. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda. 160 p.
- 333 BOUSMAHA L; BEKKARA F A; TOMI F; CASANOVA J. 2005. Advances in the chemical
334 composition of *Lavandula dentata* L. essential oil from Algeria. *Journal of*
335 *Essential Oil Research* 17: 292-295.
- 336 BRANT RS; PINTO JEBP; ROSA LF; ALBUQUERQUE CJB; FERRI PH; CORRÊA RM. 2009.
337 Crescimento, teor e composição do óleo essencial de melissa cultivada sob
338 malhas fotoconversoras. *Ciência Rural* 39: 1401-1407.
- 339 CHAGAS JH; PINTO JEBP; BERTOLUCCI SKV; COSTA AG; JESUS HCR; ALVES PB. 2013.
340 Produção, teor e composição química do óleo essencial de hortelã-japonesa
341 cultivada sob malhas fotoconversoras. *Horticultura Brasileira* 31: 297-303.
- 342 CHANG X; ALDERSON PG; WRIGHT CJ. 2008. Solar irradiance level alters the growth of
343 basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. *Environmental and*
344 *Experimental Botany* 63: 216–223.
- 345 CHU CJ; KEMPER JK. 2001. Lavender (*Lavandula* spp). *Longwood Herbal Task Force*.
346 32p. Disponível em <http://www.longwoodherbal.org/lavender/lavender.pdf>.
347 Acessado em 9 de junho 2015.
- 348 FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013, 28 de março.
349 *Good Agricultural Practices for greenhouse vegetable crops*. Disponível
350 em: <http://www.fao.org/3/a-i3284e.pdf>
- 351 FIGUEIREDO AC; BARROSO JG; PEDRO LG; SCHEFFER JJC. 2008. Factors affecting
352 secondary metabolite production in plants: volatile components and essential
353 oils. *Flavour and fragrance journal* 23:213-226.
- 354 FRESCURA, V. D. S. 2014. Parâmetros fitoquímicos, genotóxicos e de crescimento de
355 alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em diferentes salinidades e doses de
356 nitrogênio. Santa Maria: UFSM. 113 p. (Tese doutorado).

- 357 GOMES PA; SOUZA MF; JÚNIOR ITS; JUNIOR WGOC; FIGUEIREDO LS; MARTINS ER. 2009.
358 Influência do sombreamento na produção de biomassa, óleo essencial e
359 quantidade de tricomas glandulares em cidrão (*Lippia citriodora* Lam.). *Bioemas*
360 22: 9-14.
- 361 GRAUSGRUBER-GRÖGER S; SCHMIDERER C; STEINBORN R; NOVAK J. 2012. Seasonal
362 influence on gene expression of monoterpene synthases in *Salvia*
363 *officinalis* (Lamiaceae). *Journal of Plant Physiology* 169:353–359.
- 364 HASSIOTIS CN; NTANA F; LAZARI DM; POULIOS S; VLACHONASIOS KE. 2014.
365 Environmental and developmental factors affect essential oil production and
366 quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. *Industrial crops and*
367 *products* 62: 359-366.
- 368 IMELOUANE B; ELBACHIRI A; WATHELET JP; DUBOIS J; AMHAMDI H. 2010. Chemical
369 composition, cytotoxic and antioxidant activity of the essential oil of *Lavandula*
370 *dentata*. *World Journal of Chemistry* 5: 103-110.
- 371 LI YL; CRAK CER LE; POTERR T. 1996. Effect of light level on essential oil production of
372 sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thyme vulgaris*). *Acta Horticulturae* 419-427.
- 373 LIS-BALCHIN M. 2002. *Lavender: The genus Lavandula*. New York: 1 ed. Taylor and
374 Francis Inc. 268p.
- 375 MASSETO MAM; DESCHAMPS C; MÓGOR AF; BIZZO HR. 2011. Teor e composição do
376 óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* L. em diferentes
377 estádios de desenvolvimento floral e épocas de colheita. *Revista Brasileira de*
378 *plantas medicinais* 13: 413-421.
- 379 MASSETO MAM. Ácido giberélico e extrato de alga marinha na produtividade e
380 composição do óleo essencial de Lavanda (*Lavandula dentata* L.). Curitiba: UFPR.
381 96p (Dissertação mestrado).
- 382 MATTANA RS; VIEIRA MAR; MARCHESE JA; MING LC; MARQUES MOM. 2010. Shade
383 level effects on yield and chemical composition of the leaf essential oil of
384 *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel. *Scientia Agricola* 67: 414-418.
- 385 MOTHANA RA; ALSAID MS; HASOON SS; AL-MOSAIYB NM; AL-REHAILY AJ; AL-YAHYA
386 MA. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography

- 387 mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa*
388 Wall. ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *Journal of*
389 *Medicinal Plants Research* 15: 3066-3071.
- 390 PARDOSSI A; CARMASSI G; DIARA C; INCROCCI L; MAGGINI R; MASSA D. 2011.
391 Fertigation and substrate management in closed soilless culture. Dipartimento di
392 Biologia delle Piante Agrarie, Pisa, Italy: Università di Pisa. 64p.
- 393 PINTO JEBP; CARDOSO JCW; CASTRO EM; BERTOLUCCI SK; MELO LA; DOUSSEAU S.
394 2007. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de
395 alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. *Horticultura*
396 *Brasileira* 25: 210-214.
- 397 SERUDO RN; ASSIS IM; KLEHM CS; SILVA JF; FLORENCIO V. 2013. Acúmulo de matéria
398 seca e rendimento de óleo da planta *Otacanthus azureus* em função da
399 luminosidade e adubação nitrogenada. *Scientia Plena* 9: 110-119.
- 400 SILVA SM. 2015. Sistemas agrícolas e adubação na biomassa e óleo essencial de lavanda
401 (*Lavandula dentata* L.). Uberlândia: UFU. 111p (Tese doutorado).
- 402 TOUATI B; CHOGRANI H; HASSEN I; BOUSSAID M; TOUMI L; BRAHIM NB. 2011.
403 Chemical Composition of the Leaf and Flower Essential Oils of Tunisian
404 *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae). *Chemistry & Biodiversity* 8: 1560- 1569.
- 405 VERMA RS; PADALIA RC; CHAUHAN A. 2015. Harvesting season and plant part
406 dependent variations in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L.
407 grown in northern India. *Journal of Herbal Medicine* 5: 165-171.
- 408 ZHELJAZKOV VD; CANTRELL CL; ASTATKIE T; JELIAZKOVA E. 2013. Distillation Time Effect
409 on Lavender Essential Oil Yield and Composition. *Journal of Oleo Science* 62: 195-
410 199.
- 411

412 **Tabela 1.** Produção de massa fresca e seca (g.planta⁻¹) das folhas e inflorescências de
 413 *Lavandula dentata* L. cultivada em três épocas de colheita com e sem sombreamento
 414 (fresh and dry mass (g.plant⁻¹) of leaves and inflorescences of lavender in three harvest
 415 seasons with and without shading). Santa Maria, UFSM, 2014.

416

Órgão	Época	Massa fresca (g planta ⁻¹)		Massa seca (g planta ⁻¹)	
		0%	50%	0%	50%
		(Pleno sol)	(Sombreado)	(Pleno sol)	(Sombreado)
Inflorescências	Inverno	33,88 B		7,95 B	
	Primavera	89,56 Aa	56,47 Ab	29,74 Aa	0,57 Ab
	Verão	14,29 Ca	2,39 Bb	5,04 Ca	0,63 Ab
Folhas	Inverno	276,43 B		49,10 C	
	Primavera	238,66 Ba	239,27 Ba	70,3 Ba	44,8 Bb
	Verão	395,31 Aa	334,34 Aa	121,3 Aa	75,4 Ab

417 *Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas
 418 linhas não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, p < 0.05 (Means
 419 followed by the same uppercase and lowercase letters in columns in the lines did not
 420 differ significantly from each other, Tukey, p < 0.05).

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439 **Tabela 2.** Rendimento (g.planta⁻¹) de óleo das folhas e inflorescências de *Lavandula*
 440 *dentata* L. cultivada em três épocas de colheita com e sem sombreamento (oil yield
 441 (g.plant⁻¹) of leaves and inflorescences of lavender in three harvest seasons with and
 442 without shading). Santa Maria, UFSM, 2014.

Época	Folhas		Inflorescências	
	0% (Pleno sol)	50% (Sombreado)	0% (Pleno sol)	50% (Sombreado)
Inverno	0,52 C	-	0,38 A	-
Primavera	1,14 Ba	0,61 Bb	0,60 Aa	0,18 Ab
Verão	2,4 Aa	1,57 Ab	0,15 Aa	0,01 Bb

443 *Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas
 444 linhas não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, $p < 0.05$ (Means
 445 followed by the same uppercase and lowercase letters in columns in the lines did not
 446 differ significantly from each other, Tukey, $p < 0.05$).

447

448

449

450

451

452

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466 **Tabela 3.** Composição química do óleo volátil de folhas e inflorescências de plantas de
 467 *Lavandula dentata* L. em três épocas de colheita (EP1; EP2; EP3) com e sem
 468 sombramento (Chemical composition of the volatile oil of lavender in three harvest
 469 (EP1; EP2; EP3) seasons with and without shading). Santa Maria, UFSM, 2014.

Constituintes	RI ^a	Inflorescências					Folhas					
		EP1	EP2		EP3		EP1	EP2		EP3		
			0%	50%	0%	50%		0%	50%	0%	50%	
Monoterpenos	α-tujona	930	0,15	0,09	0,24	0,18	0,21	0,23	-	-	0,09	0,11
	α-pineno	939	3,07	3,01	2,98	3,25	3,19	2,98	3,49	3,51	2,78	2,81
	canfeno	953	1,26	1,13	1,37	0,98	1,07	0,15	0,16	0,24	0,14	0,32
	sabineno	976	4,09	3,75	3,91	4,17	4,25	5,37	3,94	5,61	4,35	3,91
	β-pineno	980	0,85	0,82	0,89	0,79	0,8	0,54	0,29	0,53	0,18	0,25
	mirceno	991	0,13	-	0,07	0,1	0,19	1,09	1,03	1,48	0,75	0,86
	limoneno	1031	1,45	1,39	1,62	1,35	1,58	0,12	0,1	0,17	1,48	1,93
	1,8-cineol	1033	37,64	35,01	40,65	32,48	36,27	41,09	38,57	40,0	39,0	40,15
	γ-terpineno	1062	1,03	0,98	1,01	1,04	1,11	0,41	0,39	0,47	0,84	0,96
	cis-sabineno hid.	1068	0,85	0,79	0,56	0,63	0,78	0,07	0,11	0,15	-	0,09
	cis-linalol ox.	1074	-	0,08	0,13	0,09	0,12	-	-	-	0,16	0,27
	fenchona	1087	5,71	5,69	5,78	5,71	5,74	3,09	3,12	3,78	4,13	4,46
	terpinoleno	1088	0,49	0,23	0,48	0,17	0,19	1,58	1,38	1,49	1,61	1,73
	linalol	1098	10,05	8,17	11,59	10,91	7,22	15,04	14,97	15,6	10,5	13,2
	fenchol	1112	2,39	2,12	3,28	2,46	3,04	2,76	3,01	3,1	1,89	2,14
	cânfora	1143	18,32	18,9	25,14	18,58	21,7	9,86	9,32	10,4	10,1	10,2
	borneol	1165	0,62	0,61	0,78	0,31	0,92	0,19	-	-	0,07	0,12
	lavandulol	1167	0,07	0,13	0,25	0,69	0,71	-	0,41	0,58	-	0,16
	4-terpineol	1177	1,24	1,05	1,18	1,5	1,09	3,87	2,93	3,09	2,46	2,67
	α-terpineol	1189	2,98	3,14	2,96	2,96	3,05	1,62	0,98	1,07	1,95	2,04
verbenona	1204	0,17	-	0,11	0,11	-	0,14	0,2	0,27	-	-	
acetato linalol	1257	0,12	-	-	-	-	1,96	0,87	2,15	0,11	3,09	
acet. lavandulil	1289	1,03	0,94	1,47	1,47	0,87	0,51	-	0,73	-	0,86	
acetato geranil	1383	-	-	-	-	0,01	0,07	-	-	0,13	0,18	
Sesquiterpenos	β-cariofileno	1418	0,13	-	0,24	0,24	0,26	0,24	-	0,08	0,01	0,27
	farneseno	1420	0,71	0,56	0,49	0,49	0,75	1,48	1,56	0,97	1,32	1,61
	germacreno D	1480	0,03	-	-	-	0,11	-	-	-	0,18	0,24
	isoval.lavandulil	1510	0,25	0,47	0,73	0,73	0,78	0,75	0,63	1,09	0,21	1,27
	oxid.cariofileno	1581	0,17	0,17	0,23	0,23	0,19	3,12	2,76	2,81	2,4	3,08
	cadinol	1640	2,05	2,14	1,84	1,84	2,03	0,15	0,09	0,34	-	0,63
	α-bisabolol	1683	-	0,15	-	-	-	1,37	-	0,16	0,05	0,24
	Total		97	91,6	99,8	93,5	98,59	99,9	90,3	86,9	99,9	99,9

470

471

472

Identificado %^aRetention indices from literature (Adams, 1995).

ARTIGO 2

Potencial genotóxico, antiproliferativo e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Lavandula dentata* L.

RESUMO

Os óleos voláteis de lavanda são conhecidos pela capacidade de induzir uma variedade de efeitos biológicos e terapêuticos através de suas propriedades antibacteriana, antifúngica, citotóxica, antioxidante, analgésico entre outros. De forma a explorar as propriedades benéficas foi avaliada à presença de atividade antimicrobiana, potencial genotóxico e antiproliferativo do óleo volátil de folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* L. obtido por hidrodestilação. A identificação da atividade antimicrobiana foi realizada por meio do método da bioautografia frente a bactérias patogênicas humanas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*). O efeito antiproliferativo e genotóxico do óleo volátil foi avaliado sobre o ciclo celular de *Allium cepa*, na concentração 0,05%. O óleo foi obtido de plantas coletadas em 22 de outubro de 2014. Foram analisadas um total de 3000 células por grupo de bulbo e três repetições por tratamento. Os controles positivo e negativo foram glifosato 1,5% e água destilada. Os bulbos foram enraizados e posteriormente colocados nos respectivos tratamentos durante 24 horas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e analisadas em microscópio óptico para determinar o índice mitótico e as alterações cromossômicas. A análise estatística para comparação dos valores médios do potencial proliferativo e genotóxico foi realizada pelo teste do Qui-quadrado. Os resultados mostraram que o óleo volátil de lavanda apresenta atividade antimicrobiana moderada para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Salmonella typhimurium*, não apresentou inibição significativa, nem efeito genotóxico sobre o ciclo de divisão celular de *Allium Cepa*.

Palavras-chave: Lavanda, teste *Allium cepa*, índice mitótico e bioautografia.

**Genotoxic potential, antiproliferative and antimicrobial activity of volatile oil
Lavandula dentata L.**

ABSTRACT

The lavender volatile oils are known for their ability to induce a variety of biological and therapeutic effects through their antibacterial, antifungal, cytotoxic, antioxidant, and other analgesics. In order to exploit the beneficial properties was assessed in the presence of antimicrobial activity, and antiproliferative genotoxic potential of the volatile oil of leaves and flowers of *Lavandula dentata* L. obtained by hydrodistillation. The identification of antimicrobial activity was performed by the method of bioautography against human pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*). The antiproliferative and genotoxic effects of the volatile oil was evaluated on the cell cycle of *Allium cepa*, concentration 0.05%. The oil was obtained from plants collected on October 22, 2014. We analyzed a total of 3,000 cells per bulb group and three replicates per treatment. Positive and negative controls were 1.5% glyphosate, and distilled water. The bulbs were planted and subsequently placed in the treatments for 24 hours. The slides were prepared by crushing technique and analyzed by light microscopy to determine the mitotic index and chromosomal alterations. Statistical analysis to compare the average values of the antiproliferative and genotoxic potential was performed by Chi-square. The results showed that the volatile oil of lavender has moderate activity against the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella typhimurium*, showed no significant inhibition or genotoxic effect on the cell division cycle of *Allium Cepa*.

Key words: Lavender, test *Allium cepa*, mitotic index and bioautography.

INTRODUÇÃO

Produtos naturais de origem vegetal sempre foram objeto de pesquisa para o homem, ao longo das últimas décadas, devido a sua vasta aplicação seja na medicina alternativa como única fonte contra agentes patogênicos ou modelo de matéria prima para o desenvolvimento de novos medicamentos ou moléculas sintéticas, devido a alguns constituintes específicos de seus metabólitos secundários (SANGWAN et al., 2001).

Entre as várias espécies vegetais de interesse medicinal e comercial que são encontradas no Brasil, se destaca a *Lavandula dentata* L. (Lavanda) pertencente à família Lamiaceae. São pequenos arbustos aromáticos, de origem mediterrânea e cultivados sob várias condições agroclimáticas. Inicialmente cultivados para fins ornamentais e decorativos e atualmente para produção de óleos voláteis.

O óleo volátil extraído a partir de suas folhas e inflorescências frescas são misturas complexas naturais com diferentes concentrações, sendo na maioria monoterpenos oxigenados seguido de monoterpenos hidrocarbonados e, em menor quantidade, sesquiterpenos (DOB et al., 2005). Os principais monoterpenos encontrados em *L. dentata* são a cânfora, 1,8 cineol (SORO et al., 2014). Para fins medicinais e uso farmacêutico a qualidade do óleo volátil produzido, associado a uma combinação ou mistura de constituintes majoritários e minoritários, é muito importante sendo esta característica atribuída a sua atividade biológica e terapêutica (DJILANI; DICKO, 2012).

Várias espécies de lavanda são conhecidas pelas suas inúmeras aplicações, seja na fabricação de perfumes e cosméticos, na indústria de alimentos, aromaterapia e na farmacologia. São muitas as propriedades terapêuticas encontradas para a lavanda como anticonvulsiva, sedativa, antiespasmódica, analgésica, antioxidante, antibacteriana e citotóxica e outros fins medicinais que estão relacionados às propriedades de seus óleos voláteis (GHELARDINI et al, 1999; CAVANAGH; WILKINSON, 2002; KAGEYAMA et al., 2012; KOULIVAND et al., 2013; WORONUK et al., 2011).

É crescente o interesse da indústria farmacêutica por novos produtos naturais e moléculas mais eficientes no controle de determinadas doenças, principalmente agentes patogênicos. Agentes anteriormente controlados por antibióticos apresentam atualmente resistência às medicações empregadas rotineiramente.

Princípios ativos contidos nos óleos voláteis de plantas aromáticas e medicinais podem atuar como agente antimicrobiano combinados com antibióticos ou podem ser empregados para futuras pesquisas no desenvolvimento de novas moléculas (YAP et al., 2014; RODRIGUES et al., 2009).

Hui et al. (2010) avaliou a atividade antibacteriana do óleo volátil de *L. dentata* frente a *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus ascoformans*, *Proteus vulgaris* e *Escherichia coli* as quais foram sensíveis, em pacientes com rinite. Bactérias encontradas em ambientes hospitalares como *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* apresentam sensibilidade ao óleo volátil de lavanda (ALY et al., 2013).

Neste sentido, são importantes pesquisas para determinar a atividade biológica e o efeito tóxico do óleo volátil de *L. dentata*. Para a atividade antimicrobiana de *L. dentata*, foi empregado o método de bioautografia. O método bioautográfico é uma técnica simples e eficiente para detectar a ausência ou a presença de compostos com atividade antimicrobiana. Está baseada na separação de substâncias voláteis ou extratos vegetais por cromatografia em camada delgada-CCD (COLORADO; GALEANO; MARTÍNEZ, 2007).

A população faz uso do conhecimento de várias gerações de fitoterápico, mas isto não é suficiente para dar segurança na utilização de óleos voláteis. Estes compostos podem apresentar variabilidade devido a fatores genéticos e ecofisiológicos. Alguns estudos ainda sugerem moderação em sua utilização, pois geralmente as substâncias aromáticas podem apresentar, em determinadas doses, efeitos tóxicos (GOBBO-NETTO; LOPES, 2007; LESAGE-MEESSEN et al., 2015). É importante avaliar o potencial genotóxico da lavanda com a finalidade de trazer informação e ampliar a segurança da população quanto ao uso destas substâncias.

O efeito do óleo volátil sobre o ciclo celular e material genético foi realizado realizados por meio do ensaio biológico com o teste *Allium cepa* L. O teste da cebola se mostra eficaz e rápido na avaliação do efeito genotóxico de compostos voláteis e extratos aquosos (TEDESCO; LAUGHINGHOUSE, 2012).

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a atividade antimicrobiana, genotóxica e antiproliferativa do óleo volátil de folhas e inflorescências de plantas de lavanda cultivadas em ambiente protegido em cultivo sem solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e extração do material vegetal

O cultivo das plantas foi feito em um abrigo de polietileno localizado na área experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) entre os meses de março de 2014 e fevereiro de 2015. Segundo a classificação de Alvarez *et al.* (2014) a região caracteriza-se por um clima Cfa, subtropical úmido sem estação seca definida. As temperaturas médias máxima e mínima durante o experimento foram de 20,7°C e 19,5°C, respectivamente.

As plantas foram cultivadas em vasos de polipropileno com capacidade de 3 dm³, preenchidos com areia, e dispostos em bancadas em três fileiras, sobre uma estrutura de alvenaria. As mudas foram adquiridas do comércio local, com aproximadamente 0,15 m de estatura média, as quais foram plantadas em uma densidade de 9 plantas por metro quadrado. O fornecimento dos nutrientes foi realizado por fitas gotejadoras com solução nutritiva ajustada conforme Frescura (2014). Foram realizadas oito fertirrigações diárias de 15 minutos, acionadas por um programador horário de forma a manter quantidade de água disponível no meio de cultivo próximo daquele na capacidade máxima de retenção de água.

A colheita foi realizada no dia 22 de outubro de 2014, no período da manhã. As folhas e as inflorescências foram levadas para o Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Farmácia Industrial (UFSM), onde foi realizada a extração por hidrodestilação por arraste de vapor de água do óleo volátil a partir 70 gramas de amostras frescas.

O processo de hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger foi realizado durante 3 horas de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5^a Ed. (2010). O óleo foi isolado usando éter etílico e seco sobre sulfato de sódio anidro e armazenado a 4 °C (Figura 1).

Figura 1 – Material vegetal e extração do óleo volátil da *Lavandula dentata* L. a) cultivo em ambiente protegido; b) plantas em plena floração; c) extração do óleo volátil em aparelho Clevenger.



Fonte: (Mambrí, 2014).

Bioautografia

O ensaio de bioautografia foi realizado em placas de Petri (10 x 100 mm de diâmetro). No interior das placas de Petri foram depositadas placas cromatográficas de sílica gel (Merck G60F₂₅₄ de 620 x 800 mm) onde previamente foi aplicado o óleo volátil puro de folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* e eluídas com o sistema de solventes tolueno: acetato de etila (46,5; 3,5). Como controle positivo utilizou-se Amoxicilina na concentração de 978,09 ug/mL com atividade antimicrobiana conhecida.

O meio de cultura Ágar Muller-Hinton, (10ml) contendo suspensão bacteriana preparadas de acordo com a escala de McFarland foi depositado sobre as cromatoplas contidas nas placas de Petri. Estas foram mantidas em estufa a 36°C e 35% de umidade, durante 18 horas.

Com a solução aquosa de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (TTC) (Vetec®) 20mg/mL, o material foi nebulizado permitindo a visualização das áreas de inibição do crescimento microbiológico. A análise dos resultados ocorreu após o retorno das placas nebulizadas à estufa (36 °C) por 4 horas. A presença de halo(s) brancos na cromatoplasca indica que não houve crescimento microbiano naquela região que é atribuída a ação do composto(s) ativo(s) presente no óleo volátil. O teste foi realizado em duplicata.

Os microrganismos testados foram as cepas ATCC comumente encontradas em ambientes hospitalares, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) disponibilizadas pelo Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Análise genotóxica do óleo volátil da lavanda pelo teste de *Allium cepa*

Para o teste de *Allium cepa* amostras de óleo volátil de *L. dentata* foram diluídas em etanol para uma concentração de 0,05%. Utilizou-se cinco grupos de três bulbos de *Allium cepa* para o enraizamento em água destilada. Após a emissão das raízes, cada grupo de bulbos foi transferido para os seus respectivos tratamentos. O primeiro grupo foi denominado controle negativo (T1 – água destilada); o segundo grupo controle positivo (T2 – glifosato 1,5%); além de um controle com etanol (T3), os outros tratamentos foram: T4- óleo volátil 0,05% de folhas de Lavanda; T5- Óleo volátil 0,05% de inflorescências de Lavanda. Os bulbos permaneceram por 24 horas com estes tratamentos.

No preparo das lâminas, raízes foram antes coletadas e fixadas em fixador Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em seguida transferidas para álcool 70% e armazenadas em um refrigerador para o preparo das lâminas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento, as radículas foram hidrolisadas em

HCl 1N por cinco minutos e, então, lavadas em água destilada e coradas comorceína acética 2%. A região meristemática foi esmagada com auxílio de um bastão de vidro e uma lamínula foi colocada sobre o material. Foram feitas 2 lâminas por bulbo de cebola de cada tratamento e controle.

A partir de um microscópio Leica® com aumento de 40X as lâminas foram analisadas. Foram utilizados três bulbos, 1000 células por bulbo, totalizando 3000 células de cada tratamento, respectivamente.

O índice mitótico (IM%) foi determinado através da contagem do número de células em divisão (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) dividido pelo número total de células visualizadas por tratamento multiplicando-se por 100. Foi determinada também a porcentagem de alterações cromossômicas (AC%) pela contagem de células normais e células alteradas (células desorganizadas, micronúcleo, binucleadas, quebras e pontes cromossômicas)

Análise estatística

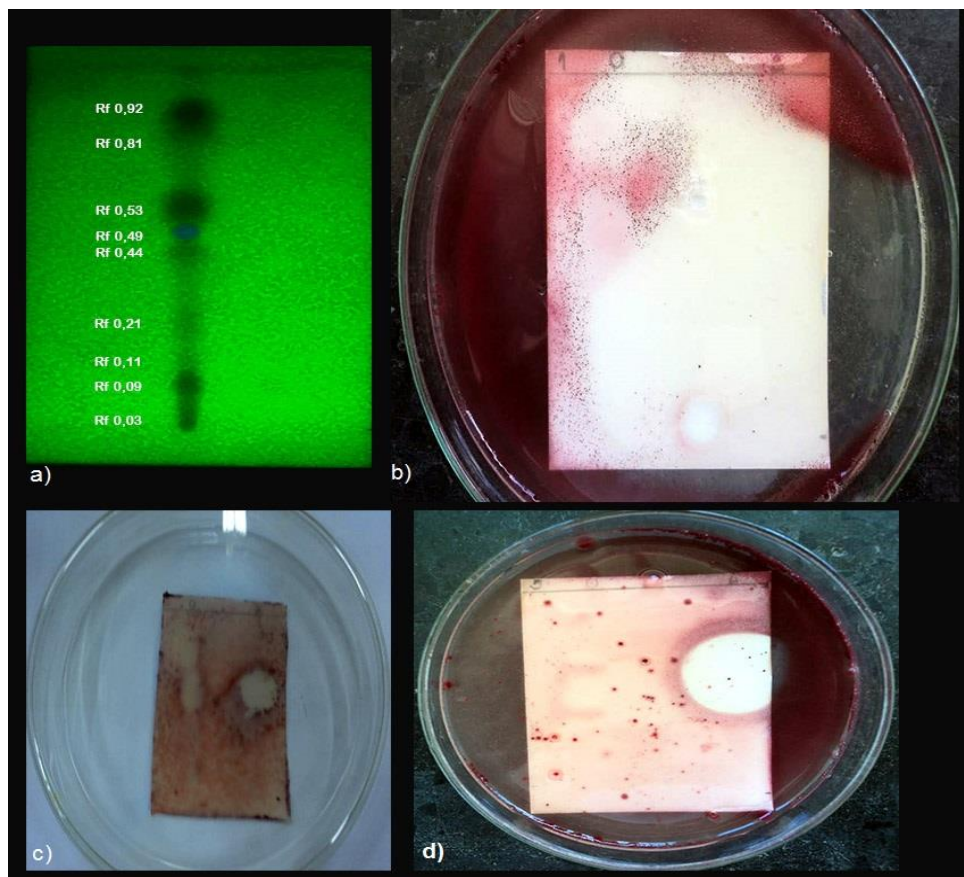
A análise estatística dos dados de genotoxicidade obtidos, foi realizada pelo teste do Qui-quadrado (X^2), com nível de probabilidade de erro $<0,05$ através do programa BioEstat 5.3 (AYRES, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de *L. dentata* (Tabela 1 e figura 2) sobre os microrganismos Gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Enterococcus faecalis*) e Gram negativos (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*) pelo método da bioautografia permite inferir que o óleo volátil de flores e folhas de *L. dentata* mostrou efeito antibacteriano para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Salmonella typhimurium*. Na cromatoplaca, se detectou a presença de halos brancos, o que indica que há uma inibição do crescimento dos referidos microrganismos. Entre as bactérias do teste, *B. cereus* foi a mais sensível.

Tabela 1 – Bioautografia do óleo volátil de plantas de *Lavandula dentata* L.

Microrganismos (Bactérias)	Resultado	Rf _s
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positivo	0,60
<i>Bacillus cereus</i>	Positivo	0,15
<i>Enterococcus faecalis</i>	-----	-----
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-----	-----
<i>Salmonella typhimurium</i>	Positivo	0,66
<i>Escherichia coli</i>	-----	-----
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-----	-----
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-----	-----

Figura 2- Bioautografia do óleo volátil de *Lavandula dentata* L. (a) perfil dos compostos químicos (luz UV) e seus Rfs.; (b) *Staphylococcus aureus*; (c) *Bacillus cereus*; (d) *Salmonella typhimurium*.

Fonte: (Mambrí, 2016)

Conforme Horváth et al. (2010) e Burt (2004) a atividade antibacteriana de óleos voláteis se deve as suas características lipofílicas e parece estar associada com os seus componentes majoritários, mas o efeito dos compostos minoritários também devem ser considerados. Os principais compostos nas amostras de folhas e inflorescências de *L. dentata* são 1,8 cineol, cânfora e linalol (dados não mostrados). A atividade antimicrobiana tem sido demonstrada para linalol, 1,8-cineol, cânfora, terpineol e α - e β -pineno (Cavanagh e Wilkinson 2002; Angioni et al 2006; Moon et al 2007; Blažeković et al 2010).

Pelo método da bioautografia utilizando óleo volátil de diferentes espécies tem sido confirmada com eficiência e rápida identificação, compostos bioativos, com atividade antimicrobiana. Em alecrim (*Rosmarinus officinalis*), o óleo volátil foi efetivo contra *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (Pereira, 2010). O mesmo efeito inibitório ocorreu utilizando os compostos voláteis de *Artemisia adamsii* em *Staphylococcus aureus*, e *Staphylococcus epidermidis* (Horváth et al., 2013). Entretanto, o óleo volátil da hortelã (*Mentha piperita* L.) apresentou atividade moderada frente a 22 microrganismos patogênicos (Iskan et al., 2002).

Na Tabela 2 é apresentado o número total de células observadas nos cinco tratamentos, números de células analisadas em interfase e em diferentes fases de divisão durante ciclo celular da cebola, bem como os valores do índice mitótico tratados com óleo volátil de *L. dentata*.

Os valores de índice mitótico (IM) de células de *A. cepa* na concentração 0,05% do óleo volátil de folhas e inflorescências *L. dentata* foram 4,27% e 4,63%, respectivamente. Observa-se que os tratamentos com o óleo volátil T4 ($\chi^2=28.116$) e T5 ($\chi^2=35.465$) diferiram significativamente do controle positivo T2 (glifosato 1,5%). E ainda, os valores encontrados de IM para o óleo volátil não apresentaram redução quando comparados ao grupo controle negativo (T1).

Com base nesses resultados pode-se inferir que óleo volátil da lavanda não induziu, e também não reduziu significativamente a atividade proliferativa, ou seja, não interferiu no índice mitótico, durante o ciclo celular de *A. cepa*.

Já o grupo controle positivo (glifosato 1,5%) quando comparado ao grupo controle negativo (água destilada) e com o controle com o diluente (etanol) resultou em diferença significativa. Na literatura, resultados semelhantes foram encontrados estudando a atividade dos extratos aquosos de *Artemisia verlotorum* e *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd. onde utilizando-se o glifosato na concentração de 1,5% houve

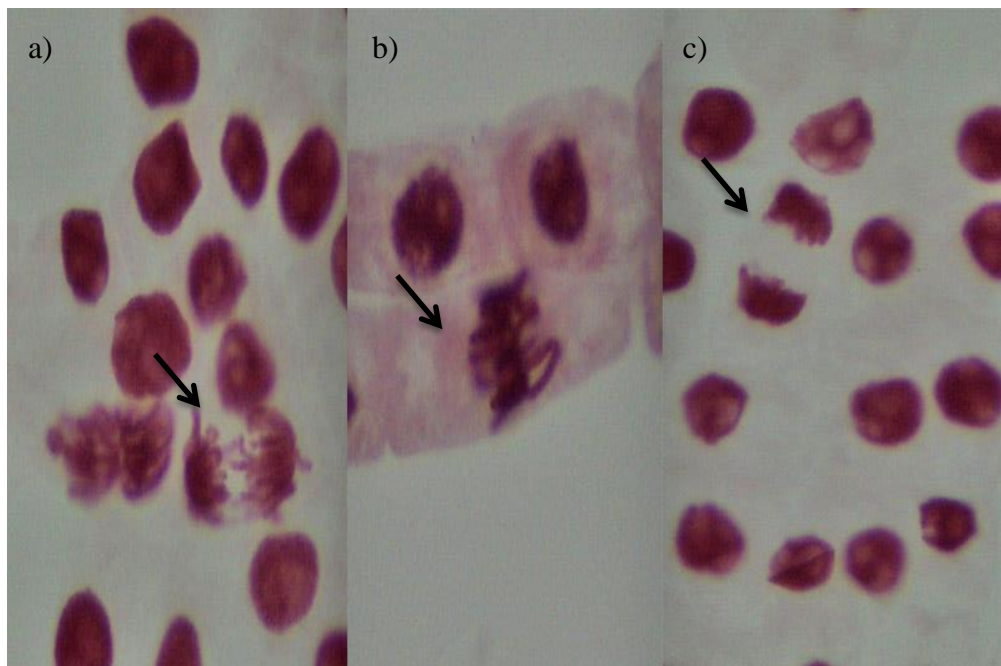
uma inibição da proliferação celular e indução de alterações cromossômicas em *A. cepa* (SOUZA et al. 2010; DIAS et al., 2014).

Neste estudo, o controle com o diluente etanol não influenciou nos resultados referentes ao óleo volátil da lavanda. Demonstrando que o uso de etanol para solubilizar óleos voláteis não interferiu na proliferação celular.

Em algumas espécies da família Lamiaceae, mesma da lavanda apresentaram resultados com maior potencial antiproliferativo utilizando o mesmo sistema teste *A. cepa*. Grondona et al. (2014) avaliou o óleo volátil de *Origanum vulgare* Subsp. *hirtum* e observou uma diminuição significativa do índice mitótico e o número de alterações cromossômicas. Resultados semelhantes também foram encontrados com o óleo volátil de folhas de alecrim que apresentaram potencial antiproliferativo nas concentrações 3% e 10% (FRESCURA, 2014).

O potencial genotóxico foi determinado comparando-se células com alguma alteração (Fig. 3a) e células com cromossomos normais (Fig. 3b; 3c).

Figura 3 - Células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* submetidas aos tratamentos com óleo volátil (0,05%) de *Lavandula dentata* L. a) seta indicando célula em anáfase com pontes cromossômicas; b) seta indicando célula em metáfase; c) seta indicando célula em telófase. Aumento 40x. Escala 10µm.



Fonte: (Mambrí, 2015).

O número de células com alterações cromossômicas e os tipos de alterações que ocorreram em cada tratamento são mostrados na (Tabela 3) onde células em interfase e em divisão celular e a presença de irregularidades cromossômicas dos tipos binucleada, ponte cromossômicas e quebra cromossômica estão presentes.

O controle positivo (T2) apresentou os maiores valores de alterações cromossômicas CA (0,77%), com aproximadamente 60% das irregularidades do tipo quebra cromossômica. As aberrações cromossômicas no ciclo celular da cebola observadas com óleo de *L. dentata* também foram predominantemente do tipo quebra cromossômicas 15 alterações (óleo volátil da folha) e 12 alterações (óleo volátil das inflorescências).

Houve diferença significativa na comparação dos valores de alterações cromossômicas do controle negativo (T1), sem nenhuma alteração, e os demais tratamentos controle positivo e diluente ($\chi^2=50.487$; 21.639) e com óleo volátil T4 e T5 ($\chi^2=14.973$; 13.289), respectivamente. O tratamento com óleo volátil das folhas e inflorescências diferiu significativamente do glifosato 1,5%, os valores de (CA) foram (0,50%; 0,43%) o que indica que o óleo não apresenta efeito genotóxico. A ausência de genotoxicidade também foi encontrada para o óleo volátil de *Origanum vulgare* L. (orégano, HOLLENBACH et al. 2014).

No entanto, Sotto et al. (2011) verificou o potencial genotóxico do óleo volátil da *Lavandula angustifolia* e de seus constituintes majoritários linalol e acetato de linalina e mostrou que a atividade genotóxica do óleo pode ser atribuída ao constituinte acetato de linalina e não ao conjunto de compostos fitoquímicos presentes.

Considerando o crescente uso destes produtos naturais, óleo volátil e sua frequente presença em produtos para cuidados pessoais e de higiene a atividade genotóxica dos óleos voláteis é interessante. Porém, mais estudos são necessários para avaliar a segurança, principalmente em outras concentrações, e também identificar os constituintes responsáveis por esta atividade.

Tabela 2 - Tratamentos com óleo volátil de folhas e inflorescências de *Lavandula dentata* L., controles, número total de células, células em interfase, células em divisão e determinação do índice mitótico (IM%) observado no teste *Allium cepa*.

Tratamentos	nº total de células observadas	Nº de células em interfase	Nº de células em divisão	Índice mitótico (IM%)
T1: Água destilada (Controle negativo)	3000	2871	129	4,3 b
T2: Glifosato 1,5% (Controle positivo)	3000	2943	57	1,9 d
T3: Etanol (Controle do diluente)	3000	2817	183	6,1 a
T4: Óleo volátil das folhas (0,05%)	3000	2872	128	4,27b,c
T5: Óleo volátil das Inflorescências (0,05%)	3000	2861	139	4,63 a,b

Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem pelo teste de χ^2 em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 3 - Porcentagem de alterações cromossômicas (CA%) encontradas em 3000 células analisadas pelo teste de genotoxicidade do óleo volátil de folhas e flores de *Lavandula dentata* L. (BN: Binucleada; Q: quebra cromossômica; P: ponte cromossômica)

Tratamentos	Nº total de células em divisão	Nº total de células observadas	Alterações cromossômicas no ciclo celular			Total células com alterações	(CA%)
			BN	Q	P		
T1: Água destilada	129	3000	0	0	0	0	0 d
T2: Glifosato 1,5%	57	3000	5	14	4	23	0,77a
T3: Etanol	183	3000	0	9	4	13	0,43c
T4: Óleo volátil das folhas (0,05%)	128	3000	0	15	0	15	0,50b
T5: Óleo volátil das Inflorescências (0,05%)	139	3000	0	12	1	13	0,43bc

Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem pelo teste de χ^2 em nível de 5% de probabilidade de erro. Controle positivo: glifosato 1,5%; controle negativo: água destilada; controle do diluente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, C.A. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, p.711-728, 2014.
- ALY, M. M. et al. Antimicrobial Activities and Phytochemical Analysis of the Essential Oil of *Lavandula dentata* and *Plectranthus tenuiflorus*, Collected From Al Baha Region, Saudi Arabia. **Life Science Journal**, v. 10, n. 4, p. 3302-3309, 2013.
- ANGIONI, A. et al. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/ leaves and flowers. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 4364–4370, 2006.
- BLAŽEKOVIĆ, B. et al. Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex loisel. 'Budrovka': a comparative study with *L. Angustifolia* mill. **Molecules**, v. 15, p. 5971–5987, 2010.
- CAVANAGH, H. M. A.; WILKINSON, J. M. Biological activities of lavender essential oil. **Phytother. Res.**, v. 16, p. 301–308, 2002.
- COLORADO, J. R.; GALEANO, E. J.; MARTÍNEZ, A. M. Desarrollo de La bioautografía directa como método de referencia para evaluar la actividad antimicrobiana de la gentamicina contra *Escherichia coli*. *Vitae*, **Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, v.14, n.1, p.67-71, 2007.
- DIAS, M. G. et al. Efeito genotóxico e antiproliferativo de *Mikania cordifolia* (LF) Willd.(Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Revista brasileira plantas medicinais**, v. 16, n. 2, p. 202-208, 2014.
- DJILANI, A.; DICKO, A. The therapeutic benefits of essential oils. In: _____ **Nutrition, Well-being and Health**. Croatia, InTech, 2012, p. 155–178.
- DOB, T. et al. Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 15, p. 110-114, 2005.
- EVANDRI, M. G. et al. 2005. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1381–1387, 2005.
- FRESCURA, V. D. S. **Parâmetros fitoquímicos, genotóxicos e de crescimento de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em diferentes salinidades e doses de nitrogênio**. 2014. 113 p. tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- GHELARDINI, et al. local anaesthetic activity of the essential oil of *lavandula angustifolia*. **Planta med.** v. 65, p. 700-703, 1999.
- GRONDONA, E. et al. Bio-efficacy of the Essential Oil of Oregano (*Origanum vulgare* Lamiaceae. Ssp. *Hirtum*). **Plant Foods Hum. Nutr.**, v. 69, p. 351–357, 2014.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.1027-1031, 2002.

HOLLENBACH, C. B et al. Avaliação do potencial genotóxico do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. em ratos Wistar por meio do teste de micronúcleos. **Revista Brasileira de Biociências**, v.12, p. 66-71, 2014.

HORVÁTH, G. et al. Antimicrobial activity of essential oils: the possibilities of TLC–bioautography. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 178–182, 2010.

HUI, L. et al. Chemical composition of *lavender* essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n. 4, p. 309-313, 18 Feb. 2010.

ISCAN, G. et al. Antimicrobial Screening of *Mentha piperita* Essential Oils. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 3943-3946, 2002.

KAGEYAMA, A. et al. Antidepressant-like effects of an aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill) in rats. **Food Sci. Technol. Res.**, v. 18, p. 473–479, 2012.

KOULIVAND, P. H., GHADIRI, M. K., GORJI, A. Lavender and the nervous system. **Evid. Based Complement Alternat. Med.**, v. 2013, p. 1-10, 2013.
Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/681304/>> acesso em: 04 mar. 2015.

LESAGE-MEESSEN, L. et al. Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: a review of current use and potential application in white biotechnology, **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 99, p. 3375–3385, 2015.

MOON, T.; CAVANAGH, M. A.; WILKISON, J. N. Antifungal Activity of Australian Grown *Lavandula* spp. Essential Oils Against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal Essential Oil Research**, v. 19, p. 171-175, 2007.

PEREIRA, M. A. A. **Estudo da atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos por destilação por arrasta a vapor e por extração supercrítica**. 2010. 60p. Dissertação (mestrado em engenharia e tecnologia de materiais) – Universidade Católica do Rio grande do sul, Porto Alegre, 2010.

RODRIGUES, F. F. G, COSTA, J. G. M; COUTINHO, H. D. M. Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 1052–1055, 2009.

SANGWAN, N. S et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n.1, p. 3-21, 2001.

SORO, K. N. et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula* species *L.dentata* L. , *L. pedunculata* Mill and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against foodborne and nosocomial pathogens, **International Journal of Innovation and Applied Studies**, v. 7, n. 2, p. 774-781, aug. 2014.

SOTTO, A. D. et al. Genotoxicity of LavenderOil, Linalyl Acetate, and Linalool on Human Lymphocytes In Vitro. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 52, p.69-71, 2011.

SOUZA, L. F. et al. Genotoxic potential os aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. **International Journal of Environmental Studies**, v.67, p.871-877, 2010.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination**, 2012. Dr. Jatin Srivastava (Ed.). Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/environmental-contamination/bioindicator-of-genotoxicity-the-allium-cepa-test>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

YAP, P. S. X. et al. Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. **The Open Microbiology Journal**, v. 8, p. 6-14, 2014.

WORONUK, G. et al. Biosynthesis and Therapeutic Properties of Lavandula Essential Oil Constituents. **Planta Med.**, v.77, p. 7-15, 2011.

3 DISCUSSÃO GERAL

No cultivo sem solo, condição que o experimento foi realizado pode-se observar que a produção de biomassa das inflorescências foi influenciada pelo efeito das épocas de colheita e do sombreamento. A maior produção de fitomassa ocorreu na colheita feita na primavera e sem a redução dos níveis de radiação solar ($89,56 \text{ g.planta}^{-1}$), nas condições médias de temperatura e radiação solar global no interior da estufa de $19.8 \text{ }^\circ\text{C}$ e 10.41 MJ.m^2 . Entretanto, para folhas de lavanda o sombreamento não teve efeito na massa fresca, apresentando resultados similares ($238,66$ e $239,27 \text{ g.planta}^{-1}$), já para massa seca das plantas o sombreamento reduziu em 36% na primavera e 38% no verão.

Nas condições de cultivo, em ambiente protegido, estratégias adequadas de manejo possivelmente favorecem a produtividade. Pois, o conhecimento dos diferentes processos que controlam os fatores abióticos (clima, substrato, nutrientes) e bióticos (doenças e pragas) é fundamental para propiciar o maior rendimento e qualidade do produto final (Andriolo, 1999).

Quanto ao rendimento do óleo volátil das folhas e inflorescências não houve interação significativa através das diferentes épocas de colheita e o sombreamento. No entanto, conforme os resultados obtidos as folhas apresentaram os maiores rendimento em relação às flores. As maiores médias das folhas foram na colheita realizada no verão, mas tanto para as folhas e flores o sombreamento reduziu o rendimento.

A partir deste estudo, com a diminuição da radiação solar no cultivo das plantas de *L. dentata* se observa que este controle não beneficia nem a produção de fitomassa nem o rendimento do óleo volátil. Embora, em se tratando de outras espécies aromáticas haja uma maior produção (BRANT et al., 2009; MATTANA et al., 2010; ADE-ADEMILUA et al., 2012).

Em relação aos compostos majoritários, no óleo volátil da *L. dentata* foram identificados: os monoterpênicos oxigenados 1,8 cineol (38,09%), cânfora (15,25%) e linalol (11,72%). Nas folhas foi observada uma redução de 48,56% da cânfora, enquanto para o constituinte linalol observa-se um aumento de 44,55%. Em trabalhos realizados no Brasil, esses compostos foram identificados nas análises químicas do óleo volátil da *L. dentata*, porém em proporções diferentes. Silva (2015) estudando diferentes sistemas de cultivo e adubação para *L. dentata* foram

encontrados os compostos principais 1,8 cineol, fenchona e cânfora. Resultados semelhantes a este também foram encontrados por Masetto (2009).

A capacidade antiproliferativa e o potencial genotóxico do óleo volátil, a partir de lavanda coletadas em plena floração, obtidas na primavera foram determinados pelo teste *Allium cepa*. Apesar de existir diferenças nas proporções e composição do óleo das diferentes partes da planta verificou-se que não houve atividade antiproliferativa para o óleo das folhas IM (4,27%) e inflorescências IM (4,63%) na concentração testada (0,05%). O grupo controle positivo (glifosato 1,5%) como confirmado em outros estudos proporciona uma redução na proliferação celular e induz as alterações cromossômicas em células meristemática de pontas de raízes de *A. cepa* (SOUZA et al. 2010; DIAS et al., 2014).

As irregularidades cromossômicas encontradas com maior frequência durante o ciclo celular foram quebras cromossômicas. Considerando que o óleo da lavanda apresentou um menor número de alterações cromossômicas em relação ao grupo controle positivo (glifosato 1,5%) considera-se que óleo não é genotóxico.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo sem solo pode ser uma alternativa para a produção de biomassa de lavanda na região Sul do Brasil.

Para fins de produção de óleo em escala industrial, cronogramas de produção de massa verde podem ser previstos, de forma a estender o período de processamento industrial durante o ano.

Devido ao volume restrito de meio radicular no cultivo sem solo, a manutenção das plantas por períodos mais longos de tempo além dos 320 dias deve ser objeto de novas pesquisas.

O óleo volátil de *L. dentata* apresentou atividade antimicrobiana para três das principais bactérias patogênicas humana. Isso indica que o óleo é um produto natural interessante para futuras pesquisas, de forma a identificar os constituintes responsáveis por esta atividade.

O óleo volátil de folhas e inflorescências de lavanda a uma concentração de 0,05%, não apresenta efeito genotóxico e nem efeito antiproliferativo.

A partir dos resultados obtidos neste estudo se faz necessário avaliar o efeito antiproliferativo e genotóxico do óleo volátil de *L. dentata* a partir de outras concentrações, a fim de avaliar sua ação terapêutica e se ter o uso mais seguro destes compostos voláteis.

5 REFERÊNCIAS

- ANDRIOLO, L. J. **Fisiologia das culturas protegidas**. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 1999. 142 p.
- AKTHAR, M. S.; DEGAGA, B.; AZAM, T. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. **Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 1, p. 001-007, Jan. 2014.
- AKTHAR, M. S.; BIRHANU, D.; TANWEER, A. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. **Biological Sciences and Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 1, p. 001- 007, Jan., 2014.
- ARESI, C. **Avaliação da Potencial Atividade Antimicrobiana de Produtos de Origem Natural: Estudo Bioguiado de *Dalbergia ecastaphyllum* L. Taub.** 2011. 77p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.
- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, jul/set. 2007.
- BAJPAL, V. K.; BAEK, K. H.; KANG, S. C. Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 722–734, 2012.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: A review. **Food Chem. Toxicol.**, v. 46, n. 2, p. 446- 475, 2008.
- BEUS, E. C. **Growing and marketing Lavender**. Farm the Northwest series-Small Farms Team. Washington State University - Extension, 2005.
- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial**. 1. ed. Curitiba: Layer Studio, 2009, 160p.
- BOELEN, M. H. Chemical and sensory evaluation of *Lavandula* oils. **Perfumer Flavorist**, v. 20, p. 23- 51, 1995.
- BOMBARDA, I. et al. Comparative chemometric analyses of geografic origins and compositions of lavandin var. grosso essential oils by mid infrared spectroscopy and gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 613. p. 31-39, 2008.
- BOTZ, L.; NAGY, S.; KOCSIS, B. **In Planar Chromatography: A Retrospective View for the Third Millenium**, S. Nyiredy (ed.). Budapest: Springer, 2001. 489p.

BOUAYAD, N. et al. Insecticidal effects of Moroccan plant extracts on development, energy reserves and enzymatic activities of *Plodia interpunctella*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 1, p. 189-198, 2013.

BOUSMAHA, L. et al. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. **Flavour and fragrance journal**, v. 21, p. 368-372, 2006.

BOWN, D. Lavandula. In: _____ **Encyclopedia of Herbs**, 3 ed. New York: D.K publications, inc., 2005.

BRADLEY, B. F. et al. Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. **Journal Ethnopharmacology**, v. 111, p. 517-525, 2007.

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

BUSTAMANTE, F. M. L. **Plantas medicinales y aromática**: estudio, cultivo y procesado. Madrid (España): Ed. Mundi-Prensa, 1996. 343p.

CASTELLANE, P. D.; ARAÚJO, J. A. C. **Cultivo sem solo** – Hidroponia. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 43 p.

CASTRO, D. M. et al. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 4, n. 2, p.75-9, 2002.

CASTRO, H. G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais**: Metabólitos secundários. 2ª ed. Viçosa: UFV, 2004. 113p.

CASTRO, L. W. P. **Desenvolvimento de *Mentha aquatica* e *Mentha x piperita*, rendimento e qualidade do óleo essencial em resposta a níveis de radiação e adubação nitrogenada**. 2007. 52p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CHAUHAN, L. K. S.; SAVENA, P.M.; GUPTA, S.K. Cytogenetics effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cell of *A. cepa*. **Environment and Experiment Botany**. v. 42, p. 181-9, 1999.

CHAWLA, H.S. **Introduction to plant biotechnology**. 3 ed. Enfield, NH, USA: Science Publishers, 2009. 698p.

CHU, C. J.; KEMPER, J. K. Lavender (*Lavandula spp.*). **Longwood Herbal Task Force**, p. 1-32, 2001.

Disponível em: <<http://www.longwoodherbal.org/lavender/lavender.pdf>> acesso em: 12 de mai. 2015.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature**, v. 432, p.829-837, 2004. Disponível em:
<<http://www.nature.com/nature/journal/v432/n7019/full/nature03194.html>> acesso em: 14 abr. 2015.

CLEMENTE, F. M. V. T.; HABER, L. L. **Plantas Aromáticas e condimentares**: Uso aplicado na horticultura. Brasília: Embrapa hortaliças, 2013. 150p.

CONTI, B. et al. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitol. Res.**, v. 107, p. 1455-1461, 2010.

COSTA, R. M. A; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: ciência e desenvolvimento**, v. 3, p. 24-26, 2000.
Disponível em: < <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio12/biomonitor.pdf>> acesso em: 23 jul. 2015

DA PORTO, C.; DECORTI, D.; KIKIC, I. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. **Food Chemistry**, v. 112, p. 1072-1078, 2009.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products**: a biosynthetic approach. 2 ed. Ottawa: J. Wiley, 2002. 507p.

DOB, T. et al. Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 15, p. 110-114, 2005.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of Plant Volatiles. **Plant Physiology**, v.135, p. 1893-1902, Aug. 2004.

DUDAREVA, N. et al. Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 25, p. 417- 440, 2006.

DUSCHATZKY, C. B. et al. Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. **Antivir. Chem. Chemother.**, v. 16, n. 4, p. 247-251, 2005.

ELGAYYAR, M. et al. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **Journal of food protection**, v. 64, n. 7, p. 1019- 1024, 2001.

EHLERT, P. A. D. et al. Influência do horário de colheita sobre o rendimento e composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 72-77, 2013.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and fragrance journal**, v. 23, p. 213- 226, 2008.

FORMISANO, C. et al. Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 256- 263, 2015.

FRESCURA, V. D. S. **Avaliação do Potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Briton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae)**. 2012. 74 p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

GALVAO, L. C. D. C. et al. Antimicrobial activity of essential oils against *Streptococcus mutans* and their antiproliferative effects. **Evid. Based Compl. Altern. Med.**, v. 2012, p. 1-12, 2012.

GOBBO-NETTO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-81, 2007.

GONZÁLEZ-COLOMA, A. et al. Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from western Iberia Peninsula populations. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 39, p. 1-8, 2011.

GUITTON, Y. **Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques**. 2012. 255f. Thèse (Doctorat en Sciences) - l'Université de Saint-Etienne - Jean-Monnet, France, 2012.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 67-71, 2003.

HAMMER, K. A; CARSON, C. F; RILEY, T. V. In-vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 50, n. 2, p. 195-199, 2002.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F. Antibacterial and antifungal activities of essential oils. In: THORMAR, H., **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**. UK: John Wiley & Sons, 2011. p. 255-306.

HANAMANTHAGOUDA, M. S. et al. Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1474–1478, 2012.

HASSAN, W. H. B. et al. The chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lavandula coronopifolia* growing in Saudi Arabia. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 2, p. 604-615, 2014.

HASSIOTIS, C. N. et al. Etherio, a new variety of *Lavandula angustifolia* with improved essential oil production and composition from natural selected genotypes growing in Greece. **Ind. Crop. Prod.**, v. 32, p. 77-82, 2010.

- HASSIOTIS, C. N. et al. Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. **Industrial crops and products**, v. 62, p. 359-366, 2014.
- HORVÁTH, G. et al. Antimicrobial activity of essential oils: the possibilities of TLC-bioautography. **Flavour Fragr. J.**, v. 25, p. 178- 182, 2010.
- HUSSAIN, A. I. et al. chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depend on seasonal variations. **Food chemistry**, v. 108, p. 986-995, 2008.
- IMELOUANE, B. et al. Physico-Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentate*. **International journal of agriculture & biology**, v. 11, n. 2, p. 113-118, 2009.
- ISMAN, M.B.; WILSON, J. A.; BRADBURY, R. insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni*. in relation to their chemical compositions. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, p. 82-87, oct. 2008.
- KAKARAPARTHI, P. S. et al. Changes in the essential oil content and composition of palmarosa (*Cymbopogon martini*) harvested at different stages and short intervals in two different seasons. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 348–354, 2015.
- KASHANI, M. S. et al. Aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia*) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease. **Neurosci. Bull.**, v. 27, p. 99–106, 2011.
- KIM, N. S.; LEE, S. D. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 982, p. 31-47, 2002.
- KOVATCHEVA, A. G. et al. Antioxidant activity of extract from *Lavandula vera* M. in cell cultures. **Food Chemistry**, v. 72, p. 295- 300, 2001.
- KUHN, A. W. **Viabilidade polínica, genotoxicidade, efeito antiproliferativo e compostos fenólicos de *peltodon longipes* kunth ex benth. (lamiaceae)**. 2015. 58p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.
- KUREKCI, C. et al. Antimicrobial activity of essential oils and five terpenoid compounds against *Campylobacter jejuni* in pure and mixed culture experiments. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 450- 457, 2013.
- JULLIEN, F. et al. Isolation and functional characterization of arcadinol synthase, a new sesquiterpene synthase from *Lavandula angustifolia*. **Plant Mol. Biol.**, v. 84, p. 227-241, 2014.

LESAGE-MEESSEN, L. et al. Essential oils and distilled straws of lavender and lavandin: A review of current use and potential application in white biotechnology. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 99, p. 3375- 3385, 2015.

LI, Y. L.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, v. 426, p. 419-427, 1996.

LIS-BALCHIN, M. **Lavender: the genus *Lavandula***. 1. Ed. New York: Taylor and Francis Inc., 2002, 268p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2001. 1120p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008. 1123p.

MAFFEI, M. E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **South African Journal of Botany**, v. 76, p. 612-631, 2010.

MASETTO, M. A. M. et al. Teor e composição do óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula dentata* L. em diferentes estádios de desenvolvimento floral e épocas de colheita. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 413-421, 2011.

McNAUGHTON, V. **Lavender: the grower's guide**. Portland (USA): Timber Press, 2006. 192 p.

MENGUAL, C. et al. Microbial inoculants and organic amendment improves plant establishment and soil rehabilitation under semiarid conditions. **Journal of Environmental Management**, v. 134, p. 1-7, 2014.

MONZOTE, L. et al. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. **Chemother.**, v. 52, n. 3, p. 130-136, 2006.

MOON, T.; CAVANAGH, M. A.; WILKISON, J. N. Antifungal Activity of Australian Grown *Lavandula* spp. Essential Oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal Essential Oil Research**, v. 19, p. 171-175, 2007.

MUNÓZ-BERTOMEU, J. et al. Up-Regulation of 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphate Synthase Enhances Production of Essential Oils in Transgenic Spike Lavender. **Plant Physiology**, v. 142, p. 890- 900, Nov. 2006.

MUNÕZ-BERTOMEU, J.; ARRILLAGA, I.; SEGURA, J. Essential oil variation within and among natural populations of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 479- 488, 2007.

NAKATSU, T. Biological activity of essential oils and their constituents. **Stud. Nat. Prod. Chem.**, v.21, p. 571- 631, 2000.

NICKAVAR, B.; MOJAB, F.; DOLAT-ABADI, R. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. **Food Chemistry**, v. 90, p. 609- 611, 2005.

NOLDIN, V. F. et al. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Química nova**, v. 26, n. 3, p. 331-334, mai/jun. 2003.

OKSMAN-CALDENTY, K.; INZE, D. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites – Review. **TRENDS in Plant Science**, v. 9, n. 9, Sept., 2004.

PATON, A. J.; D. SPRINGATE, et al. Phylogeny and evolution of basils and allies (Ocimeae, Labiatae) based on three plastid DNA regions. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, n. 1, p. 277-299, 2004.

PAUL, J.P. et al. Analysis of volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 32, p. 55–62, 2004.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, p. 237- 243, Mar. 2002.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Plant Biology**, v. 5, p. 237- 243, 2002.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250- 264, 2014.

REEVE, D. Citrus focus. A Cultivated Zest. The lemon's origins, production and processing. **Perfumer & Flavorist**, v. 30, n. 3, p. 32-35, 2005.

RIVA, A. D. **Caracterização morfológica e anatômica de *Lavandula dentata* L. e *angustifolia* e estudos de viabilidade produtiva na região centro norte, RS.** 2012. 185p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

SAMY, R. P.; GOPALAKRISHNAKONE, P. Therapeutic Potential of Plants as Antimicrobials for Drug Discovery. **Evid. Based Complement Altern. Med.**, v. 7, n. 3, p. 283-294, set. 2010.

- SÁNCHEZ-GRAS, M. C.; CALVO, M. C. Micropropagation of *Lavandula latifolia* through nodal bud culture of mature plants. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 45, p. 259-261, 1996.
- SANTOS, O. S. (Ed). **Cultivo sem solo**: hidroponia. Santa Maria: UFSM/CCR. 2000, 107p.
- SANTOS, G. J. L.; PINHEIRO, D. C. S. N. Aspectos da terapia etnofarmacológica associados à atividade antitumoral. Uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 2, p. 218-241, 2014.
- SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Efeitos de horários de colheita no teor e na composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Embrapa**, v. 27, 2005. 15p.
Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24763/1/bpd27-oleoessencialdeervacidreira.pdf>> acesso em: 28 ago. 2015.
- SEIXAS, P.T. L. et al. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, especial, p.523-526, 2011.
- SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 2001. 463p.
- SIENKIEWICZ, M. et al. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. **Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 674- 689, 2011.
- SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 11, p. 8022-8028, 1994.
- SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre, RS: UFRGS, 2007. 1102 p.
- SOKOVIC, M. D. et al. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. **Molecules**, v. 14, p. 238- 249, 2009.
- SOLTANI, R. et al. Evaluation of the effect of aromatherapy with lavender essential oil on post-tonsillectomy pain in pediatric patients: A randomized controlled trial. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 77, p. 1579-1581, 2013.
- SOUER, J. et al. Selective cytotoxicity of *Aniba rosaeodora* essential oil towards epidermoid cancer cells through induction of apoptosis. **Mutation research/genetic toxicology and environmental mutagenesis**, v. 718, p. 24-32, 2011.
- SUDRIÁ, C. et al. Influence of plant growth regulators on the growth and essential oil content of cultured *Lavandula dentata* plantlets. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 58, p. 177-184, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 917p.

THEIS, J. G. W.; KOREN, G. Camphorated oil: Still endangering the lives of Canadian children. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 152, p. 1821-1824, 1995.

TOUATI, B. et al. Chemical Composition of the Leaf and Flower Essential Oils of Tunisian *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae). **Chemistry & Biodiversity**, v.8, p. 1560- 1569, 2011.

UPSON, T.; ANDREWS, S. **The genus *Lavandula***. 1a. Ed. USA: Timber Press inc., 2004. 442p.

USANO-ALEMANY, J. et al. Ecological production of lavenders in Cuenca province (Spain). A study of yield production and quality of the essential oils. **Botanica Complutensis**, v. 35, p. 147-152, 2011.

VALGAS, C. **Avaliação de métodos de Triagem para determinação de atividade antibacteriana de Produtos Naturais**. 2002. 103 p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

VAN DE BRAAK, S. A. A. J.; LEIJTEN, G. C. J. J. **Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union**. Rotterdam: CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, 1999. 116p.

VARONA, S. et al. Antimicrobial activity of lavandin essential oil formulations against three pathogenic food-borne bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 243– 250, 2013.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VERMA, R. S.; PADALIAB, R. C.; CHAUHANA, A. Variation in the volatile terpenoids of two industrially important basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars during plant ontogeny in two different cropping seasons from India. **Journal of the Science of food and Agriculture**, v. 92, p. 626–631, 2012.

VERMA, R. S.; PADALIA, R. C.; CHAUHAN, A. Harvesting season and plant part dependent variations in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. grown in northern India. **Journal of herbal medicine**, v. 5, p. 165- 171, 2015.

VINEETA, P. et al. Compositional variation in the leaf, flower and stem essential oils of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) from Western-Himalaya. **Journal of herbal medicine**, v. 4, p. 89- 95, 2014.

ZHELJAZKOV, V. D.; ASTATKIEB, T.; HRISTOVIC, A. N. Lavender and hyssop productivity, oil content, and bioactivity as a function of harvest time and drying. **Industrial Crops and Products**, v. 36, p. 222- 228, 2012.

ZIELINSKA, S.; MATKOWSKI, A. Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus *Agastache* (Lamiaceae). **Phytochemistry Reviews**, v. 13, p. 391- 416, 2014.