

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Andressa Janaína Puhl

**ÁCIDO GIBERÉLICO E PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO NO CRESCIMENTO,
FLORESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E CITOGENOTOXICIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP.**

Santa Maria, RS
2023

Andressa Janaína Puhl

**ÁCIDO GIBERÉLICO E PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO NO CRESCIMENTO,
FLORESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E CITOGENOTOXICIDADE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP.**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Agronomia**.

Orientador: Prof^a Dr^a Solange Bosio Tedesco

Santa Maria, RS
2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Finance Code 001

PUHL, ANDRESSA JANAÍNA
ÁCIDO GIBERÉLICO E PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO NO
CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E
CITOTENOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE LAVANDULA SPP. /
ANDRESSA JANAÍNA PUHL.- 2023.

115 p.; 30 cm

Orientador: SOLANGE BOSIO TEDESCO
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de
Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Agronomia, RS, 2023

1. Lavandula spp. 2. Práticas de manejo 3. Indução floral 4. Óleo essencial 5.
Allium cepa L. I. BOSIO TEDESCO, SOLANGE II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, ANDRESSA JANAÍNA PUHL, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Andressa Janaina Puhl

**ÁCIDO GIBERÉLICO E PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO NO
CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E
CITOGENOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP.**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
Área de concentração em Produção Vegetal,
da Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM, RS), como requisito parcial para
obtenção do título de **Doutora em
Agronomia.**


Aprovada em 15 de Fevereiro de 2023:



Solange Bosio Tedesco, Dr^a. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Fernanda Alice Antonello Londero Backes,
Dr^a. (UFSM)



Ionara Fatima Conterato, Dr^a. (SEAPI)



Tiago Silveira Ferrera, Dr. (EMEFPeAR)



Viviane Dal-Souto Frescura, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, RS

2023

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meus passos, me amparar nos momentos de angústia e colocar pessoas maravilhosas no meu caminho.

Aos meus pais Macir, Zenir e minha irmã Édina, que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado.

Ao meu parceiro Marlon, pelos momentos de alegria, apoio nas dificuldades, por todo o amor, paciência e companheirismo.

A minha orientadora, Dr. Solange Bosio Tedesco, pela orientação, ensinamentos, confiança, paciência, amizade e toda ajuda durante a condução deste trabalho.

A professora Dr. Fernanda A. A. Londero Backes, pela disponibilidade e apoio na condução dos trabalhos.

Aos professores do PPGAGRO, Jerônimo Luiz Andriollo, Arno Bernardo Heldwein, Vanderlei Both, Astor Henrique Nied, Alessando Dal' Col Lucio e Rogerio Antonio Belle, pelos ensinamentos, ajuda, viabilização de equipamentos e infraestrutura para realizar os experimentos.

Aos colegas do Setor de Agrometeorologia do Departamento de Fitotecnia da UFSM por todo o apoio, auxílio na condução dos experimentos e coleguismo.

As colegas do LABCITOGEN, Cassia Becker Böck e Carmine Aparecida Lenz Hister, por toda ajuda no laboratório e pelos momentos de descontração.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de ensino e à CAPES pelo auxílio financeiro.

Aos funcionários do setor de Fitotecnia da UFSM, em especial ao Sr. Alberto do Laboratório de Biometria, por toda disponibilidade e momentos de descontração ao longo do extenso período de extração de óleo essencial.

Enfim, a todos que conheci ao longo deste caminho e que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

A todos vocês, meu profundo agradecimento.

RESUMO

ÁCIDO GIBERÉLICO E PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO NO CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E CITOGENOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP.

AUTORA: Andressa Janaína Puhl
ORIENTADORA: Solange Bosio Tedesco

As lavandas (*Lavandula* spp.) são plantas exóticas com diversas propriedades terapêuticas, além de produzir óleo essencial que é muito utilizado na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. A utilização de técnicas de manejo que viabilizam e incrementam os cultivos em quantidade e qualidade de produção, principalmente para aqueles que podem apresentar dificuldades para se desenvolver em condições adversas às de origem, podem servir como uma alternativa para a inovação e produção de novas espécies. As lavandas apresentam popularidade e interesse crescente no Brasil, porém, pouco se sabe sobre seu comportamento mediante o manejo com hormônios vegetais e a vernalização. O trabalho teve como objetivo determinar a influência da aplicação de ácido giberélico (GA₃) e períodos de vernalização no crescimento, florescimento, produtividade de óleo essencial e deste, sobre a divisão celular e material genético de *Allium cepa* L. Os experimentos foram conduzidos no Departamento de Fitotecnia da UFSM. O primeiro experimento foi conduzido a campo para testar a aplicação de quatro concentrações de GA₃ (100, 200, 400 e 600 mg L⁻¹, mais 0 mg L⁻¹, como controle em água, em duas espécies de *Lavandula* spp. (*Lavandula stoechas* L. e *Lavandula angustifolia* Mill.). O segundo experimento foi realizado em câmara fria, seguido do cultivo em casa de vegetação, com as mesmas espécies, vernalizadas por 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 semanas à 4°C±1°C. As variáveis analisadas foram: altura, diâmetro e número de ramos por planta, dias para início do florescimento (DPF), porcentagem de plantas e ramos com inflorescências (PPI e PRI, %), número de inflorescências de até 3 cm e maiores que 3 cm, massa fresca e seca de inflorescências e folhas, teor e rendimento do óleo essencial de inflorescências e folhas. Um terceiro experimento foi realizado no Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Biologia da UFSM, para avaliar o efeito genotóxico e antiproliferativo do óleo essencial de ambos os experimentos na concentração de 0,05%, através do teste de *Allium cepa*. Os resultados demonstraram que a *L. stoechas* apresentou respostas satisfatórias e superiores a *L. angustifolia* para o cultivo na Região Central do Rio Grande do Sul, com a aplicação exógena de GA₃ de 400 e 600 mg L⁻¹ e vernalização por até 4 semanas em câmara fria à 4°C±1°C, incrementando sobre o crescimento, número de inflorescências, teor e rendimento do óleo essencial de inflorescências e folhas. Concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹ de GA₃ anteciparam o florescimento, bem como, maior produção de inflorescências para *L. angustifolia*, porém, o florescimento ocorreu apenas após a aplicação no verão e foi insatisfatório para a extração do óleo essencial das inflorescências. A vernalização de 10 a 12 semanas à 4°C±1°C, foi necessária para induzir ao florescimento da *L. angustifolia*, antecipar o florescimento e incrementar em altura, porém, a exposição subsequente a temperaturas do ar elevadas, influenciaram negativamente sobre o número de inflorescências, teor e rendimento do óleo essencial de folhas. Os óleos essenciais a 0,05% apresentam potencial de proliferação da divisão celular e atividade genotóxica, pela observação de irregularidades cromossômicas.

Palavras-chave: Lamiaceae. Prática de Manejo. Indução floral. Óleo essencial. *Allium cepa* L.

ABSTRACT

GIBBERLIC ACID AND PERIODS OF VERNALIZATION IN GROWTH, FLOWERING, PRODUCTIVITY AND CYTOGENOTOXICITY OF *LAVANDULA* SPP. ESSENTIAL OIL

AUTHOR: Andressa Janaína Puhl
ADVISOR: Solange Bosio Tedesco

Lavanda (*Lavandula* spp.) are exotic plants that have several therapeutic properties, as well as produce an essential oil that is widely used in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. The use of management techniques that enable and increase cultivation in quantity and quality of production, especially for those who may present difficulties in developing in adverse conditions to those of origin, can serve as an alternative for the innovation and production of new species. The lavender shows popularity and growing interest in Brazil, however, little is known about their behavior through management with plant hormones and vernalization. The work aimed to determine the influence of the application of gibberellic acid (GA₃) and vernalization periods in the growth, flowering, and productivity of essential oil and on the cell division and genetic material of *Allium cepa* L. The experiments were conducted in the Department of Phytotechnia of the UFSM. The first experiment was conducted in the field to test the application of four concentrations of GA₃ (100, 200, 400 and 600 mg L⁻¹, plus 0 mg L⁻¹, as water control, in two species of *Lavandula* spp. (*Lavandula stoechas* L. and *Lavandula angustifolia* Mill.). The second experiment was carried out in a cold chamber, followed by cultivation in the house of vegetation, with the same species, vernalized for 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks at 4°C ± 1°C. The variables analyzed were: height, diameter, and number of branches per plant, days for the beginning of flowering (DPF), percentage of plants and branches with inflorescences (PPI and PRI,%), number of inflorescences up to 3 cm and greater than 3 cm, fresh and dry mass of inflorescences and leaves, A third experiment was conducted in the Plant Cytogenetics Laboratory of the Department of Biology of the UFSM, to evaluate the genotoxic and antiproliferative effect of the essential oil of both experiments in the concentration of 0.05%, through the test of *Allium cepa*. The results showed that *L. stoechas* presented satisfactory and superior responses to *L. angustifolia* cultivation in the Central Region of Rio Grande do Sul, with exogenous application of GA₃ 400 and 600 mg L⁻¹ and vernalization for up to 4 weeks in a cold chamber at 4°C±1°C, increasing on growth, the number of inflorescences, content, and yield of the essential oil of inflorescences and leaves. Concentrations of 400 and 600 mg L⁻¹, anticipated the flowering as well as, higher production of inflorescences for *L. angustifolia*, however, the flowering occurred only after application in summer and was unsatisfactory for the extraction of the essential oil from the inflorescences. The vernalization of 10 to 12 weeks at 4°C ± 1°C, was necessary to induce the flowering of *L. angustifolia*, and anticipate the blooming and increase in height, but the subsequent exposure to high air temperatures, negatively influenced the number of inflorescences, content and yield of the essential oil of leaves. The essential oils at 0.05% have proliferation potential of cell division and genotoxic activity, due to the observation of chromosomal irregularities.

Keywords: Lamiaceae. Management Practice. Floral induction. Essential oil. *Allium cepa* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- *Lavandula angustifolia* Mill. Cultivada em ambiente protegido no Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Santa Maria.....19

Figura 2 – *Lavandula stoechas* L. Cultivada em ambiente protegido no Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Santa Maria.....20

Artigo 1

Figura 1- Temperatura mínima (TMín, °C) e máxima diária do ar (TMáx, °C) e precipitação pluviométrica (chuva, mm) do período de 08 de agosto de 2019 a 30 de abril de 2020.....35

Figura 2- Altura de plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃.....37

Figura 3- Número de inflorescências de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, após segunda aplicação de diferentes concentrações de GA₃.....42

Figura 4- Massa fresca e seca total de inflorescências de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações GA₃.....44

Figura 5- Teor (A) e Rendimento (B) do óleo essencial de inflorescências de *Lavandula stoechas* cultivada sob diferentes concentrações de GA₃.....47

Figura 6- Teor (A) e Rendimento (B) de óleo essencial de folhas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃.....48

Artigo 2

Figura 1- Temperatura média, máxima e mínima do ar (a) e fotoperíodo (b), a partir da primeira semana do início do experimento em casa de vegetação, Santa Maria, RS.....58

Figura 2- Rendimento do óleo essencial das inflorescências de *L. stoechas* submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria.....65

Artigo 3

Figura 1 - Fases da divisão celular observadas em células meristemáticas de raízes de cebola (*Allium cepa*) tratadas com óleo essencial de *Lavandula* spp. e visualizadas em microscópio óptico com aumento de 40x.....77

Figura 2 - Alterações cromossômicas em células meristemáticas das pontas de raízes de cebola (*Allium cepa*) tratadas com óleo essencial de lavanda (*Lavandula* spp.).....77

Artigo 4

Figure 1 - Chromosomal changes in meristematic cells of onion (*Allium cepa*) root tips treated with lavender (*Lavandula* spp.) essential oil. a) Micronucleus; b) Prophase with chromosome breakage; c) Disorganized metaphase and chromosome breakage; d) Anaphase with chromosome breakage; e) Telophase with chromosome breakage; f) Disorganized prophase; g) Disorganized metaphase; h) Disorganized anaphase; i) Anaphase with chromosome bridge; j) Telophase with micronucleus and chromosome bridge.....98

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

- Tabela 1 - Diâmetro de plantas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃..... 36
- Tabela 2 - Altura de plantas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* cultivadas sob aplicação de GA₃.....37
- Tabela 3 - Número de inflorescências de até 3 cm e > que 3 cm de *Lavandula stoechas* cultivadas após uma aplicação de diferentes concentrações de GA₃..... 38
- Tabela 4 - Dias para o florescimento, porcentagem de plantas com inflorescências, altura e diâmetro de plantas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, após segunda aplicação de diferentes concentrações de GA₃.....39
- Tabela 5 – Número de inflorescências de até 3 cm e > que 3 cm de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* após segunda aplicação de diferentes concentrações de GA₃.....41
- Tabela 6 - Massa fresca e seca de inflorescências de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃, 44
- Tabela 7 - Teor e Rendimento de óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃.....46

Artigo 2

- Tabela 1 – Altura e número de ramos de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização..... 59
- Tabela 2 – Porcentagem de plantas e ramos com inflorescências e dias para o florescimento de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria.....60
- Tabela 3 – Número de inflorescências de até 3 cm e > que 3cm aos 15 e 21 semanas (0 semanas), 13 e 19 semanas (2 semanas), 12 e 18 semanas (4 semanas), 10 e 16 semanas (6 semanas), 8 e 14 semanas (8 semanas), 4 e 10 semanas (10 semanas), 3 e 9 semanas (12 semanas), a partir do final de cada respectivo período de vernalização.....61
- Tabela 4 – Massa verde e massa seca de plantas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria..... 63
- Tabela 5 - Teor e rendimento de óleo essencial de folhas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria..... 64

Artigo 3

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos utilizados na avaliação da cito e genotoxicidade do óleo essencial (OE) de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, pelo teste de *Allium cepa*.....74

Tabela 2 - Número de células meristemáticas de *Allium cepa* analisadas nos diferentes tratamentos com óleo essencial de *Lavandula* spp. e seus respectivos índices mitóticos e índices genotóxicos, incluindo células em interfase, em divisão celular e com irregularidades.....75

Artigo 4

Table 1 - Treatments evaluated in the *Allium cepa* test.....96

Table 2 - Mitotic index (MI), Genotoxic index (GI), cells in interphase, in division and irregularities.....97

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	OBJETIVO GERAL.....	15
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	FAMÍLIA LAMIACEAE.....	15
2.1.1	<i>Lavandula spp</i>.....	16
2.1.2	<i>Lavandula angustifolia Mill</i>.....	18
2.1.3	<i>Lavandula stoechas L</i>.....	19
2.2	FATORES QUE INTERFEREM SOBRE O CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL.....	20
2.3	GENOTOXICIDADE.....	25
3	ARTIGO 1 ÁCIDO GIBERÉLICO NO CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DE.....	28
	Introdução.....	30
	Material e métodos.....	31
	Caracterização do local do experimento.....	31
	Tratamentos, instalação e condução do experimento.....	31
	Variáveis analisadas.....	32
	Variáveis meteorológicas.....	34
	Análise estatística.....	34
	Resultados e Discussão.....	34
	Referências Bibliográficas.....	49
4	ARTIGO 2 PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO INFLUENCIAM O CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DE.....	52
	Introdução.....	54
	Materia e Métodos.....	55
	Tratamentos, instalação e condução do experimento	55
	Variáveis analisadas.....	56
	Análise estatística e meteorológica.....	57
	Resultados e Discussão.....	57
	Referências Bibliográficas.....	67
5	ARTIGO 3 CITOTENOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>LAVANDULA</i>	

SPP. SOB APLICAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA₃	70
Introdução.....	71
Material e Métodos.....	72
Resultados e Discussão.....	75
Referências Bibliográficas.....	80
6 ARTIGO 4 Cytogenotoxicity of the essential oil of cold¹	84
1. INTRODUCTION.....	85
2. MATERIAL AND METHODS.....	86
3. RESULTS.....	88
4. DISCUSSION.....	90
5. CONCLUSION.....	92
REFERENCES.....	92
7 DISCUSSÃO GERAL	99
8 CONCLUSÕES	104
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pela população mundial é feito por milênios, entretanto a partir deste século ocorre um crescente interesse no estudo e conhecimento de espécies vegetais e seus usos tradicionais pelo mundo, principalmente para garantir uma utilização segura e racional. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 88% da população mundial usa a medicina alternativa para o tratamento de alguma enfermidade (WHO, 2019). No Brasil, inexistem dados sobre o número de pessoas que fazem o uso de plantas medicinais, mas, se acredita que a mesma tendência ocorre, tanto no consumo das plantas *in natura*, na preparação de chás e como fitoterápicos (CARVALHO et al., 2007).

Além do amplo uso pela indústria de medicamentos e perfumes, o uso de derivados de plantas medicinais desperta cada vez mais o interesse da indústria alimentícia e cosmética. Os óleos essenciais, vêm sendo muito utilizados pela Aromaterapia, como antitumorais, antidepressivos, antioxidantes, analgésicos, anti-inflamatórios, fungicidas (PELLISSARI et al., 2010); antimicrobianos (SANTOS et al., 2017), inseticidas (DE LA TORRE et al., 2017), como herbicidas, e também como alelopáticos (FIORI et al., 2000; KAGALE et al., 2004; GONÇALVES et al., 2016).

O mercado mundial de óleos essenciais movimenta anualmente cerca de US\$ 15 bilhões, com crescimento aproximado de 11% ao ano. No entanto, no cenário nacional, a produção de óleos essenciais, para muitas espécies, ainda é incipiente e enfrenta problemas como a falta de tecnologias e baixos investimentos no setor. Por isso, se faz necessário investimento e desenvolvimento de pesquisas que visem otimizar a produção de óleos essenciais (SNA, 2017).

Dentre as espécies com grande potencial farmacológico e de importância para a indústria, que continua despertando interesse pela sociedade científica, estão as plantas do gênero *Lavandula*. Pertencentes à família Lamiaceae, o gênero compreende mais de 39 espécies e diferentes híbridos, originárias principalmente de regiões banhadas pelo Mar Mediterrâneo. O óleo essencial apresenta propriedades anti-inflamatórias, antispasmódicas, carminativas, diuréticas, sedativas, antibacterianas, antifúngicas, sendo utilizadas em todo mundo pela medicina popular e farmacológica (BIASI e DESCHAMPS, 2009, KASHANI et al., 2011; SIENKIEWICZ et al., 2011; MARINCAS e FEHER, 2018). A extração ocorre principalmente das inflorescências e folhas, e é utilizado pela indústria de fármacos, perfumes, cosméticos, pela Aromaterapia, na forma de chás, banhos e na culinária (BIASI e DESCHAMPS, 2009, CHERAGHBEIGIDO et al., 2019; DONELLI et al., 2019).

Algumas espécies são bem aclimatadas às condições edafoclimáticas do Brasil,

principalmente da região Sul, porém, devido à grande diversidade do gênero, muitas espécies ainda são pouco conhecidas e apresentam uma maior exigência climática, tendo dificuldades em se desenvolver sob as condições climáticas do Brasil. Além disso, os conhecimentos botânicos, agrônômicos, etno farmacológicos e químicos devem ser buscados a fim de confirmar a qualidade das plantas medicinais e seus derivados.

São vários os fatores que podem influenciar o florescimento das plantas, porém, pouco se sabe sobre os estímulos à floração, estando estes, na maioria das espécies, relacionados com a temperatura do ar e ao fotoperíodo (CARDOSO et al., 2012), como ocorre para as espécies de *Lavandula* spp. Assim, o manejo da temperatura do ar e tempo de exposição a esta, pelo uso da vernalização, podem ser uma alternativa para otimizar o crescimento e o desenvolvimento dessa cultura no Sul do Brasil, suprimindo as necessidades climáticas das plantas e obtendo matéria-prima de qualidade para extração do óleo essencial.

Outro fator a ser considerado é a aplicação de hormônios vegetais, que possibilitam várias modificações fisiológicas e morfológicas nas plantas, atuando no enraizamento, germinação de sementes, capacidade de crescimento apical, desenvolvimento vegetal, florescimento, frutificação, amadurecimento, senescência e abscisão foliar (VIEIRA et al., 2010). Em particular, as giberelinas (GA_3) promovem modificações fisiológicas importantes como a floração, expansão foliar, expressão sexual, alongamento, divisão celular e germinação de sementes (KENDE e ZEEVAART, 1997). Porém, um dos principais efeitos ocorre sobre o crescimento das plantas e sobre a indução floral em condições onde esta condição não é induzida, podendo substituir certas exigências climáticas das plantas (FLOSS, 2008).

Os óleos essenciais produzidos em diferentes condições de cultivo estão sujeitos a alterações em sua composição química, podendo afetar seu valor terapêutico. Além disso, ainda carecem de estudos sobre a segurança e utilização das plantas medicinais, uma vez que muitas plantas podem apresentar substâncias com potenciais efeitos tóxicos ao organismo.

Tais efeitos podem causar alterações cromossômicas sobre a divisão celular e o material genético dos organismos, e podem ser determinadas através do sistema *Allium cepa*. Avaliar o índice de divisão celular mitótica e obter informações sobre o potencial que as substâncias tem de inibir ou aumentar a proliferação celular e o número de alterações cromossômicas causadas pelo óleo essencial, podem fornecer informações importantes quanto ao uso desses produtos.

1.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a influência da aplicação de diferentes concentrações de GA₃ e períodos de vernalização, sobre o crescimento, florescimento, fitomassa, teor e rendimento do óleo essencial de duas espécies de lavanda (*Lavandula stoechas* L. e *Lavandula angustifolia* Mill.), bem como os efeitos do óleo essencial sobre a divisão celular e material genético de *Allium cepa* L.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o crescimento, florescimento, fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de *Lavandula* spp. cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃.

Avaliar o crescimento, florescimento, fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de *Lavandula* spp. quando expostas à diferentes períodos de vernalização em câmara fria.

Verificar a existência de potenciais efeitos genotóxicos e da proliferação celular dos óleos essenciais de *Lavandula* spp. cultivadas em diferentes concentrações de GA₃, pelo teste in vivo de *Allium cepa*.

Avaliar o efeito do óleo essencial de *Lavandupa* spp. sobre a divisão celular e o material genético de *Allium cepa*, expostas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA LAMIACEAE

A família Lamiaceae possui ampla distribuição mundial, sendo mais abundante na região do Mediterrâneo e leste da Ásia Central, com cerca de 300 gêneros, e aproximadamente 7.500 espécies. No Brasil, ocorrem cerca de 28 gêneros com aproximadamente 350 espécies, a maioria exóticas (LORENZI e SOUZA, 2008).

As espécies da família se caracterizam como plantas herbáceas ou arbustivas com folhas simples, sem estipula, com limbo inteiro, serrado, lobado, partido ou dentado e inflorescências formadas por flores pequenas ou grandes, que se agrupam geralmente na porção axilar da raque, formando na grande maioria, um verticilo em cada nó, com o conjunto de flores chamado de inflorescência racemosa (LORENZI e SOUZA, 2008).

A maioria das espécies da família Lamiaceae é conhecida pelo uso condimentar e pela atividade biológica (LORENZI e MATOS, 2008). O óleo essencial dos gêneros *Thymus* e *Origanum* tem a presença regular de timol e carvacrol, terpenoides, antioxidantes e antimicrobianos, associados a mais de um componente (FALEIRO et al., 2003), já no gênero *Lavandula*, os monoterpenos linalol, cânfora, borneol, 1,8 cineol, são importantes compostos destinados para a indústria farmacêutica, perfumaria e cosmética, sendo à cânfora e ao 1,8 cineol, atribuídas as atividades com poder antiespasmódico, antifúngico e bactericida (CHU e KEMPER, 2001).

Espécies como *Mentha pulegium* L., demonstraram atividade antiproliferativa e não genotóxica em diferentes concentrações pelo teste de *Allium cepa* (TEDESCO et al., 2012). *Salvia officinalis* e *Thimus vulgaris* demonstraram atividade antiproliferativa sobre linhagens celulares de melanona humano e de camundongos, atribuído tais efeitos, principalmente, à composição química do óleo essencial como a cânfora, tujonas e 1,8 cineol (GARCIA et al., 2016; ALEXA et al., 2018). São espécies com importante interesse comercial, pois sintetizam esses compostos pelo metabolismo secundário e dentre eles, destacam-se os óleos essenciais. Diversos gêneros são amplamente difundidos pela sua riqueza em compostos bioativos, como e *Lavandula*, *Melissa*, *Mentha*, *Ocimum*, *Origanum*, *Plectranthus*, *Rosmarinus*, *Salvia* e *Thymus* (JUDD et al., 2009).

2.1.1 *Lavandula* spp.

Lavandula spp. conhecidas popularmente como lavandas ou alfazemas, são espécies que pertencem à família Lamiaceae, originárias principalmente de países europeus, regiões banhadas pelo Mar Mediterrâneo e cultivadas em grande escala em países como a Bulgária, França, Espanha e Itália. Algumas espécies são originárias de regiões do Saara, na África (Ilhas Micronésias) e na Arábia, estendendo-se até a Índia (BIASI e DESCHAMPS, 2009; VERMA et al., 2010).

O gênero *Lavandula* é composto por 39 espécies identificadas, divididas em três subgêneros, *Lavandula*, *Fabrica* e *Sabaudia*, mais diversas variedades híbridas. O gênero *Lavandula* envolve ainda, seções de plantas com características distintas, originárias de diferentes regiões, sendo elas, *Lavandula* (região do Mediterrâneo), *Stoechas* (Mediterrâneo), *Dentata* (Mediterrâneo, Micronésia e sul da Arábia), *Chaeostachys* (Índia) e *Subnuda* (Arábia e África) (UPSON e ANDREWS, 2004), além de variedades híbridas denominadas *Lavandins*

(GUITTON, 2010), que possuem características morfológicas diversificadas, sendo a distinção e identificação das espécies, realizada pela morfologia das flores e folhas (UPSON, 2002).

As espécies de *Lavandula* spp. são subarbustos perenes, ramificados com haste lenhosa, folhas e inflorescências aromáticas (BOMBARDA et al., 2008). Devido à origem mediterrânea, em geral, de regiões com solos pobres e rochosos, são consideradas plantas de alta rusticidade e resistência a interpéries, como baixas temperaturas e secas, não sendo exigentes quanto à fertilidade e tratos culturais (DAIS, 2009). Necessitam, porém, de solos bem drenados e pH entre 5,8 a 8,3. As temperaturas no inverno variam de 2-4°C, e no verão chegam a 20°C, em condições climáticas das regiões europeias com produção de lavanda em escala comercial, como Provence, na França (McNAUGHTON, 2006). A lavanda é considerada uma planta de dia longo, ou seja, o florescimento ocorre na primavera – verão, quando a planta recebe aproximadamente 12 a 14 h de iluminação (RIBEIRO e DINIZ, 2008).

As flores de lavanda são hermafroditas, bilabiadas e zigomórficas pequenas, reunidas em inflorescências espiciformes terminais oriundas de ramos cimosos, geralmente axilares (UPSON, 2002). As espécies se diferenciam em altura, podendo ir de 20 a 100 cm (PRUSINOWSKA e ŚMIGIELSKI, 2014), na morfologia das folhas e inflorescências e na composição do óleo essencial encontrado nas folhas e inflorescências (LIS-BASCHIN, 2002).

As lavandas são utilizadas como plantas ornamentais, pela indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e de aromas (TSURO et al., 2000). Na Aromaterapia a forma utópica ou por inalação é reconhecida para o tratamento de insônia, ansiedade, dores reumáticas, queimaduras ou ainda na medicina popular, a partir de infusões das flores e folhas, na forma de chás, banhos e na culinária (BIASI e DESCHAMPS, 2009; CHERAGHBEIGIDO et al., 2019; DONELLI et al., 2019). Apresentam propriedades anti-inflamatória, antispasmódica, carminativas, diuréticas, sedativas, antibacteriana e antifúngicas, explicando sua utilização em todo mundo pela medicina popular, farmacológica e cosmética (ITF, 2008; LORENZI e MATOS, 2008; BIASI e DESCHAMPS, 2009; MARINCAS e FEHER, 2018).

Plantas de *Lavandula* spp. apresentam óleos essenciais constituídos por terpenos, acetatos, álcoois, ésteres, aldeídos, entre outros componentes em menores quantidades. Na grande maioria, apresentam de 20 – 100 constituintes químicos no óleo essencial, em diferentes concentrações e variedades. Para a maioria das espécies, os compostos químicos encontrados com maior frequência nos óleos essenciais, são, principalmente, os terpenos ou seus derivados, como os monoterpenos linalol, acetato de linanol, borneol, cânfora e 1,8 cinelol (UPSON e ANDREWS, 2004). Tais compostos químicos podem sofrer variações em detrimento das condições ambientais, origens geográficas, partes da plantas extraídas e métodos de extração

(PORTO et al., 2009).

Os óleos essenciais apreciados pela indústria de perfumes e cosméticos são aqueles com alto teor de acetato de linalina e linalol e baixo teor de cânfora, enquanto, os mais ricos em cânfora são muito utilizados pela Aromaterapia e Fitoterapia (PISTELLI et al., 2017; MARINCAS e FEHER, 2018).

No Brasil, o cultivo da lavanda ocorre principalmente com a espécie *Lavandula dentata* L., espécie que se adaptou bem as condições climáticas do país. Porém, o mercado de óleos essenciais da lavanda consiste um mercado amplo, diversificado e exigente, que remunera conforme a qualidade e tipo de óleo essencial da espécie, sendo a maior demanda por óleo essencial da lavanda no Brasil, importada da Europa. Além disso, é um mercado que ainda tem muito a ser explorado quanto à diversidade de espécies, para além da produção e comercialização do óleo essencial, mas também como atrativo turístico, uso paisagístico, comercialização de flores e produtos alimentícios derivados.

2.1.2 *Lavandula angustifolia* Mill.

L. angustifolia é nativa da região mediterrânea e cultivada em toda a Europa (BIASI e DESCHAMPS, 2009). Os países com maior produção são a Bulgária, França e China, com destaque também para a Grécia, Turquia, Espanha, e Itália (VERMA et al., 2010; GIRAY, 2018; GIANNOULIS et al., 2020). A espécie é conhecida como lavanda verdadeira, alfazema, lavanda inglesa ou lavanda comum. Seu porte pode atingir 60 a 70 cm de altura, possuem folhas lineares com margens inteiras de cor acinzentas e folhas jovens de coloração cinza menos acentuada. As inflorescências possuem pedúnculos de tamanhos variados, únicos ou ramificados, com ramos laterais menores. As flores apresentam cálice de 4-5 mm de comprimento e a corola possui de 10-12 mm de comprimento, variando a colocação do azul ao violeta (McNAUGHTON, 2006; LORENZI e MATOS, 2008; PLATT, 2008).

A espécie apresenta cerca de 0,5-1,5% de óleo essencial, entre taninos, cumarinas, ácidos flavonoides, ursólico, sendo os principais componentes presentes no óleo essencial o acetato de linalol (30-60%), geraniol linalol e seus ésteres, lavandulol, nerol, cineol, cariofileno, cumarina, limoneno, betaocimene, furfural, amil-etil-cetona, tujona e pinocanfona (DUKE, 2000). É a espécie mais difundida em termos de usos terapêuticos e para perfumaria, estando diretamente relacionado aos compostos majoritários linalol e acetado de linalina presentes no óleo essencial (KIVRAK, 2018).

Figura 1- *Lavandula angustifolia* Mill. Cultivada em ambiente protegido no Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Santa Maria



Fonte: próprio autor.

2.1.3 *Lavandula stoechas* L.

L. stoechas é nativa de uma ampla região do mediterrâneo e ocorre espontaneamente em muitas regiões, como em manchas degradadas e pastagens arbustivas. As plantas apresentam altura de 20 a 100 cm, espiga de formato cilíndrico, folhas inteiras e acinzentadas-tomentosas, com margens revolutas. Apresenta brácteas férteis reticuladas, com nervuras proeminentes e brácteas estéreis e distais, que podem apresentar coloração púrpura, lilás ou branca. Apresentam cálice de 3 a 5 mm e corola púrpura-anegrada medindo 6 a 8 mm (FRANCO, 1984).

A espécie é usada pela indústria de perfumaria e cosméticos (LAWLESS, 2003; ATZEI, 2003), mas principalmente como planta ornamental (MIRAJ, 2016). Nas regiões banhadas pelo Mar Mediterrâneo, é muito usada pela medicina popular para o tratamento de dores abdominais, de estômago, dores de cabeça, tosse, resfriados, diabete, doenças renais e feridas (POLAT e SATIL, 2012; EZ ZOUBI et al., 2020). A espécie apresenta propriedades carminativas, antiespasmódicas, expectorantes, anticovulsivas, sedativas, diuréticas, analgésicas, inseticidas, antissépticas e antimicrobianas (TUTTOLOMONDO et al., 2015). De maneira geral, os componentes químicos majoritários do óleo essencial são a fenchona, cânfora, eucaliptol, 1,8 – cineol, alfa – pineno, limoneno e mentol (CARRASCO et al., 2015; LA BELLA et al., 2015).

Figura 2 – *Lavandula stoechas* L. Cultivada em ambiente protegido no Departamento de Fitotecnia, na Universidade Federal de Santa Maria



Fonte: próprio autor.

2.2 FATORES QUE INTERFEREM NO CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL

As plantas medicinais e aromáticas, realizam um conjunto de processos metabólicos restritos a essas espécies, advindos do metabolismo secundário. Este, diferente do metabolismo primário, comum a todas as espécies vegetais e essencial ao crescimento e desenvolvimento das plantas, não tem função direta com os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, influenciado principalmente pelo ambiente (TAIZ et al., 2017). Dentre as substâncias produzidas pelo metabolismo secundário, estão os óleos essenciais, misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, em geral, odoríferas e líquidas, que podem apresentar atividade biológica (SIMÕES et al., 2017).

Os óleos essenciais são produzidos em diferentes concentrações e atuam principalmente na defesa contra herbívoros, vírus, bacterias, fungos, entre outros, além de serem agentes atrativos aos polinizadores (TAIZ et al., 2017). Eles estão presentes em estruturas específicas distribuídas pelas partes das plantas, locais onde ficam armazenadas e excretadas. Na família Lamiaceae, o armazenamento ocorre principalmente em tricomas, localizados na superfície do cálice e entre a cutícula e a membrana celular, e em menor extensão em folhas e caules (WISE et al., 1999; HEINZMANN et al., 2017).

Para a planta produzir óleo essencial em quantidade e qualidade significativas, ela necessita de condições adequadas de alguns fatores externos determinantes para o seu

desenvolvimento. Dentre estes fatores, pode-se destacar as condições de solo, clima, altitude, época de colheita, tratos culturais e órgão da planta colhido (McNAUGHTON, 2006; PISTELLI et al., 2017), sendo os fatores temperatura do ar e fotoperíodo, aqueles que mais exercem influência sobre o desenvolvimento, rendimento de biomassa e o óleo essencial de plantas medicinais e aromáticas (CORRÊA et al., 2003).

Algumas espécies têm a produção de óleo essencial concentrada durante a floração. Normalmente, o teor de óleo essencial é maior quando as plantas são expostas a temperaturas elevadas, entretanto, dias muito quentes, podem ocasionar perdas significativas dos óleos essenciais pela transpiração, ou rotas metabólicas, uma vez que estes são altamente voláteis (SIMÕES e SPITZER, 2004; MORAIS, 2009).

A *L. angustifolia* apresenta maior potencial de desenvolvimento em altitudes superiores a 500 m acima do nível do mar, enquanto que, plantas de *L. stoechas* crescem em regiões que vão de 200 a 700 m acima do nível do mar (REID, 2000; BIASI e DESCHAMPS, 2009). O comportamento das plantas ocorre de forma semelhante em locais com latitudes e altitudes semelhantes, sendo que a altitude está diretamente relacionada com a qualidade e quantidade de inflorescências das plantas de lavanda, e conseqüentemente de óleo essencial (McNAUGHTON, 2006). Para estudos realizados na França, quanto maior a altitude, maior o número de inflorescências, porém, as plantas apresentam um crescimento reduzido, menor quantidade de óleo essencial e maior qualidade comercial (VEAUVY, 1933).

A latitude e a temperatura do ar demonstram ter influência positiva na produção de plantas medicinais. Porém, quando as características ambientais de uma espécie são diferentes do local de origem, podem ocorrer mudanças nos padrões fisiológicos de desenvolvimento e adaptação da planta. Algumas espécies possuem um mecanismo de sobrevivência natural, chamado de vernalização. A exposição prolongada a baixas temperaturas podem induzir ou acelerar o florescimento, não imediatamente, mas posteriormente ao tratamento com frio (CHOUARD, 1960; TAIZ et al., 2017). O processo de exposição ao frio, resulta em uma memória permanente nas plantas, de uma exposição anterior ao frio, e esta memória ocorre nas células do broto, no meristema apical ou células do SAM (shoot apical meristema), que percebem o frio (AMASINO, 2010).

As exigências ao frio podem ocorrer de forma obrigatória ou facultativa, e cada espécie responde de maneiras diferentes, principalmente quanto a duração do tempo às baixas temperaturas (ALBERTO et al., 2009). Espécies com vernalização obrigatória, não florescem sem serem expostas ao frio, já espécies facultativas ao frio, aceleram a floração (MICHAELS e AMASINO, 2000). Para algumas espécies, além da vernalização, é preciso um período de

fotoperíodo com comprimento dos dias mais longos para o florescimento ocorrer (WOODS e AMASINO, 2015).

Além de detectar a exposição ao frio, as plantas precisam mensurar o período de exposição a condição de baixas temperaturas (AMASINO, 2010; TAIZ et al., 2017), sendo que, a duração da exposição pode variar de 4 à 110 dias, enquanto a temperatura mínima de vernalização pode variar de -4°C à -8°C , a máxima de 15°C à 20°C e a temperatura ótima gira em torno de 0°C (WELLENSIEK, 1965). As plantas vernalizadas podem sofrer a desvernalização, ou seja, a vernalização pode ser perdida dependendo das condições térmicas após a baixa exposição ao frio. Temperaturas acima de 20°C já podem anular o tratamento com frio dependendo da espécie vegetal. Porém, quanto maior a exposição a baixas temperaturas, mais permanente será o efeito da vernalização sobre as plantas (TAIZ et al., 2017; BERGAMACHI e BERGONCI, 2017).

O período entre a conclusão do tratamento de frio e a floração pode ser dividido em duas fases. A primeira é quando ocorre imediatamente após a vernalização, e a indução floral é revertida pela exposição de temperaturas elevadas e/ou, baixa irradiância. A fase dois é o período após a primeira fase quando a indução floral é estável e não pode ser revertida. Os fatores mais comuns para a desvernalização são a ocorrência de altas temperaturas ($25-30^{\circ}\text{C}$). Porém, a desvernalização por condições de dias curtos ou baixa irradiância durante ou após a vernalização, também pode ocorrer para algumas espécies. O processo de desvernalização mais efetivo é quando ocorre logo após ao tratamento com frio em uma planta não vernalizada por completo, ou quando a intensidade da luz é baixa, e/ou quando são expostas a condições de dias curtos (THOMAS e VINCE-PRUE, 1997; ERWIN, 2007).

A vernalização inicia no meristema apical do caule. Durante o crescimento vegetativo, as folhas formadas ao redor da ponta do meristema passam a ganhar meristemas laterais, assim uma série de influências ambientais e mudanças são induzidas pelos sinais endógenos, resultando na aquisição da competência do meristema para se submeter à transição floral e marcar a mudança de fase. Porém, a aquisição de competência não garante que o florescimento ocorrerá, pois a vernalização para algumas espécies vegetais está atrelada a uma exigência de fotoperíodo específico, sendo a combinação mais comum a necessidade básica de vernalização, seguida por exposição a dias longos (TAIZ et al., 2017). Folhas jovens em expansão em algumas espécies, também podem ser vernalizadas, uma vez que os tecidos também estão em divisão celular ativa, bem como, células isoladas em cultura de tecidos derivados de diferentes locais da planta mãe são capazes de perceber a vernalização (METZGER et al., 1992).

Portanto, as plantas precisam estar em crescimento para a vernalização ocorrer. Ou seja,

necessitam do metabolismo ativo, pois fontes de energia como açúcares e oxigênio são necessárias e temperaturas abaixo do congelamento que supram a atividade metabólica não são eficientes para a vernalização. A divisão celular e a replicação do DNA também são necessárias para esse processo. Podem ocorrer mudanças no padrão da expressão gênica no meristema após a exposição ao frio. Essas mudanças estáveis na expressão gênica não envolvem alterações na sequência de DNA das plantas, portanto, não podem ser passadas para as células descendentes por mitose ou meiose, essas alterações são tidas como epigênicas. Para tanto as mudanças epigênicas sobre a expressão gênica, exigem a divisão celular e a duplicação de DNA ao longo do processo de vernalização (TAIZ et al., 2017).

Para *L. angustifolia* var. “Hidicote”, a exposição a um período com temperatura do ar de 4°C, seguido de elevação para 25°C e um fotoperíodo de 15 horas levou ao aumento do número de botões florais (MONAGHAN et al., 2004). Whitman et al. (1996) obtiveram para a *L. angustifolia* var. “Mustead” uma aceleração do florescimento a uma condição de temperatura de 5°C por um período mínimo de dez semanas, sendo a temperatura ótima para o crescimento das plantas entre 20 e 23°C, enquanto o fotoperíodo teve apenas um efeito sobre a expressão floral, principalmente sob condições de frio. Outros autores também obtiveram resultados satisfatórios sobre o florescimento, quando testadas temperatura de 4 e 5°C \pm 1°C, por 8, 10 e 12 semanas, para a espécie *L. angustifolia* e híbridos como *L. x intermedia* (MONAGHAN et al., 2004; KUBOTA et al., 2010; KOSHIOSKA et al., 2016).

As lavandas florescem no final da primavera, início do verão (MIRAJ, 2016) e são consideradas plantas de dias longos, ou seja, o florescimento é antecipado ou intensificado com o número de horas de luz de 12-14 horas/dia (RIBEIRO e DINIZ, 2008). Como as lavandas são espécies exóticas, originárias do Mediterrâneo, algumas espécies podem apresentar dificuldades para florescer, aliado ao fato de que o Brasil possui grande diversidade de clima e solos, dependendo da região, influenciando no desenvolvimento, adaptação e no metabolismo secundário das plantas aromáticas e medicinais (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

A falta de informações sobre o comportamento de espécies de lavanda ao tratamento com frio e ao tempo de vernalização, seguido do cultivo subsequente sob condições climáticas do Sul do Brasil, causam uma lacuna no conhecimento. Portanto, compreender melhor as resposta de espécies de lavanda a tais condições, pode possibilitar novos estudos e alternativas para introdução de novas espécies ainda pouco conhecidas, e contribuir com o mercado brasileiro de lavanda e óleos essenciais.

Outro fator de relevância que afeta o metabolismo primário e secundário das plantas são os fitormônios. Eles atuam diretamente sobre os processos fisiológicos e vias bioquímicas,

como biossínteses de terpenoides, fotossíntese, vias oxidativas de carbono, fornecimento de energia e síntese dos compostos, atuando sobre o metabolismo, crescimento, desenvolvimento, biossíntese e composição química dos óleos essenciais (SANGWAN et al., 2001; SHARAFZADEH e ZARE, 2011).

As giberelinas (GAs) participam e regulam vários processos ao longo do ciclo de vida das plantas, desde a germinação das sementes, até a expansão celular, alongamento do caule, indução floral e desenvolvimento de frutos e sementes. Promovem a divisão celular e o alongamento do caule principalmente em plantas jovens, nas gemas ativas e entrenós da parte aérea (KASHIWAQUI et al., 2019). Estes sítios parecem ser também, os locais de síntese da GAs. As etapas iniciais da biossíntese de GAs podem ocorrer em um tecido e a conversão para a forma ativa, em outro, sendo posteriormente distribuída por toda a planta (LAVAGNINI et al., 2014; TAIZ et al., 2017).

Todas as giberelinas são ácidos tetracíclicos diterpenoides que são sintetizados pela via terpenoide nos plastídeos e depois modificado no retículo endoplasmático e no citosol, para então, se tornarem biologicamente ativas (CUMMINGS, 2002). As giberelinas são nomeadas de GA1 a GAn em ordem de descoberta, sendo o ácido giberélico, a primeira giberelina a ter sua estrutura caracterizada (GA₃). A maioria das GAs bioativas nas plantas estão localizadas em órgãos ativos, como órgãos em crescimento (regiões meristemáticas, folhas jovens, raízes, sementes em germinação, anteras e frutos) (KANEKO et al., 2003). Contudo, as plantas produzem baixas quantidades de GA₃, portanto, este hormônio é produzido de maneira industrial a partir de micro-organismos e disponibilizado para comercialização (LOPES et al., 2013).

A participação das GAs sobre a divisão celular em algumas espécies vegetais, está relacionada com a síntese de proteínas, que por sua vez estão associadas a formação de várias enzimas ligadas a regulação do potencial osmótico das células, inferindo sobre a dimensão celular (CHRISPEELS e VARNER, 1967), ou a partir de enzimas que quebram ligações glicosídicas, como a enzima xiloglucano end o-trans-glicosilase, que atua sobre a expansão celular e no rompimento de ligações de hidrogênio entre os polissacarídeos, resultando no aumento da elasticidade e obstrução da pressão interna, permitindo a entrada de água e o alongamento celular (TAIZ et al., 2017).

Plantas da família das Lamiaceae como *Ocimum basilicum* L, além do incremento em altura, Shedeed et al. (1990), Mahmoud (1996), Souza e Borges, (2014) e Sena et al. (2019), encontraram maior incremento de raízes e massa seca da parte aérea, enquanto em plantas de *Salvia officinalis*, a aplicação exógena de GA₃ resultou no aumento da taxa de assimilação

líquida, alongamento caulinar, folhas menores e espalhadas (POVH e ONO, 2008) e maior comprimento das hastes florais em *Lavandula intermedia* (KOSHIOKA et al., 2016). Também foram encontrados aumentos no rendimento de óleo essencial de *Salvia officinalis* L. (POVH e ONO, 2006), *Salvia rosmarinus* Spenn., sinónímia *Rosmarinus officinalis* L. (EL-KHATEEB, 1989) e *Lavandula angustifolia* ‘Chaix’ (HASSANPOURAGHDAM et al., 2011).

A aplicação de GA pode substituir de forma parcial ou total as necessidades de frio e dias longos que algumas espécies necessitam para florescer (BERNIER, 1988). Na ausência do tratamento por frio, o ácido ent-caurenótico acumula em abundância nos ápices caulinares, local onde ocorre a percepção aos estímulos do frio, após o retorno de altas temperaturas, o ácido ent-caurenótico é convertido em GA₉, a giberelina mais ativa aos estímulos de respostas ao florescimento (TAIZ et al., 2017). Koshioka et al. (2016), observaram que plantas de *Lavandula intermedia*, sob aplicação de GA₃, variaram as respostas de floração em função dos períodos de frio aos quais as plantas ficaram expostas, indicando a influência da vernalização para a ocorrência do florescimento e sua potencialização pela aplicação de GA₃.

Os reguladores de crescimento, inclusive as GAs atuam sobre o crescimento e biossíntese de terpenoides de diferentes plantas aromáticas, sendo possível obter efeitos significativos sobre as propriedades e conteúdo dos terpenoides em produção (SHUKLA et al., 1992). Para tanto, as GAs podem contribuir sobre a produção de flores e qualidade do óleo essencial, além de acelerar o crescimento das plantas, incrementar sobre o comprimento das hastes florais, altura, produção de folhas, proporcionando volume e profundidade para o uso em maciços e bordaduras. Ademais, tais respostas podem contribuir sobre a expansão e valorização dos agricultores no mercado de óleos essenciais da lavanda no Brasil, contribuir também, sob o aspecto turístico, atrativo das espécies de lavanda, fomentando o turismo e o comércio local.

2.3 GENOTOXICIDADE

As plantas medicinais, aromáticas e condimentares são amplamente utilizadas pela indústria de medicamentos, cosméticos e alimentos, e a milhares de anos de forma empírica pela população para o tratamento de inúmeras enfermidades. Porém, sua utilização segura depende da realização de testes de toxicidade, uma vez que essas plantas possuem princípios ativos que frequentemente apresentam potencial tóxico, como alcaloides, compostos fenólicos (taninos), saponinas e terpenos (óleos essenciais, esteroides) (FERNANDES, 2016). Tais princípios ativos, por outro lado, também apresentam benefícios no tratamento de diversas

enfermidades, sendo, portanto, a toxicidade de uma substância, determinada pela sua dose, forma de aplicação (MORAIS e MARINHO-PRADO, 2016) e estando diretamente relacionada a fatores bióticos e abióticos que interferem na quantidade e qualidade do óleo essencial produzido por elas (GOBBO –NETO e LOPES, 2007).

Um teste que vem sendo utilizado para estudar a ação dos compostos metabólicos das plantas sobre o material genético e sobre a divisão celular é o teste com *Allium cepa* (TEDESCO e LAUGHINGHOUSE, 2012; PASQUALLI et al., 2015). O teste é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química e o pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (CABRERA e RODRIGUEZ, 1999). A partir dos resultados é possível realizar a avaliação do índice mitótico das células, sendo um indicador da proliferação adequada das células e também das alterações cromossômicas que são indicadoras de genotoxicidade (TEDESCO e LAUGHINGHOUSE, 2012; FRESCURA, 2014). As células testadas consistem em meristemas apicais da raiz da cebola, a qual são expostas por 24 horas em contato com as substâncias a serem testadas. Os resultados obtidos no teste são eficientes, uma vez que são semelhantes aos obtidos em testes realizados em animais *in vitro* (PINHO et al., 2010).

A toxicidade genética pode ser indicada inicialmente por uma inibição do crescimento das raízes da cebola devido a inibição da divisão celular (citotoxicidade) e também, pela presença de alterações cromossômicas (genotoxicidade) (FISKESJO, 1995). As alterações no ciclo celular de organismos teste, tanto pela ocorrência de inibição ou incremento da divisão celular, como pela ocorrência de mutações cromossômicas, é um indicativo de citogenotoxicidade das substâncias avaliadas (SOUZA et al., 2005). Um aumento no índice mitótico de células meristemáticas de *A. cepa*, pode levar a uma multiplicação desordenada de células e a mais mutações, resultando na formação de tumores nos seres vivos (LEME e MARIN-MORALES, 2009).

Um resultado antiproliferativo de uma substância pode remeter informações sobre a inibição ou não à proliferação de células cancerígenas, ou então, sobre um efeito mutagênico, inferindo sobre a capacidade de uma substância em inibir a ação de mutagênicos (FRESCURA, 2012). Quando uma molécula de óleo essencial é administrada de forma cutânea nos seres vivos, ela penetra na pele ou na mucosa onde é absorvida (GNATTA et al., 2016). Porém, algumas substâncias presentes nos óleos essenciais de algumas plantas, podem apresentar tais efeitos inibitórios ou estimulantes sobre o ciclo celular (SANTOS e PINHEIRO, 2014). Veiga Junior et al. (2005), evidenciaram que as substâncias fenchona, cânfora, tujona e pinocânfora encontrados em lavanda, sálvia e manjeriço, são consideradas neurotóxicos quando em altas concentrações, podendo provocar convulsões e até mesmo distúrbios psíquicos.

Testes de *A. cepa* para verificação de efeitos citotóxicos e genotóxicos do óleo essencial de várias espécies tem sido utilizados por vários pesquisadores, como em *Lavandula stoechas* (ÇELIK e ASLANTÜRK, 2007), *Salvia rosmarinus* Spenn., sinonímia *Rosmarinus officinalis* L. (FRESCURA, 2014), *Ocimum basillicum* L. “Basilicão” (KUHN, 2018), *Chamomilla recutita* (L) Rauschert (UBESSI et al., 2019) e também de extratos vegetais, em *Allophylus edulis* (A.St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk DC (PASQUALLI et al., 2015), *Echinodorus grandiflorus* e *Sagittaria montevidensis* (COELHO et al., 2017), *Psidium cattleianum* Sabine (HISTER et al., 2019), *Plectranthus barbatus* Andrews (TRAPP et al., 2020). Estudos utilizando *A. cepa* como organismo teste podem, fornecer informações relevantes para garantir a segurança no uso de plantas medicinais, aromáticas e condimentares para a população em suas formas de uso.

3 ARTIGO 1

ÁCIDO GIBERÉLICO NO CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP.

Resumo

Lavandula é um gênero economicamente importante, que compreende uma gama de espécies com grande potencial de uso pela indústria de medicamentos, perfumes e alimentícia. No entanto, sob as condições climáticas subtropicais, o desenvolvimento e a produtividade de inflorescências de algumas espécies de *Lavandula* spp. podem ser afetados. Visando melhorar qualitativa e quantitativamente a produtividade e viabilizar o cultivo de novas espécies de *Lavandula* spp., o manejo de práticas como a aplicação de hormônios pode ser uma alternativa interessante. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da aplicação exógena de ácido giberélico (GA₃), nas concentrações de 100, 200, 400, 600 mg L⁻¹ e 0 mg L⁻¹, como controle em água, sobre o crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial de duas espécies de *Lavandula* spp. (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). O trabalho foi realizado no Departamento de Fitotecnia da UFSM, em cultivo a campo, de agosto de 2019 a abril de 2020. A altura, diâmetro de plantas, dias para o florescimento, florescimento, tamanho e número de inflorescências, variaram conforme as interações entre as concentrações de GA₃ e as espécies de *Lavandula* spp. e das influências que as condições climáticas exercem sobre estas. A *L. stoechas* foi a que apresentou maior adaptabilidade às condições climáticas da região central do Rio Grande do Sul, e as aplicações de GA₃ promoveram um aumento do crescimento vegetativo, florescimento e produtividade de óleo essencial. Para *L. angustifolia*, a aplicação de GA₃ na primavera não induziu ao florescimento, enquanto a aplicação de GA₃, associada ao aumento da temperatura do ar e o do fotoperíodo, anteciparam e intensificaram o florescimento, porém, não de maneira satisfatória para obter biomassa para extração do óleo essencial das inflorescências. As concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹, foram as que apresentaram maior produção de fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências, com tendência de decréscimos do teor de óleo essencial das inflorescências de *L. stoechas* na concentração de 600 mg L⁻¹. A fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências foram maiores para a *L. stoechas*, exceto para a fitomassa de folhas. Já a *L. angustifolia* apresentou os menores valores em fitomassa de inflorescências, teor e rendimento de óleo essencial das folhas.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Plantas ornamentais. *Lavandula stoechas*. *Lavandula angustifolia*.

Abstract

Lavandula is an economically important genus, comprising a range of species with great potential for use in the medicines, perfumes and food industries. However, under subtropical climatic conditions, the development and productivity of inflorescences of some species of *Lavandula* spp. may be affected. Aiming at qualitatively and quantitatively improving productivity and enabling the cultivation of new species of *Lavandula* spp., the management of practices such as the application of hormones can be an interesting alternative. Therefore, the objective of this study was to investigate the effects of the exogenous application of gibberellic acid (GA₃), in the concentrations of 100, 200, 400, 600 mg L⁻¹ and 0 mg L⁻¹, as a control in water, on the growth, flowering and productivity of essential oil of two species of *Lavandula* spp. (*L. stoechas* and *L. angustifolia*). The work was carried out in the Phytotechnia Department of UFSM, in the field, from August 2019 to April 2020. The height, diameter of plants, days for flowering, flowering, size and number of inflorescences, varied according to the interactions between GA₃ concentrations and *Lavandula* spp. and the influences that climate conditions exert on these. *L. stoechas* was the one that showed greater adaptability to the climatic conditions of the central region of Rio Grande do Sul, and the applications of GA₃ promote an increase in vegetative growth, flourishing and essential oil production. For *L. angustifolia*, the application of GA₃ in spring did not induce flowering, while the application of GA₃, associated with the increase of air temperature and photoperiod, anticipated and intensified the flowering, but did not satisfactorily obtain biomass for extraction of essential oil from inflorescences. Concentrations of 400 and 600 mg L⁻¹ were those with the highest phytomass production, essential oil content and yield of leaves and inflorescences, with a tendency of decreases in the essential oil content of the inflorescences of *L. stoechas* at the concentration of 600 mg L⁻¹. The phytomass, content and yield of essential oil of leaves and inflorescences were greater for *L. stoechas*, except for the phytomass of leaves. Already *L. angustifolia* presented the lowest values in phytomass of inflorescences, content and yield of essential oil of the leaves.

Keywords: Medicinal plants. Ornamental plants. *Lavandula stoechas*. *Lavandula angustifolia*.

Introdução

As espécies do gênero *Lavandula* estão entre as plantas medicinais mais populares no mundo (BIASI e DESCHAMPS, 2009). No decorrer dos últimos anos, houve um grande interesse de exploração econômica do gênero, em função dos renomados compostos naturais presentes no óleo essencial (ZUZARTE et al., 2010).

Este gênero de plantas, com potencial medicinal e aromático, é composto por 39 espécies e vários híbridos de plantas de ciclo perene, os quais têm a produção de flores e óleo essencial para diversas finalidades, sendo elas, principalmente, para indústria farmacêutica, perfumaria, alimentos e ornamentação. Entre elas, a *Lavandula angustifolia* Mill., *L. intermedia*, *L. latifolia* e a *L. stoechas* L., são as mais utilizadas (URWIN e MAILER, 2008). Contudo, no Brasil, o mercado de produção, comercialização e uso paisagístico da lavanda ainda é pouco explorado, em grande parte, porque as espécies são pouco conhecidas e cultivadas (RIVA, 2012).

As espécies de lavanda são originárias principalmente da Europa, de regiões montanhosas do Mediterrâneo (LORENZI e SOUZA, 2008), sendo assim, algumas espécies de lavanda possuem maiores exigências climáticas e necessitam de exposição ao frio para florescer (KOSHIOKA et al., 2016). São vários os fatores que podem influenciar o florescimento das plantas, porém, pouco se sabe sobre os estímulos à floração, sendo estes na maioria das espécies relacionados com a temperatura do ar e ao fotoperíodo (CARDOSO et al., 2012). Para as espécies de lavanda, informações específicas sobre as condições climáticas favoráveis ao crescimento e desenvolvimento, principalmente de temperatura do ar, são pouco conhecidas.

O uso de reguladores vegetais têm sido muito utilizados em plantas ornamentais e medicinais com o intuito de agregar ao crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas, como também, promover alterações quantitativas e qualitativas do óleo essencial (SHUKLA e FAROOQI, 1990). Para várias plantas de dias longos que necessitam de períodos de vernalização para florescer, o uso do ácido giberélico atua como um regulador de crescimento, interferindo sobre a qualidade e quantidade de flores (METZGER, 1995; MUTASAGÖTTGENS e HEDDEN, 2009).

A indução floral e qualidade de floração, podem, portanto, ser estimuladas de forma artificial, contudo, as respostas variam conforme as espécies de plantas e as interações com os fatores ambientais. Assim sendo, a aplicação de giberelina pode ser uma prática viável de aplicação, uma vez que, ela pode contribuir no processo de crescimento e desenvolvimento de espécies de lavanda. Além disso, o conhecimento de respostas de crescimento e

desenvolvimento sob o uso de giberelina, em condições climáticas distintas da origem, e em espécies ainda pouco conhecidas, podem servir para introdução de novas espécies com potencial paisagístico, viabilizar cultivos comerciais e introduzir o Brasil mais expressivamente no mercado de óleos essenciais.

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, florescimento, teor e rendimento de óleo essencial de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, sob a aplicação exógena de diferentes concentrações de GA₃.

Material e Métodos

Caracterização do local do experimento

O experimento foi conduzido no campo experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS (latitude: 29° 43' S, longitude: 53° 43' W e altitude: 95 m). Segundo a classificação de Köppen e considerando a série centenária de dados meteorológicos, o clima da região que inclui Santa Maria é do tipo Cfa, descrito como, subtropical úmido, com verões quentes e sem estação seca definida. O solo do local é Argissolo Vermelho Distrófico arênico, pertencente a unidade de mapeamento São Pedro (STRECK et al., 2008).

Tratamentos, instalação e condução do experimento

A produção das mudas de *L. angustifolia* foi conduzida em casa de vegetação no Setor de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria – RS. O material vegetal utilizado foi obtido de matrizes procedentes do próprio setor. As mudas de *L. stoechas* foram provenientes do setor de produção de mudas do Le Jardin, parque de Lavanda – região metropolitana de Gramado –RS. Ambas as espécies foram propagadas via estaquia a partir do uso de ramos com 5 a 10 cm de comprimento e 2 a 3 pares de folhas na região apical, submetidas a irrigação por aspersores a cada 15 minutos até atingir enraizamento satisfatório. As mudas foram enraizadas em bandejas de isopor contendo 200 células com substrato comercial MaxFertil®.

A preparação do solo foi realizada de forma convencional, com aração e gradagem, uniformizando a área. Posteriormente, foram confeccionados canteiros elevados, com cerca de 0,20 m de altura e 1,0 m de largura e 18,0 m de comprimento, revestidos por plástico *mulching*

de cor preta, a fim de facilitar o manejo, o escoamento da água e evitar o excesso hídrico.

O experimento foi organizado no delineamento de blocos ao acaso, em esquema bifatorial com parcelas subdivididas, sendo testados os fatores espécies de lavanda (*L. stoechas* e *L. angustifolia*) e quatro concentrações de ácido giberélico, (100 mg L^{-1} , 200 mg L^{-1} , 400 mg L^{-1} , 600 mg L^{-1} , mais 0 mg L^{-1} , como controle com a aplicação de água), com quatro repetições. O plantio das mudas ocorreu em 08 de agosto de 2019, quando as mudas já estavam com mais de 60 dias e medindo mais de 8 cm de altura. A adubação foi realizada com base na análise de solo e nas necessidades da cultura da lavanda, segundo Mcnaughton (2006).

Cada unidade experimental contou com três fileiras de 4 plantas espaçadas a 0,60 m entre plantas na linha e 0,50 m entre linhas e avaliadas as duas plantas da fileira central. Sempre que necessário, foi realizada irrigação suplementar por gotejo para evitar a exposição das plantas ao déficit hídrico.

As concentrações de GA_3 foram preparadas com o produto comercial Pro-gibb®- 10% GA_3 , diluído em álcool e posteriormente acrescentado água. Trinta dias após o transplante das mudas, quando estas apresentavam-se na fase vegetativa, efetuou-se a primeira aplicação de GA_3 , com auxílio de um pulverizador manual de 3 litros, pulverizando-se as plantas por inteiro, até atingir o ponto de escorrimento. Uma nova aplicação de GA_3 foi realizada 90 dias após a primeira aplicação, momento que antecedeu o verão e quando foi realizada a última colheita de inflorescências.

Variáveis analisadas

Para avaliação do efeito do GA_3 no florescimento de *Lavandula* spp., foram avaliados os dias para início do florescimento (DPF), com apontamento do aparecimento do primeiro botão floral, o número de inflorescências de até 3 cm e maiores que 3cm e a porcentagem de plantas com inflorescências (PPI, %). Foram realizadas medidas de altura das plantas (H, cm), diâmetro das plantas (DP, cm) aos 90 dias após a aplicação de GA_3 , momento que antecedeu a segunda aplicação de GA_3 . A altura das plantas foi medida em centímetros, com o auxílio de uma régua graduada da base da planta ao topo da última inflorescência. O diâmetro da planta foi medido em centímetros, considerando-se as extremidades das duas folhas opostas.

As colheitas das inflorescências foram realizadas no momento que mais de 50% das inflorescências da haste estavam em proporções iguais de pré-antese e antese (BEUS, 2005). Após a colheita das inflorescências e ao término da abertura de novos botões florais, foi

realizada uma nova aplicação de GA₃, passando-se a contabilizar, novamente, os dias para o florescimento (DPF), número de inflorescências de até 3 cm e maiores que 3 cm, bem como calculada a porcentagem de plantas com inflorescências (PPI, %), altura das plantas (H, cm), diâmetro das plantas (DP, cm) e realizadas novas colheitas das inflorescências, quando mais de 50% das inflorescências da haste estavam em proporções iguais de pré-antese e antese (BEUS, 2005).

Após a última colheita de inflorescências foi realizada a poda das plantas, com a retirada de mais da metade da parte aérea e mantido três nós com gemas e realizada a coleta das folhas das plantas (McNAUGHTON, 2006) As folhas foram separadas das hastes das plantas e tanto inflorescências e folhas foram pesadas em balança de precisão com resolução de 0,001 g, embalados e armazenados em freezer à temperatura de -4°C. A massa fresca total das inflorescências (g planta⁻¹) foi determinada pela soma de todas as colheitas realizadas. Foram realizadas ao todo quatro colheitas de inflorescências para *L. stoechas* e uma colheita para *L. angustifolia*. Todas as amostras colhidas em cada unidade experimental, foram misturadas para a formação de uma amostra única por unidade experimental. Aproximadamente 30 g de massa fresca de inflorescências e folhas da *L. stoechas* e 30 g de massa fresca das folhas de *L. angustifolia* por unidade experimental foram utilizados para a extração do óleo essencial e o restante da amostra foi acondicionada em sacos de papel e secada em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingir peso constante, quando então o peso da massa seca foi registrado em definitivo. Para a espécie *L. angustifolia* a massa fresca total de inflorescências obtida foi insuficiente para a extração de óleo essencial.

O óleo essencial foi obtido pelo processo de destilação por arraste a vapor, usando aparelho do tipo Clevenger graduado, acoplado em um balão de fundo redondo de dois litros, aquecido em manta térmica por 2 horas a aproximadamente 100°C. O teor de óleo essencial foi obtido a partir da relação entre o peso do óleo essencial e o da amostra, com o resultado expresso em porcentagem, e o rendimento do óleo foi calculado a partir da relação entre a massa fresca total de folhas e inflorescências (g planta⁻¹) e quantidade de óleo essência obtida (g).

As variáveis, dias para o florescimento e teor e rendimento de óleo essencial das inflorescências, foram analisadas de maneira isolada para a espécie *L. stoechas*, visto que não houve florescimento para *L. angustifolia* na primavera e massa fresca de inflorescências insuficiente para a extração do óleo essencial no verão.

Variáveis meteorológicas

Os dados de temperatura mínima e máxima do ar, precipitação pluvial e radiação solar incidente, foram obtidos a partir da estação automática pertencente ao Oitavo Distrito de Meteorologia do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizado na área experimental do setor de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, situada a 90 m do experimento.

Análise estatística

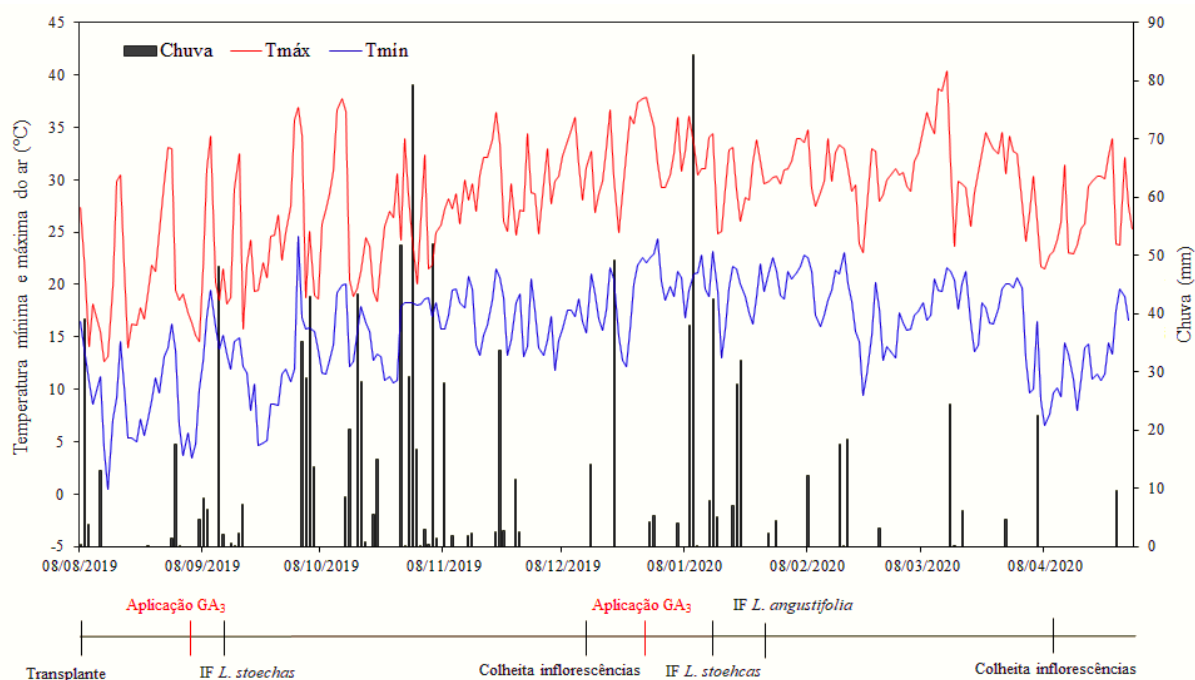
Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e apresentando significância, as variáveis qualitativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott e as quantitativas foram submetidas a análise de regressão a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa estatístico SISVAR®, versão 5.3 (FERREIRA, 2014). Os gráficos de regressão com as curvas de tendências foram realizados com o software SIGMAPLOT 12.0.

Resultados e discussão

As temperaturas médias, máximas e mínimas do ar e o somatório de precipitação pluviométrica, auxiliaram no melhor entendimento das respostas de crescimento e desenvolvimento das espécies de lavanda e as possíveis influências sobre a aplicação de GA₃ (Figura 1).

A menor média da temperatura mínima do ar foi de 9,4°C no mês de agosto, enquanto, a mínima registrada ao longo do cultivo a campo foi de 0,4°C, no mesmo mês. A ocorrência de geada no dia 15/08/2018, logo após o transplante das mudas, não resultou em danos às plantas. De maneira geral, apenas geadas tardias tendem a afetar negativamente as inflorescências das espécies de lavanda (REID, 2000). Foram poucos os dias consecutivos com a ocorrência de temperaturas do ar mais baixas, sendo, também, registrados dias de alta amplitude térmica, superando os 15°C em vários momentos.

Figura 1- Temperatura mínima (TMín, °C) e máxima diária do ar (TMáx, °C) e precipitação pluviométrica (chuva, mm) do período de 08 de agosto de 2019 a 30 de abril de 2020



IF= início do florescimento.

Fonte: próprio autor.

A maior média da temperatura máxima do ar foi verificada no mês de março (32°C), com a máxima atingindo 40,3°C, também neste mês. Temperaturas máximas do ar superiores a 30°C, que podem ser estressantes à produção de inflorescências e qualidade e quantidade do óleo essencial da lavanda foram observados em vários momentos ao longo do ciclo de cultivo, com aumento de ocorrência das temperaturas máximas do ar a partir do fim de novembro, quando as plantas da *L. stoechas* estavam em plena floração.

As espécies de lavanda requerem cultivo a pleno sol e solos bem drenados. A precipitação pluviométrica distribuiu-se ao longo do ciclo das plantas com total de 1168 mm, sendo poucos os momentos que demandaram irrigação complementar. O uso de canteiros elevados foi eficiente para evitar o excesso hídrico provocado em meses com alto acúmulo de precipitação pluvial, como decorrido no mês de outubro, com vários dias consecutivos de precipitação, num total de 403,4 mm (Figura 1). O total acumulado da radiação solar global incidente na superfície foi de 5219,94 MJ m⁻².

Após a primeira aplicação de GA₃, a análise de variância demonstrou interação significativa entre os fatores analisados: espécies de lavanda (*L. stoechas* e *L. angustifolia*) versus (concentrações de GA₃), para o diâmetro de plantas. A porcentagem de plantas com

inflorescências, número de inflorescências com até 3 cm e maior que 3 cm de comprimento foi obtida apenas para a espécie *L. stoechas*, uma vez que a *L. angustifolia* não emitiu inflorescências. O florescimento da espécie *L. stoechas* foi em 100% das plantas de todas as concentrações de GA₃ testadas. A espécie levou em média sete dias para florescer após a aplicação de GA₃, não apresentando diferença significativa entre as concentrações GA₃. A Tabela 1 apresenta o diâmetro das plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* após a primeira aplicação de GA₃.

Tabela 1- Diâmetro de plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃

CONCENTRAÇÕES GA ₃ (mg L ⁻¹)	DP (cm)	
	<i>L.</i> <i>stoechas</i>	<i>L.</i> <i>angustifolia</i>
0	49,50 bA	36,75 bB*
100	51,50 bA	40,60 aB
200	55,00 aA	42,00 aB
400	52,50 bA	41,00 aB
600	56,87 aA	38,62 bB
CV 1 (%)	7,31	
CV 2 (%)	4,37	
Média geral	46,43	

*Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam as concentrações GA₃ e maiúsculas comparam as espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). DP = diâmetro de planta (cm); CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

As plantas de *L. stoechas* florescem no início da primavera ao final do outono (SFIKAS, 1987). Neste estudo, o florescimento para *L. stoechas* ocorreu no início da primavera em todas as concentrações de GA₃ testadas, indicando que a espécie floresce de maneira independente à aplicação de GA₃.

O GA₃ pode promover o crescimento das plantas por estimular a aceleração da divisão celular, aumentando o alongamento celular e alargamento, ou ambos (HARTMANN et al., 1989). As concentrações de 200 e 600 mg L⁻¹ para *L. stoechas* e 100, 200 e 400 mg L⁻¹ para *L. angustifolia*, resultaram no maior diâmetro de plantas, não diferindo estatisticamente entre si. Já as plantas de *L. stoechas* não tratadas com GA₃ (0 mg L⁻¹) apresentaram o menor diâmetro de planta e diferiram estatisticamente das concentrações de 100 e 400 mg L⁻¹. Para *L. angustifolia*, o diâmetro de planta na dose de 600 mg⁻¹ não diferiu estatisticamente do controle em água (0 mg L⁻¹). O diâmetro de planta para *L. stoechas* foi superior ao da *L. angustifolia* em todas as concentrações de GA₃ (Tabela 1).

A altura de plantas apresentou diferença significativa tanto para as concentrações de GA₃, como entre as espécies. A *L. stoechas* apresentou altura superior em média 14 cm a mais que a *L. angustifolia* (Tabela 2).

Tabela 2- Altura de plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob aplicação de GA₃

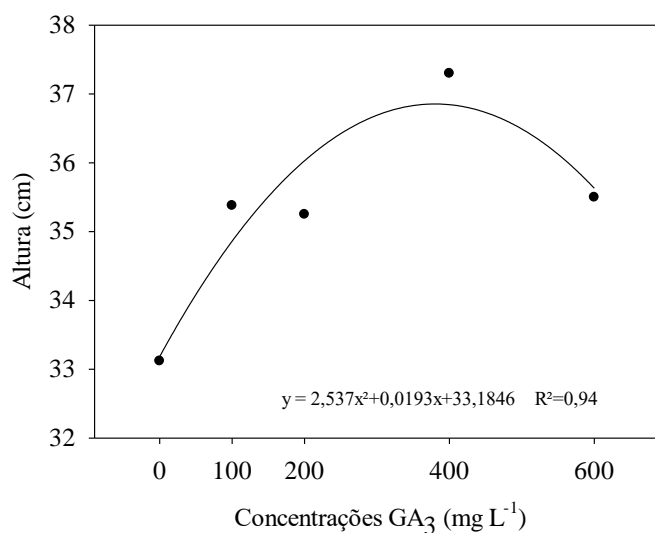
ESPÉCIE	H (cm)
<i>L. stoechas</i>	42,50 a*
<i>L. angustifolia</i>	28,50 b
CV 1 (%)	11,88
CV 2 (%)	5,02
Média geral	35,50

*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). H = (altura, cm); CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

As plantas tratadas com GA₃ apresentaram altura superior em relação ao controle (0 mg L⁻¹). A aplicação de 400 mg L⁻¹ de GA₃ resultou na altura máxima das plantas (37,4 cm) (Figura 2). O aumento em altura esta relacionado ao papel do GA₃ no aumento da divisão celular e alongamento celular (HARTMANN et al., 1989). Porém, o uso de concentrações maiores que 400 mg L⁻¹ sinalizaram tendência de diminuição da altura das plantas (Figura 2).

Figura 2- Altura de plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃



Fonte: próprio autor.

A participação das GAs sobre a divisão celular está principalmente relacionada pela sua ação no DNA nuclear das plantas, promovendo a formação de RNA mensageiro quantitativa e qualitativamente distinto, o que desencadeia a síntese de proteínas, sendo formadas enzimas como alfa-amilase, protease, lipase e hidrolase. A alfa-amilase está relacionada a formação de glicose pela célula a partir do amido, sendo este osmoticamente ativo e promotor da diminuição do potencial osmótico celular, causando influxo de água e consequente aumento na dimensão celular (CHRISPEELS e VARNER, 1967).

A expansão celular provocada pelas GAs também pode estar relacionada à atuação de enzimas que quebram ligações glicosídicas. A enzima xiloglucano end o-trans-glicosilase, que atua sobre a expansão celular, e no rompimento de ligações de hidrogênio entre os polissacarídeos, pode aumentar a elasticidade e causar obstrução da pressão interna, permitindo a entrada de água e o alongamento celular (TAIZ et al., 2017).

Efeitos favoráveis com a aplicação exógena de GA₃ sobre o crescimento de plantas foram relatados para várias espécies. Gad et al. (2016), encontraram um maior crescimento e altura de plantas de *Ixora coccinea* L. sob concentração de 400 mg L⁻¹. Sajjad et al. (2015) e Chopde et al. (2015) obtiveram aumento em altura de plantas de gladiolo em concentrações de até 200 mg L⁻¹. Neste estudo, a espécie *L. stoechas* apresentou tanto altura como diâmetro da planta superior a *L. angustifolia* após a primeira aplicação de GA₃ (Tabela 1). Paraskevopoulou et al. (2020), observaram que tanto sob efeito de concentrações salinas, como em condições normais (controle), houve menor crescimento em altura e diâmetro da planta para a espécie *L. angustifolia* em comparação a *L. stoechas*.

Em *L. stoechas*, o número de inflorescências de até 3 cm foi inferior no controle (0 mg L⁻¹), e diferiu estatisticamente dos demais tratamentos que receberam aplicação de GA₃ (100, 200, 400 e 600 mg L⁻¹), e não diferiram estatisticamente entre si. O número de inflorescências > 3 cm foi superior nas concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹ (Tabela 3). A *L. angustifolia* não produziu inflorescências nas diferentes concentrações após a primeira aplicação de GA₃.

Tabela 3- Número de inflorescências de até 3 cm e > que 3 cm de *L. stoechas* cultivadas após uma aplicação de diferentes concentrações de GA₃

CONCENTRAÇÕES GA ₃ (mg L ⁻¹)	(continua)	
	Nº INFLORESCÊNCIAS ATÉ (3 cm)	Nº INFLORESCÊNCIAS (> 3 cm)
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. stoechas</i>
0	69,25 b	9,75 d*
100	88,25 a	11,25 c
200	83,25 a	8,75 d
400	89,16 a	12,75 b

CONCENTRAÇÕES GA ₃ (mg L ⁻¹)	(conclusão)	
	Nº INFLORESCÊNCIAS ATÉ (3 cm)	Nº INFLORESCÊNCIAS (> 3 cm)
600	89,25 a	15,75 a
CV (%)	8,82	14,90
Média geral	83,80	11,62

*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

Ao final da emissão dos botões florais, realizou-se uma segunda aplicação de GA₃ sobre as plantas, momento que antecedeu o verão, fazendo-se uma nova análise de todas as variáveis estudadas. Houve interação significativa entre espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*) versus concentrações de GA₃ para as variáveis DPF, PPI (%), H (cm) e DP (cm) (Tabela 4).

Tabela 4- Dias para o florescimento, porcentagem de plantas com inflorescências, altura e diâmetro de plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, após segunda aplicação de diferentes concentrações de GA₃

GA ₃ (mg L ⁻¹)	DPF		PPI (%)		H (cm)		DP (cm)	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustif.</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustif.</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustif.</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustif.</i>
0	22 aA	79 aB	100 aA	63 bB	50,50 aA	50,12 cA	49,50 bA	40,37 aB*
100	22 aA	56 bB	100 aA	75 bB	52,50 aA	48,87 cA	51,50 bA	41,75 aB
200	20 aA	29 cB	100 aA	88 aB	54,25 aA	61,37 bB	55,00 aA	45,50 aB
400	18 aA	33 cB	100 aA	100 aB	53,00 aA	66,37 aB	52,50 bA	41,50 aB
600	21 aA	30 cB	100 aA	100 aB	56,25 aA	67,75 aB	56,87 aA	40,00 aB
CV 1 (%)	15,35		22,07		2,02		5,90	
CV 2 (%)	14,10		13,51		6,44		3,91	
Média geral	32,92		92,50		56,12		47,03	

*Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Letras minúsculas comparam as concentrações GA₃ e maiúsculas comparam as espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). DPF = dias para o florescimento; PPI = porcentagem de plantas com inflorescências (%); H = altura (cm); DP = diâmetro de planta (cm); CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

Após a segunda aplicação de GA₃, ambas as espécies floresceram em todas as concentrações testadas, indicando que ela ocorreu independentemente das aplicações de GA₃. As concentrações de GA₃ para *L. stoechas* não apresentaram diferença significativa para a variável dias para o florescimento (DPF). A espécie floresceu em média 20 dias após a segunda aplicação de GA₃. A *L. angustifolia* antecipou o florescimento quando tratadas com as concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹, sendo que, nas concentrações de 0 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹, as plantas levaram 49 e 26 dias a mais para emitir os primeiros botões florais, respectivamente. As concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹ não diferiram estatisticamente

entre si e levaram em média de 9 a 15 dias a mais para florescer quando comparadas às mesmas concentrações para espécie *L. stoechas* (Tabela 4).

Observou-se que 100% das plantas da espécie *L. stoechas* floresceram, enquanto, para *L. angustifolia* o florescimento não ocorreu em todas as plantas de todas as concentrações de GA₃. Para as plantas tratadas com 400 e 600 mg L⁻¹, houve 100% de florescimento, 63% no controle em água (0 mg L⁻¹) e 75% na concentração de 100 mg L⁻¹ de GA₃.

Não houve diferença significativa entre as concentrações GA₃ para a altura da *L. stoechas* e para o diâmetro de plantas de *L. angustifolia*. Já a altura de plantas variou entre as concentrações GA₃ para *L. angustifolia*, sendo as plantas tratadas com 400 e 600 mg L⁻¹ com as maiores alturas. A espécie também apresentou maior altura que a *L. stoechas* nas concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹, indicando que a aplicação de GA₃ também interferiu sobre o crescimento em altura das plantas de *L. angustifolia* nas maiores concentrações testadas. O diâmetro de plantas foi superior nas concentrações de 200 e 600 mg L⁻¹, não diferindo estatisticamente entre si para *L. stoechas* e foi superior ao diâmetro de plantas da *L. angustifolia* (Tabela 4).

O aumento da altura das plantas de *L. angustifolia* também está diretamente relacionada ao florescimento das plantas, uma vez que ocorreu o alongamento dos ramos, onde as hastes florais se desenvolveram. A altura média das plantas antes do florescimento, foi em média 28,5 cm e passou a ser 58 cm, o que representa um aumento de quase 30 cm. Aumento que não foi verificado para a espécie *L. stoechas*, que manteve a média de altura das plantas após o novo ciclo de florescimento.

O diâmetro da planta tem importância com relação à quantidade de folhas e ocupação em área das plantas, uma vez que, as plantas apresentam potencial de extração de óleos essenciais das folhas. Hassanpouraghdam et al. (2011), verificaram que uso de GA₃ promoveu efeitos na divisão e aumento celular e, conseqüentemente, em alguns parâmetros de crescimento em plantas de *L. angustifolia* Mill., como o número de folhas e área foliar. Tal aumento nas características relacionadas à folha, especialmente a área foliar, tem relação com a massa verde e seca das plantas. O incremento de massa fresca e seca das folhas se deve principalmente pela divisão celular e alargamento subsequente, e isso leva a folhas mais espessas e maiores (El-NAGGAR et al., 2009).

A análise do diâmetro das plantas de lavanda também se relaciona às características ornamentais das plantas e a escolha das espécies de lavanda que mais se enquadram nas características de uso paisagístico. A altura e o diâmetro final das plantas, demonstram o potencial de uso paisagístico em maciços e bordaduras, principalmente para a espécie *L.*

stoechas, que apresentou melhor resposta ao tratamento de ácido giberélico nas condições de clima subtropical úmido.

Para as inflorescências até 3 cm e > 3 cm, houve diferença significativa para espécie e para as concentrações de GA₃, apenas para inflorescências > 3 cm (Tabela 5 e Figura 3). A *L. stoechas* apresentou uma média de 64 inflorescências medindo até 3 cm, enquanto que para a *L. angustifolia*, o número médio de inflorescências de até 3 cm foi bem inferior. O número de inflorescências > 3 cm foi superior para *L. stoechas* e diferiu estatisticamente da *L. angustifolia* (Tabela 5).

Tabela 5 – Número de inflorescências de até 3 cm e > que 3 cm de *L. stoechas* e *L. angustifolia* após segunda aplicação de GA₃

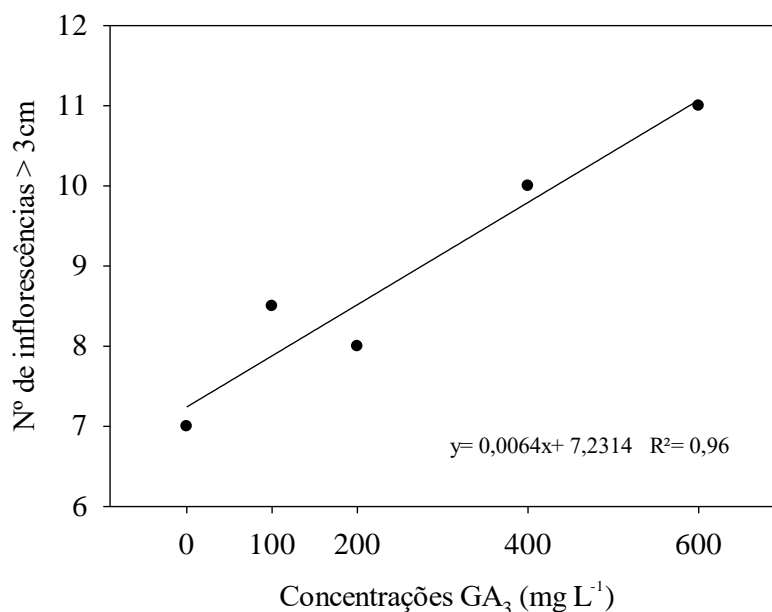
ESPÉCIE	Nº INFLORESCÊNCIAS (ATÉ 3 cm)	Nº INFLORESCÊNCIAS (> 3 cm)
<i>L. stoechas</i>	64,19 a	11,30 a*
<i>L. angustifolia</i>	2,50 b	7,05 b
CV 1 (%)	24,88	10,10
CV 2 (%)	15,65	21,88
Média geral	32,09	8,82

*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

As plantas tratadas com as concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹ de GA₃, apresentaram maior número médio de inflorescências > 3 cm (Figura 3). Cardoso et al. (2012) encontraram um incremento no diâmetro das flores de orquídea nas concentrações de 250 e 500 mg L⁻¹ e porcentagem de florescimento acima do controle (aplicação de água) para as concentrações de 250, 500 e 1000 mg L⁻¹. Contudo, quando aplicadas mais de três vezes, as concentrações mais elevadas resultaram em menor número de flores e defeitos graves, como pétalas tortas e alterações morfológicas.

Figura 3- Número de inflorescências de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, após segunda aplicação de diferentes concentrações de GA₃



Fonte: próprio autor.

O não florescimento na primavera (após a primeira aplicação de GA₃) e o florescimento obtido no período do verão (após a segunda aplicação de GA₃) para a espécie *L. angustifolia*, podem estar relacionados às influências sobre a aplicação exógena de giberelina, como, por exemplo, tipo e frequência de aplicação, e as condições ambientais principalmente temperatura do ar e fotoperíodo (YAMAGUCHI, 2008). Koshioka et al. (2016), sugere que a *L. angustifolia* seja uma planta do tipo de vernalização obrigatória. Sendo assim, dentre os fatores influentes sobre a aplicação exógena de GA₃, as condições ambientais podem ter contribuído de maneira desfavorável para estimular ou até mesmo resultar em um florescimento mais satisfatório para a *L. angustifolia*, visto que, as plantas foram cultivadas a campo, e as condições térmicas apresentadas, de poucos dias contínuos com temperaturas do ar mais baixas, e alta amplitude térmica (Figura 1), podem ter sido desfavoráveis para um acúmulo endógeno satisfatório de giberelinas nas plantas. Thingnaes et al. (2003) colocam que a diferença entre as temperaturas diurnas e noturnas pode influenciar nos níveis de giberelina endógena, sendo as aplicações exógenas não suficientes na suplementação e indução floral satisfatória.

Koshioka et al. (2016), observaram que aplicação de GA₃ em plantas da espécie *Lavandula intermedia* variaram as respostas de floração em função dos períodos de frio aos quais as plantas ficaram expostas, indicando a influência da vernalização para a ocorrência do florescimento e sua potencialização pela aplicação GA₃. Su et al. (2001) sugeriram que tanto a aplicação de giberelina, quanto giberelinas endógenas, em plantas cultivadas sob baixas

temperaturas, agem no desenvolvimento das inflorescências e dos botões florais.

Segundo Brenzel (2007), a *L. angustifolia* floresce do início ao meio do verão, condição observada neste estudo, em todas as concentrações de GA₃ e controle em água. Tal resultado indica a necessidade de um número de horas de luz igual ou superior a 12-14 horas e que a aplicação de GA₃ na primavera, associado ao baixo acúmulo de frio, podem não ter sido suficientes para antecipar o florescimento. Os níveis de giberelina endógena em plantas de dia longo, tendem a aumentar com o aumento do fotoperíodo (LEE et al., 1998), assim, a aplicação de GA₃ nas concentrações acima de 200 mg L⁻¹, próximo ao verão sob condições favoráveis de fotoperíodo, podem ter contribuído para antecipação do florescimento e produção de inflorescências.

O GA₃ tem sido utilizado em várias espécies de plantas ornamentais como um substituto para tratamentos com baixas temperaturas. Embora promova o florescimento, em algumas espécies de tulipa, sua eficiência é considerada baixa em relação a tratamentos com baixas temperaturas. Coelho et al. (2018), obtiveram indução floral em plantas de kalanchoe com o uso de 100 e 200 mg L⁻¹, sendo que, nem todas as plantas floresceram no tratamento controle. Já em plantas de azaleia tratadas com 1000 mg L⁻¹ de GA₃, em temperatura mínima de 16°C, foram obtidos resultados significativos na uniformização da floração sem a necessidade de tratamento com baixa temperatura (IERSEL, 1998).

As massas frescas e secas das inflorescências da *L. stoechas* foram contabilizadas ao final de cada colheita (duas colheitas após a primeira aplicação) e ao final somada com mais duas colheitas após a segunda aplicação de GA₃, perfazendo a massa fresca e seca total de inflorescências colhidas. Já a massa fresca e seca das inflorescências de *L. angustifolia* foi contabilizada ao final da colheita das inflorescência (única colheita) e das folhas, ao final do florescimento de ambas as espécies, após a segunda aplicação de GA₃, momento em que foi realizado a poda das plantas.

Não houve interação significativa entre os fatores espécie *versus* concentrações de GA₃ para as massas frescas e secas totais de inflorescências e folhas (Tabela 6).

Tabela 6- Massa fresca e massa seca de inflorescências de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃

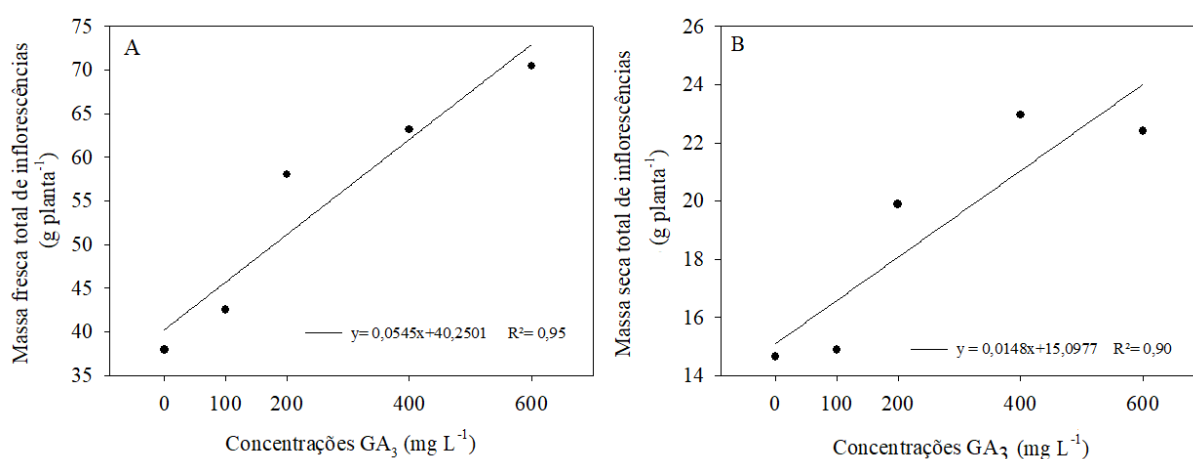
ESPÉCIE	MF INFLORESCÊNCIAS (g planta ⁻¹)	MS INFLORESCÊNCIAS (g planta ⁻¹)	MF FOLHAS (g planta ⁻¹)	MS FOLHAS (g planta ⁻¹)
<i>L. stoechas</i>	84,70 a	29,10 a	102,37 b	16,14 b*
<i>L. angustifolia</i>	24,12 b	8,20 b	147,98 a	54,40 a
CV 1 (%)	25,98	36,76	13,71	23,03
CV 2 (%)	22,51	24,54	19,41	29,41
Média geral	54,41	18,96	125,13	35,27

*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); MF= massa fresca; MS= massa seca; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

A massa fresca e seca total de inflorescências foi superior para a *L. stoechas*, visto que, para esta espécie foram realizadas ao todo quatro colheitas e para a *L. angustifolia* apenas uma. A *L. angustifolia* apresentou em média, 45,63 g planta⁻¹ a mais de massa fresca e 38,26 g planta⁻¹ de massa seca das folhas do que a *L. stoechas* (Tabela 6). Para as concentrações de GA₃, a massa fresca de inflorescências apresentou tendência de aumento conforme o aumento das concentrações de GA₃, sendo o maior valor observado na concentração de 600 mg L⁻¹ (70,41 g planta⁻¹), enquanto a massa seca das inflorescências foi superior na concentração de 400 mg L⁻¹ (23 g planta⁻¹) (Figura 4).

Figura 4- Massa fresca e seca total de inflorescências de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações GA₃



Fonte: próprio autor.

Silva et al. (2017), estudando diferentes porcentagens de fertilizações organominerais em *L. dentata* a campo, encontraram biomassa total de 97,12 g planta⁻¹ para inflorescências,

com a dose de 20% e 117,42 g planta⁻¹ de folhas com a dose de 100%, valores próximos aos encontrados para as espécies de *Lavandula* spp. deste estudo. Já as maiores massas frescas de inflorescências encontradas pelos autores foram 125,87 g planta⁻¹ (100%) e de 192,20 g planta⁻¹ (40%) para as folhas. Em casa de vegetação, os maiores valores foram 154,93 g planta⁻¹ de inflorescências e de 186,14 g planta⁻¹ de folhas. Tais resultados superiores aos encontrados neste estudo estão associados tanto ao uso da adubação organomineral e ao fato de que a *L. dentata* é uma espécie bem aclimatada no Brasil. Além disso, o estudo demonstra que os experimentos a campo podem sofrer influências de fatores adversos do ambiente (temperatura, radiação solar, chuvas, ventos e perdas de nutrientes) e interferir sobre a produtividade, como, principalmente, a ocorrência de chuvas no período de floração, fato que pode ser minimizado pelo uso de ambiente protegido.

Hassanpouraghdam et al. (2011), encontraram maiores valores de peso fresco e seco (5,33 e 2,60 g) de inflorescências da *Lavandula angustifolia* “Chaix”, com a utilização de 300 mg L⁻¹, evidenciando que o ácido giberélico apresenta impactos aditivos sobre o crescimento e desenvolvimento geral das plantas de lavanda. As diferenças de massa fresca de inflorescências obtidas para as espécies nesse estudo, demonstram que a *L. stoechas* se desenvolveu melhor sob as condições de clima subtropical úmido da região central do Rio Grande do Sul, e, junto ao uso de GA₃, teve seu crescimento e desenvolvimento potencializado.

O teor e a composição de óleo essencial das plantas medicinais varia conforme as espécies e tem forte interação com as condições ambientais, que interferem sobre o metabolismo secundário das plantas (MORAIS, 2009). O uso de reguladores vegetais também pode alterar o comportamento das plantas, bem como, do seu metabolismo secundário, sendo, possível obter aumento no teor do óleo essencial em algumas espécies de plantas (SHUKLA e FAROOQUI, 1990).

O teor e rendimento do óleo essencial da *L. stoechas* e o teor de óleo das folhas da *L. stoechas* e *angustifolia* estão apresentados na Tabela 7. Para *L. angustifolia* não houve massa fresca de inflorescências suficiente para extração do óleo essencial. Para as folhas, *L. stoechas* apresentou teor e rendimento do óleo essencial superior a *L. angustifolia*.

Tabela 7- Teor e Rendimento de óleo essencial de inflorescências e folhas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃

ESPÉCIE	TO INFLORESCÊNCIAS (%)	RO INFLORESCÊNCIAS (g planta ⁻¹)	TO FOLHAS (%)	RO FOLHAS (g planta ⁻¹)
<i>L. stoechas</i>	0,46	0,22	0,46 a	0,47 a*
<i>L. angustifolia</i>	-	-	0,19 b	0,28 b
CV 1 (%)	15,39	21,23	43,82	45,46
CV 2 (%)	-	-	38,25	44,22
Média geral	0,46	0,23	0,32	0,37

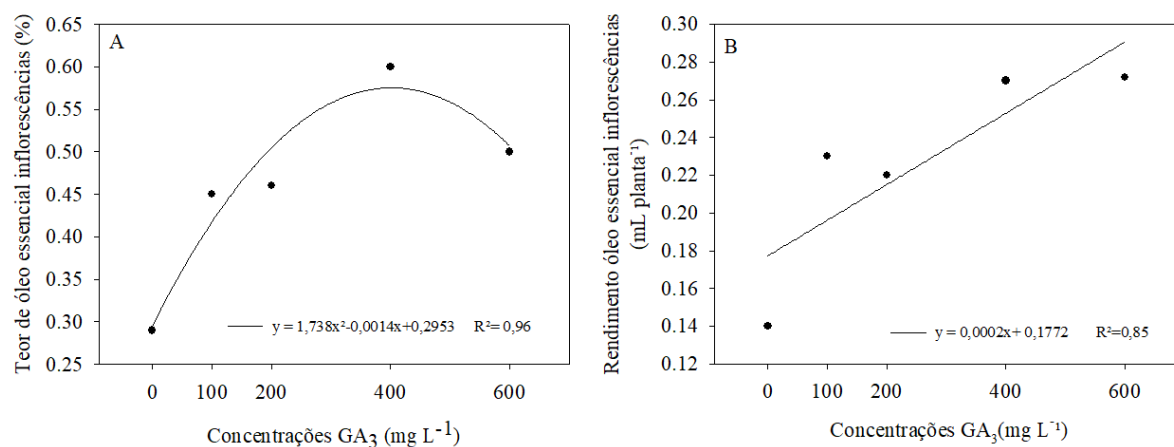
*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); TO= teor de óleo; RO= rendimento de óleo; Travessão (-) = sem dados; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

Silva et al. (2017), estudando diferentes concentrações de fertilizantes organominerais em *L. dentata*, encontraram teor de óleo essencial para as inflorescências variando de 0,48 – 0,54% e de 0,41-0,53% para as folhas. Já o rendimento de inflorescências variou de 0,44-0,54 g planta⁻¹ e de 0,45-0,91 g planta⁻¹ para as folhas. Tais resultados para o teor de óleo essencial de inflorescências e folhas vem ao encontro dos valores encontrados neste estudo para *L. stoechas*. Da mesma forma que encontrado neste estudo para *L. stoechas*, os autores também encontraram rendimento do óleo essencial superior para as folhas de *L. dentata*. Já a *L. angustifolia*, apresentou valores de teor e rendimento do óleo essencial das folhas abaixo do esperado. Chrysargyris et al. (2016) em sistema protegido, estudaram os efeitos do nitrogênio e potássio sobre o rendimento do óleo essencial das folhas de *L. angustifolia* Mill., encontrando valores acima de 0,70%.

Aplicação de GA₃ apresentou ter influência sobre o teor de óleo essencial de inflorescências de *L. stoechas*. Houve um aumento do teor de óleo essencial das inflorescências a partir das concentrações de 100 e 200 mg L⁻¹ (0,45 e 0,46%), em comparação à concentração de 400 mg L⁻¹, (0,60%), um aumento de 21,6%. Quando comparado as plantas não tratadas com GA₃ (0 mg L⁻¹), esse aumento foi de 53,3%. Nas plantas tratadas com 600 mg L⁻¹, o teor de óleo essencial foi 0,51% (Figura 5A). O rendimento do óleo essencial das inflorescências alcançou maior produção quando as plantas foram tratadas com 400 e 600 mg L⁻¹ (0,27 mL planta⁻¹) (Figura 5B).

Figura 5- Teor (A) e Rendimento (B) do óleo essencial de inflorescências de *Lavandula stoechas* cultivada sob diferentes dose de GA₃

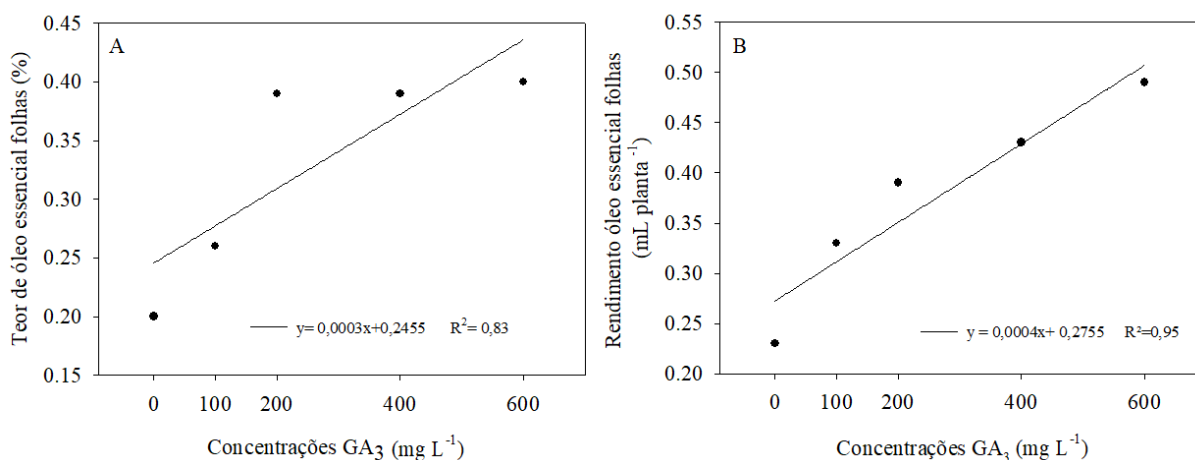


Fonte: próprio autor.

Hassanpouraghdam et al. (2011) obtiveram maior teor de óleo essencial sob aplicação de GA₃ em plantas de *Lavandula angustifolia* “Chaix” na concentração máxima testada de 300 mg L⁻¹ (6,03%) e rendimento de 11,36 ml/m². Tuttolomondo et al. (2015), sob condições de cultivo na Silícia – Itália, encontraram teores de óleo essencial variando entre 0,73 a 1,08% para folhas e inflorescências de *L. stoechas*. Enquanto, Verma et al. (2010), encontraram para *L. angustifolia* Mill., variações do teor de óleo essencial das inflorescências de 0,8 a 2,8% sob condições de clima temperado na Índia.

O teor e o rendimento do óleo essencial das folhas apresentou tendência de aumento conforme o aumento de GA₃, porém, o teor de óleo essencial com o uso de 200 mg L⁻¹ e 400 mg L⁻¹ em comparação à concentração de 600 mg L⁻¹, apresentou diferença de apenas 0,003 e 0,002%, respectivamente (Figura 6A). Na concentração de 600 mg L⁻¹, o rendimento foi superior às demais concentrações de GA₃, com aumento de 0,27% quando comparado ao controle (0 mg L⁻¹) (Figura 6B).

Figura 6- Teor (A) e Rendimento (B) de óleo essencial de folhas de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de GA₃



Fonte: próprio autor.

Para outras espécies da família das Lamiaceae, Zawislak (2014), na Polônia, obteve uma produção máxima próxima de 0,15 g planta⁻¹ de óleo essencial de folhas de *Salvia officinalis*. Zheljzakov e Astatkie (2011), testando o efeito de diversos hormônios vegetais em *Mentha spicata* L. cv. 'Nativo', encontraram efeitos positivos sobre o teor e rendimento do óleo essencial das plantas nas concentrações de 1000 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹, não apresentando diferença significativa entre si. Porém, para a maioria dos constituintes químicos do óleo essencial, como α -pineno, β -pineno, sabineno, myrceno, L-limoneno, 1,8-Cineol, β -Bourboneno, β -Caryophylleno, entre outros, a concentração de 1000 mg L⁻¹, apresentou redução destes componentes em comparação às concentrações de 10 e 100 mg L⁻¹, e ao controle em água.

Os resultados deste estudo indicam que a *L. stoechas* apresentou as melhores respostas de desenvolvimento para as condições climáticas da região central do Rio Grande do Sul, este, que pode ser melhorado com o uso do GA₃. As respostas se assemelham às encontradas para a *L. dentata*, espécie que já vem sendo amplamente cultivada no Brasil, e que vem conquistando cada vez mais espaço na cadeia de comercialização de óleos essenciais do Brasil.

Ademais, a *L. stoechas* consiste uma ótima opção para compor maciços e bordaduras para a ornamentação, além do florescimento, teor e rendimento de óleo essencial satisfatórios, que viabilizam a cultura como uma opção de cultivo principal ou alternativo para a pequena propriedade rural, servindo como atrativo turístico e como fonte de renda de comercialização do óleo essencial e produtos derivados deste.

A aplicação do GA₃ nas concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹ resultaram nas melhores

respostas à indução do florescimento para as duas espécies de lavanda, contribuindo sobre o florescimento das plantas, teor e o rendimento do óleo essencial. Essas concentrações também contribuíram para obter plantas de maior envergadura.

A aplicação de GA₃ em *L. angustifolia* na primavera não resultou na indução do florescimento. Já no verão, com condições indutivas de fotoperíodo, as maiores concentrações de GA₃ promoveram a antecipação do florescimento, bem como, maior produção de inflorescências. Porém, o florescimento foi insatisfatório para a extração do óleo essencial. Sendo assim, faz-se necessário mais estudos, principalmente para *L. angustifolia*, considerando concentrações e número de aplicações de GA₃, sob influência de condições climáticas indutivas e não indutivas às plantas.

Referências Bibliográficas

BEUS, Dr. 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**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009. 160p. using three plant bioassays. **Mutation Research**, v.426, n.2, p. 211-214. 2009.

BRENZEL, K.N. **Sunset Western Garden Book**; Sunset Publishing Corporation, California, U.S.A.; 2007; p. 768.

CARDOSO, J. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Ácido giberélico na indução e qualidade do florescimento de orquídea Phalaenopsis ‘White Dream’. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.18, n.2, p. 35-140, 2012.

CHRISPEELS, M. J.; VARNER, J. E. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of arabinonuclease by isolated aleurone layers. **Plant Physiology**. v. 42, n. 398-406, 1967.

CHRYSARGYRIS, A.; PANAYIOTOU C.; TZORTZAKIS, N. Nitrogen and phosphorus levels affected plant growth, essential oil composition and antioxidant status of lavender plant (*Lavandula angustifolia* Mill.). **Industrial Crops and Products**, v.83, p.577-586, 2016.

CHOPDE, N. et al. Growth, yield and quality of gladiolus as influenced by growth regulators and methods of application. **Plant Archives**, v. 15, n. 2, p. 691-694, 2015.

COELHO, L. L. et al. Exogenous Application of Gibberellic Acid Improves Flowering in Kalanchoe. **Horticultural Science**, v.53, n.3, p. 342–346, 2018.

EI-NAGGAR, H. A.; EI-NAGGAR, A. A. M.; ISMAIEL, N. M. Effect of phosphorus application and gibberellic acid on the growth and flower quality of (*Dianthus caryophyllus* L.). **American-Eurasian J Agric and Environ Science**, v.6, p. 400-410, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.2, p. 109-112, 2014.

GAD, M. M.; ABDUL-HAFEEZ, E. Y.; IBRAHIM, O. H. M. Foliar application of salicylic acid and gibberellic acid enhances growth and flowering of *Ixora coccinea* L. plants. **International Journal Plant Production**, v.7, n.1, p. 85-91, 2016.

HARTMANN HT; K.; DAVIES, F. T. Jr. **Propagação de plantas, principles and practices**. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, EUA, 5th edn. 1989.

HASSANPOURAGHDAM, M. B.; HAJISAMADI, ASL B.; KHALIGHI, A. A. Gibberellic acid foliar application influences growth, volatile oil and some physiological characteristics of lavender (*Lavandula officinalis* Chaix.). **Romanian Biotechnological Letters**, v.16, n.4, p. 6322-6327, 2011.

IERSEL, M. V. Plant growth stimulator effects on post-transplant growth and flowering of petunia and impatiens plugs. **Horttechnology**, v.8, n.1, p. 45-47, 1998.

KOSHIOKA, M. et al. Florigenic Effect of Gibberellin on Flowering According to Period of Chilling Treatment in *Lavandula × intermedia*. **The Horticulture Journal Preview**, v.85, n.2, p. 169-176, 2016.

LEE, I. J., FOSTER, K. R.; MORGAN, P. W. Photoperiod control of gibberellin levels and flowering in Sorghum. **Plant Physiology**, v.116, p. 1003-1011, 1998.

LORENZI, H; SOUZA, H. M. de. **Plantas ornamentas do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4 ed. Nova Odessa: Instituto de estudo da flora, 2008, 1123p.

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

METZGER, J. D. Hormones and reproductive development. In: DAVIES, P. J. **Plant Hormones**. Holanda: Kluwer Academic, 1995. p. 617-648.

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

MUTASA-GÖTTGENS, E.; HEDDEN, P. Gibberellin as a factor in floral regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v.60, n.7, p.1979-1989, 2009.

PARASKEVOPOULOU, A. T. et al. The Effect of Salinity on the Growth of Lavender. Species. **Water**, v.12, p. 618. 2020.

REID, A. **Growing lavender in Western Australia**. Department of Agriculture and Food, Western Australia, Perth. Bulletin 4454, 2000.

RIVA, A.D. **Caracterização morfológica e anatômica de *Lavandula dentata* e *L. angustifolia* e estudos de viabilidade produtiva na região centro norte, RS**. 185f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

- SAJJAD, Y. et al. Pre-plant soaking of corms in growth regulators influences the multiple sprouting, floral and corm associated traits in *Gladiolus grandiflorus* L. **Journal of Agricultural Science**, v.7, n.9, p. 173-181, 2015.
- SILVA, M. S. et al. Organo-mineral fertilization effects on biomass and essential oil of lavender (*Lavandula dentate* L.). **Industrial Crops and Products**, v.103, p. 133-140, 2017.
- SFIKAS, G. **Αγριολούλουδα της Κρήτης (Wildflowers of Crete)**. Ευσταθιάδης και Υιοί Α.Ε.: Αθήνα, Ελλάδα, 1987; 310p.
- SHUKLA, A.; FAROOQI, A. H. A. E. Review: utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. **Curr. Res. Med. Aromat. Plants**, v.12, n.3, p. 152-177, 1990.
- SU, W. R. et al. Changes in gibberellin levels in the flowering shoot of *Phalaenopsis hybrida* under high temperature conditions when flower development is blocked. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.39, n.1, p. 45-50, 2001.
- STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. EMATER/RS-ASCAR, Porto Alegre, Brasil, 2008. 222p.
- TAIZ. L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.
- THINGNAES, E. et al. Day and night temperature responses in *Arabidopsis*: Effects on gibberellin and auxin content, cell size, morphology and flowering time. **Annals of Botany**, v. 92, n.4, p. 601-612, 2003.
- TUTTOLOMONDO, T. et al. Agronomical evaluation of Sicilian biotypes of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* and analysis of the essential oils. **Journal of essential oil research**, v. 27, n.2, p. 115-124, 2015.
- URWIN, N.A.R.; MAILER, J. Oil Content and fatty acid profiles of seed oil from the genus *Lavandula*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.85, p.491-492, 2008.
- VERMA, R. S. et al. Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v.75, n.3, p. 343-348, 2010.
- YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, n.1, p. 225-251, 2008.
- ZAWISLAK, G. Yield and chemical composition of essential oil from *salvia officinalis* L. in third year of cultivation. **Herba Polonica Journal**, v.60, n.3, p. 14-22, 2014.
- ZHELJAZKOV, D. V.; ASTATKIE, T. Effect of distillation waste water and plant hormones on spearmint growth and composition. **Science of Food and Agriculture**, v.91, n.6, p. 1135-1141, 2011.
- ZUZARTE, M. et al. Trichomes, essential oils and in vitro propagation of *Lavandula pedunculata* (Lamiaceae). **Industrial Crops and Products**, v.32, p.580-587, 2010.

4 ARTIGO 2

PERÍODOS DE VERNALIZAÇÃO INFLUENCIAM O CRESCIMENTO, FLORESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP.

Resumo

A temperatura do ar e o tempo de exposição a esta, podem ser um fator limitante ao cultivo de algumas espécies de *Lavandula* spp. A exposição a baixas temperaturas por um determinado período pode induzir a diferenciação das gemas vegetativas em reprodutivas, ou antecipar o florescimento, contribuindo sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes períodos de vernalização sobre o crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial de duas espécies de *Lavandula* (*L. stoechas* e *L. angustifolia*), por 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 semanas em câmara fria à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Os efeitos dos diferentes períodos de vernalização no crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial de folhas e inflorescências estão associadas às espécies de *Lavandula* spp. Diferentes períodos de vernalização à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, não afetam o número de dias para o florescimento, número de ramos, plantas e ramos com inflorescências de *L. stoechas*, enquanto a altura de plantas, número e tamanho das inflorescências, fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de folhas, variaram as respostas até as 8 semanas em câmara fria. Acima de 8 semanas de vernalização, tais variáveis apresentaram menor valor pelo estresse térmico, refletindo sobre o desempenho produtivo das plantas. O maior efeito positivo foi encontrado para a massa fresca e seca de inflorescências, teor e rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências, em 4 semanas em câmara fria. Plantas de *L. angustifolia* floresceram apenas quando permaneceram por 10 e 12 semanas em câmara fria, com maior altura, associada ao florescimento e maior teor e rendimento do óleo essencial de folhas. O aumento na duração do período de vernalização foi associado a antecipação do florescimento para ambas as espécies. A *L. stoechas* apresenta ser uma boa opção para o cultivo na região central do Rio Grande do Sul, com máxima produtividade de inflorescências quando vernalizada por até 4 semanas em câmara fria à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. O florescimento da *L. angustifolia* vernalizada por 10 e 12 semanas, sob cultivo subsequente nas condições climáticas da região central do Rio Grande do Sul, é insatisfatório e apresenta baixa produtividade de óleo essencial de folhas.

Palavras-chave: Lamiaceae. Plantas medicinais. *Lavandula stoechas*. *Lavandula angustifolia*.

Abstract

The air temperature and the time of exposure to it can be a limiting factor to the cultivation of some species of *Lavandula* spp. The exposure to low temperatures for a certain period can induce the differentiation of the vegetative buds into reproductive buds, or anticipate the flowering, contributing on the growth and development of the plants. The aim of this work was to evaluate the influence of different vernalization periods on the growth, flowering and essential oil yield of two Lavender species (*L. stoechas* and *L. angustifolia*), for 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks in a cold chamber at $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. The effects of different vernalization periods on growth, flowering and essential oil yield of leaves and inflorescences are associated with the species of *Lavandula* spp. Different vernalization periods at $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, did not affect the number of days to flowering, number of branches, plants and branches with inflorescences of *L. stoechas*, while plant height, number and size of inflorescences, phytomass, leaf essential oil content and yield varied responses up to 8 weeks in cold storage. Above 8 weeks of vernalization, such variables showed lower value by heat stress, reflecting on the productive performance of plants. Greater positive effect was found for fresh and dry mass of inflorescences, leaf and inflorescence essential oil content and yield at 4 weeks in cold storage. Plants of *L. angustifolia* flowered only when they remained for 10 and 12 weeks in cold storage, with greater height associated with flowering and higher leaf essential oil content and yield. An increase in the length of the vernalization period was associated with earlier flowering for both species. *L. stoechas* is a good option for cultivation in the central region of Rio Grande do Sul, with maximum productivity of inflorescences when vernalized for up to 4 weeks in cold storage at $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. The flowering of *L. angustifolia* vernalized for 10 and 12 weeks, under subsequent cultivation in the climatic conditions of the central region of Rio Grande do Sul, is unsatisfactory and presents low productivity of essential oil from leaves.

Keywords: Lamiaceae. Medicinal plants. *Lavandula stoechas*. *Lavandula angustifolia*.

Introdução

As lavandas são subarbustos perenes, originários de países Mediterrâneos (LORENZI e SOUZA, 2008). São utilizadas principalmente como culturas de campo para extração do óleo essencial, com destino a indústrias farmacêuticas, alimentícia, cosmética e perfumaria, como flores secas e também para a ornamentação (APROTOSOAIIE et al., 2017). As lavandas mais cultivadas no Brasil são da espécie *L. dentata*, que se adaptou bem as condições climáticas (ADAMUCHIO et al., 2015; ADAMUCHIO et al., 2017), mas ainda é pouco explorada para comercialização do seu óleo essencial.

Além desta, existem mais de 39 espécies e inúmeras variedades ainda pouco exploradas (UPSON e ANDREW, 2004; BENABDELKADER et al., 2011), como a *L. stoechas*, uma das espécies mais utilizadas pela indústria na Europa, apenas atrás da *L. angustifolia* e dos híbridos Lavandins (URWIN e MAILER, 2008). Devido o caráter exótico, algumas espécies de lavanda podem apresentar maior exigência climática, principalmente de temperatura e fotoperíodo para se desenvolver (KOSHIOKA et al., 2016). A lavanda é considerada uma planta de dia longo, ou seja, o florescimento é antecipado ou intensificado quando o número de horas de luz é superior a um determinado valor crítico, de 12-14 horas (RIBEIRO e DINIZ, 2008).

O fornecimento artificial de frio para mudas ou sementes, pode ocasionar a diferenciação das gemas em botões florais em várias espécies ornamentais (BALDINI, 1997), além disso, a exposição a baixas temperaturas por um determinado período, pode acelerar ou melhorar a uniformidade de floração.

Para a *L. angustifolia*, a exposição a períodos de baixa temperaturas se mostram como o principal fator promotor da floração. Whitman et al. (1996), relataram que a floração foi acelerada em *L. angustifolia* ‘Munstead’ por um período de frio a 5°C por um mínimo de dez semanas. Segundo o mesmo autor, a temperatura ótima para o crescimento das plantas foi entre 20 e 23°C, enquanto o fotoperíodo teve apenas um efeito sobre a expressão das flores, especialmente onde mais períodos de frio foram impostos. Monaghan et al. (2004), Kubota et al. (2010) e Koshioska et al. (2016) também obtiveram resultados satisfatórios sobre o florescimento, quando testadas temperatura de 4 e 5°C \pm 1°C, por no mínimo 8 semanas para variedades da espécie *L. angustifolia* e híbridos como *L. x intermedia*.

No entanto, inexistem informações sobre o comportamento agrônômico de *L. stoechas* sob condições de cultivo com ou sem vernalização. Ademais, visando viabilizar o cultivo de novas espécies de lavanda, informações sobre as necessidades de temperatura do ar, e do cultivo em casa de vegetação sob as condições normais da região central do Rio Grande do Sul, podem

elucidar o comportamento das espécies e servir como base para trazer alternativas de produção viáveis.

O clima da região Sul do Brasil é subtropical úmido do tipo Cfa” (com precipitação abundante e bem distribuída ao longo do ano), conforme a classificação de Köppen (ALVARES et al., 2014). As lavandas não toleram o excesso de umidade e os elevados índices pluviométricos podem ser prejudiciais ao seu crescimento. Além disso, a ocorrência de vento e chuva, podem ocasionar perdas dos compostos voláteis do óleo essencial, encontrados em estruturas secretoras externas denominadas tricomas glandulares. Sendo assim, uma técnica alternativa para produção das espécies de *Lavandula* spp, é o cultivo em ambiente protegido, tendo em vista um melhor controle dos efeitos adversos do ambiente e a facilidade de manejo.

O objetivo deste estudo foi determinar a influência de diferentes períodos de vernalização sobre o crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial de *Lavandula* spp. sob as condições climáticas da região central do Rio Grande do Sul, cultivada em casa de vegetação.

Material e Métodos

Tratamentos, instalação, condução do experimento

Duas espécies de lavanda foram cultivadas em abrigo coberto com polietileno aditivado anti-UV com 100 µm, no departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no período de agosto de 2020 a maio de 2021. As mudas foram propagadas via estaquia de plantas matrizes procedentes do setor de Fitotecnia, a partir do uso de ramos com 5 a 10 cm de comprimento e 2 a 3 pares de folhas na região apical, submetidas a irrigação por aspersores a cada 15 minutos até atingir enraizamento satisfatório. As mudas foram enraizadas em bandejas de isopor com 200 células contendo substrato comercial MaxFertil®.

Após 90 dias, quando as mudas atingiram tamanho satisfatório, com média de oito ramos formados (WHITMAN et al., 1996), foram transplantadas para vasos de polipropileno de 3 dm³ preenchidos com substrato MaxFertil® e se deu início os tratamentos de vernalização das plantas em câmara fria no setor de Fruticultura do departamento de Fitotecnia da UFSM, a uma temperatura de 4°C ±1°C (MONAGHAN et al., 2004; WHITMAN et al., 1996) e fotoperíodo de 12 horas fornecido por lâmpadas fluorescentes de 10 watts acionadas por temporizador digital.

Após o término de cada período de vernalização, os vasos foram transferidos para bancadas com telhas de fibrocimento, em abrigo coberto de polietileno de baixa densidade com espessura de 100 µm, no departamento de Fitotecnia. Os tratamentos foram sete períodos de vernalização (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 semanas) e duas espécies de *Lavandula* (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições (sendo cada vaso uma repetição) em esquema bifatorial (duas espécies e sete períodos de vernalização).

As plantas receberam solução nutritiva através de fita gotejadora conectada a uma bomba submersa, acionada por um programador horário. Foram realizadas até oito fertirrigações diárias de 15 minutos durante o período experimental. As concentrações foram baseadas em Frescura et al. (2018) para a cultura do alecrim (*Salvia rosmarinus* Spenn., sinonímia *Rosmarinus officinalis* L.).

Variáveis analisadas

Semanalmente foi monitorado o aparecimento de botões florais, sendo registrado a data do primeiro botão visível a olho nu, comumente com aproximadamente 2 mm de comprimento e definido como o início do florescimento (DPF), foi calculada a porcentagem de plantas com inflorescências (PPI, %) a partir da contagem do número de plantas que floresceram em relação ao número total de plantas de cada tratamento e a porcentagem de ramos com inflorescências (PRI, %). O número de flores por planta de até 3 cm de comprimento e maior que 3 cm foi contabilizado antes de cada colheita das inflorescências, quando mais de 50% das inflorescências da haste estavam em proporções iguais de pré-antese e antese (BEUS, 2005), sendo as 15 e 21 semanas do tratamento (0 semanas), 13 e 19 semanas (2 semanas), 12 e 18 semanas (4 semanas), 10 e 16 semanas (6 semanas), 8 e 14 semanas (8 semanas), 4 e 10 semanas (10 semanas), 3 e 9 semanas (12 semanas), após o final de cada respectivo período de vernalização em câmara fria.

Foram também contabilizados o número de ramificações por planta (RP), altura das plantas (H), tomando como medida a base da planta ao topo da borda da última inflorescência em cm e o diâmetro das plantas (DP), considerando-se as extremidades das duas folhas opostas em cm.

Após a última colheita de inflorescências foi realizada a poda e realizada a coleta das folhas das plantas. As folhas foram separadas das hastes das plantas e tanto inflorescências e

folhas foram pesadas em balança de precisão com resolução de 0,001 g, embalados e armazenados em freezer a -4°C . A massa fresca total das inflorescências (g planta^{-1}) foi determinada pela soma de todas as colheitas realizadas. Todas as amostras colhidas, foram misturadas para a formação de uma amostra única por unidade experimental. 50 g de massa fresca de inflorescências e folhas da *L. stoechas* e 50 g de massa fresca das folhas de *L. angustifolia* por unidade experimental foram utilizados para a extração do óleo essencial e o restante da amostra foi acondicionada em sacos de papel e secada em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingir peso constante, quando então o peso da massa seca foi registrado em definitivo. Para a espécie *L. angustifolia* não houve extração de óleo essencial das inflorescências.

O óleo essencial foi extraído por destilação de arraste a vapor, com aparelho do tipo Clevenger graduado, acoplado em um balão de fundo redondo de dois litros, aquecido em manta térmica por 2 horas a partir do início da fervura. O teor de óleo essencial foi obtido a partir da relação entre o peso do óleo essencial e o da amostra, com o resultado expresso em porcentagem, e o rendimento do óleo foi calculado a partir da relação entre a massa fresca total de folhas e inflorescências (g planta^{-1}) e quantidade de óleo essência obtida (g).

Análise estatística e meteorológica

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e apresentando significância, as variáveis qualitativas foram comparadas pelo teste Scott-Knott e quantitativas foram submetidas a análise de regressão a 5% de probabilidade de erro, usando o programa estatístico SISVAR®, versão 5.3 (FERREIRA, 2014). Os dados de temperatura mínima e máxima do ar na casa de vegetação foram medidas com o auxílio de uma Dataloger ITLOG90 acondicionada em abrigo suspenso e centralizado sobre as bancadas de cultivo. O fotoperíodo foi calculado pela equação de Cooper (COOPER, 1969).

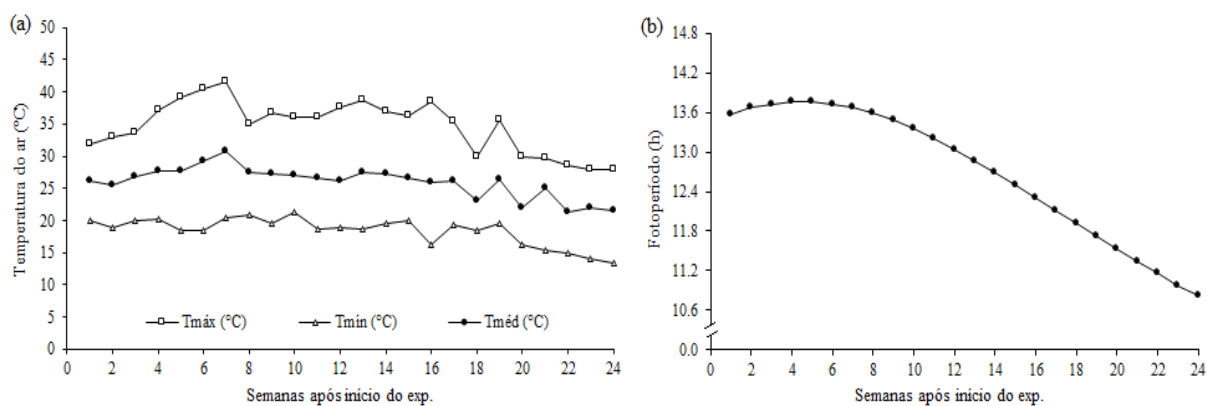
Resultados e Discussão

Na Figura 1(a) são apresentadas as temperaturas médias do ar, máxima e mínima dentro da casa de vegetação, a partir da primeira semana do início (23/11/2020) ao término (09/05/2021) do experimento. A temperatura média do ar na casa de vegetação se manteve acima dos 25°C na maior parte do cultivo das plantas, com decréscimos na média a partir das

18 semanas, (23°C, 22 e 21°C), compreendendo o final do mês de março e início do mês de abril. As máximas de temperatura do ar dentro da casa de vegetação atingiram temperaturas máximas de 40°C ou acima em vários momentos, com máxima de 45,7°C, oito semanas após o início do experimento (início de janeiro de 2021). A média da temperatura mínima do ar se manteve acima dos 15°C na maior parte do cultivo das plantas na casa de vegetação, com mínima registrada de 14°C.

Na figura 1(b) são apresentadas as médias do fotoperíodo diário ao longo das semanas após o início do experimento. O fotoperíodo máximo foi 13,74 h/dia no dia 21/12/2020 e o mínimo 10,82 h/dia no dia 09/05/2021. Sendo assim, a partir do início do experimento, as plantas de todos os tratamentos (semanas em câmara fria), após a realocação em casa de vegetação, tiveram fotoperíodo superior ao da câmara fria (12h/dia) e menor de 12h/dia, a partir das 18 semanas após o início do experimento e 3 semanas após a retirada do último tratamento (12 semanas em câmara fria).

Figura 1- Temperatura média, máxima e mínima do ar (a) e fotoperíodo (b), a partir da primeira semana do início do experimento em casa de vegetação, Santa Maria, RS



Fonte: próprio autor.

O número de flores com até 3 cm e maior que 3 cm de comprimento e o dias para o florescimento foram analisados apenas para a espécie *L. stoechas*, uma vez que a *L. angustifolia* não emitiu inflorescências em todas os períodos de vernalização testados. Ademais, todas as variáveis, exceto o teor e rendimento do óleo essencial de inflorescências de *L. stoechas* apresentaram interação significativa entre os períodos de vernalização e as espécies de lavanda.

A altura das plantas foi maior para a espécie *L. stoechas* e quando estas não foram submetidas à câmara fria, porém, não houve diferença significativa de quando as plantas

permaneceram por 2, 4 e 6 semanas em câmara fria (Tabela 1).

Acréscimos na altura das plantas de lavanda são desejáveis no caso da comercialização de hastes florais, para formação de arranjos florais individuais e compostos. HI Sherig e Khattab (2016), verificaram aumento significativo da altura e número de ramos para plantas de *Hibiscus sabdariffa* quando as sementes foram vernalizadas. Assim como Esmat et al. (2013) sobre a altura de plantas de cebolas.

O número primário de ramificações médio por planta foi superior para a *L. angustifolia* e quando estas permaneceram menos tempo em câmara fria (0 e 2 semanas), enquanto para a *L. stoechas* não houve diferença estatística entre os períodos de vernalização para esta variável (Tabela 1).

Tabela 1– Altura e número de ramos de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização

VERNALIZAÇÃO (SEMANAS)	H (cm)		N° DE RAMOS	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>
0	33,50 aA	18,60 bB	4,50 aB	22,50 bA*
2	33,00 aA	21,16 bB	3,83 aB	25,00 aA
4	33,25 aA	21,33 bB	2,83 aB	22,16 bA
6	30,00 aA	22,75 bA	3,00 aB	20,33 bA
8	30,33 aA	24,00 bB	4,00 aB	12,33 cA
10	25,66 bB	60,33 aA	2,00 aB	10,00 dA
12	23,66 bB	58,68 aA	2,60 aB	9,50 dA
CV (%)		1,81		8,30
Média geral		64,10		54,07

*Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os períodos de vernalização e maiúsculas comparam as espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). H (cm) = Altura; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

Observou-se que 100% das plantas e ramos da *L. stoechas* floresceram em todos os períodos de vernalização testados, enquanto para *L. angustifolia*, houve florescimento em 100% e 98% das plantas, e em 44% e 40% dos ramos nas 10 e 12 semanas de vernalização, respectivamente (Tabela 2). Na Tabela 2 também está apresentado o número de dias para o florescimento. Não houve florescimento para as plantas de *L. angustifolia* não expostas ao frio (0 semanas) e para as plantas que permaneceram 2, 4, 6 e 8 semanas em câmara fria. O florescimento ocorreu 24 e 22 dias após a saída da câmara fria, apenas para as plantas que permaneceram por 10 e 12 semanas, respectivamente. Resultados semelhantes (24,9 e 21,6 dias), foram encontrados por Koshioka et al. (2016), para os mesmos períodos de vernalização e temperatura do ar testadas em *L. angustifolia*.

Tabela 2– Porcentagem de plantas e ramos com inflorescências e dias para o florescimento de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria

VERNALIZAÇÃO (SEMANAS)	PPI (%)		PRI (%)		DIF	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>
0	100	-	100	-	35 a*	-
2	100	-	100	-	26 b	-
4	100	-	100	-	23 c	-
6	100	-	100	-	20 c	-
8	100	-	100	-	16 d	-
10	100	100	100	44	14 d	24
12	100	98	100	40	15 d	22
CV (%)	-	-	-	-	13,5	-
Média geral	-	-	-	-	21,0	-

*Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os períodos de vernalização e maiúsculas comparam as espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). PPI (%) = Porcentagem de plantas com inflorescências; PRI (%) = Porcentagem de ramos com inflorescências; DIF = Dias para o florescimento; Travessão (-) = sem dados; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

À medida que as plantas permaneceram por mais tempo em câmara fria, menos dias foram necessários para o início do florescimento em *L. stoechas*, com o período de 10 semanas (14 dias), não diferindo estatisticamente das plantas que permaneceram por 8 e 12 semanas em câmara fria (16 dias) (Tabela 2).

Koshioska et al. (2016), obtiveram 80% de florescimento das plantas de *L. x intermedia*, para o período de 8 semanas em câmara fria, sob temperatura do ar de 5°C, resultado distinto ao encontrado neste estudo para *L. angustifolia*, visto que as plantas floresceram apenas quando permaneceram por 10 semanas em câmara fria. Já para a variável dias para o florescimento, resultado semelhante aos autores foi encontrado, uma vez que, à medida que o tempo de exposição ao frio aumentou, menor o tempo observado para a iniciação do florescimento ocorrer para ambas as espécies de lavanda testadas neste estudo.

Para o número de flores de até 3 cm e > 3 cm, nos dois momentos avaliados, *L. stoechas* apresentou maior número de inflorescências de até 3cm nos períodos de 0 e 2 semanas de vernalização, sendo que, quanto maior o tempo de exposição ao frio, menor o número de inflorescências total emitidas pelas plantas (Tabela 3). Primeiramente, a *L. angustifolia* emitiu apenas uma inflorescência no tratamento de 10 semanas de vernalização. Contudo, na segunda avaliação, apresentou inflorescências com até 3 cm e maior que 3 cm para a vernalização de 10 e 12 semanas.

Tabela 3- Número de inflorescências de até 3 cm e > que 3cm aos 15 e 21 semanas (0 semanas), 13 e 19 semanas (2 semanas), 12 e 18 semanas (4 semanas), 10 e 16 semanas (6 semanas), 8 e 14 semanas (8 semanas), 4 e 10 semanas (10 semanas), 3 e 9 semanas (12 semanas), a partir do final de cada respectivo período de vernalização

VERNALIZAÇÃO (SEMANAS)	NI (até 3 cm)		NI (> 3 cm)		NI (até 3 cm)		NI (> 3cm)	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angust.</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angust.</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angust.</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angust.</i>
0	54,16 a	-	5,16 a	-	41,25 b	-	5,00 a*	-
2	56,16 a	-	5,00 a	-	60,25 a	-	1,80 d	-
4	41,66 b	-	5,16 a	-	39,00 b	-	2,00 d	-
6	30,83 c	-	5,16 a	-	30,40 c	-	2,60 c	-
8	11,33 d	-	4,33 a	-	30,40 c	-	2,80 c	-
10	2,63 e	1,0	1,0 b	-	28,40 c	3,20	3,60 c	5,0
12	1,83 e	-	1,0 b	-	15,40 d	2,70	4,00 b	2,0
CV (%)	19,40	-	20,60	-	21,54	-	23,22	-
Média geral	28,97	-	4,17	-	34,85	-	2,97	-

*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). NI= Número de inflorescências; Travessão (-) = sem dados; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

A aplicação de vernalização por 2 semanas e a não aplicação (0 semanas), não resultou em diferença estatística para o número de inflorescências de até 3 cm para a *L. stoechas*. O período de vernalização indica influenciar o número de inflorescências emitidas pelas plantas, uma vez que para *L. stoechas*, o número de inflorescências de até 3 cm reduziu conforme o aumento do período de vernalização. Tal resultado tem importância em virtude da prevalência das inflorescências constatadas neste trabalho serem de até 3 cm, e comportarem o maior peso de inflorescências para extração do óleo essencial. Para a mesma variável, a *L. angustifolia* apresentou inflorescências apenas quando permaneceram nos dois maiores períodos de vernalização testados (10 e 12 semanas).

Monaghan et al. (2004) verificaram que quando plantas de *L. angustifolia* “Hidicote” permaneceram por 9 semanas em câmara fria a uma temperatura de 4°C, 100% das plantas floresceram. Quando as plantas permaneceram por 5 semanas, 50% das plantas floresceram, e tal resultado pode estar associado à temperatura média de 16,5°C e fotoperíodo suplementar de 15 horas que as plantas foram submetidas após a vernalização. Os mesmos autores também testaram diferentes temperaturas (8°C, 14°C, 20°C e 26°C), após a retirada das plantas da câmara fria à 4°C por 60 dias. À medida que a temperatura do ar aumentou, menor o número de inflorescências produzidas por planta, e o uso de fotoperíodo suplementar de 8h a 15h em plantas que permaneceram sob temperaturas de 20 e 26°C não fez diferença sobre a produção de gemas. Já para as demais temperaturas pós vernalização, a suplementação de iluminação respondeu em média 2,1 botões a mais por planta, sendo o tempo necessário para o

aparecimento dos primeiros botões florais, maior quando as plantas permaneceram sob fotoperíodo de 8 horas.

Diferentemente do encontrado por esses autores, neste estudo a exposição ao frio por um período de 60 dias (aproximadamente 8 semanas) não induziu as plantas de *L. angustifolia* ao florescimento, muito provavelmente em função da não vernalização total das plantas e exposição posterior a temperaturas elevadas que podem ter desvernalizados as gemas já vernalizadas (Figura 1). Os mesmos autores colocam que dentro de uma população de plantas, existem meristemas individuais que requerem diferentes durações de frio para vernalização, o que explica a variação no tempo para a emissão do primeiro botão floral visível após seis semanas a 13°C, encontrada por Monaghan et al. (2004). Thomas e Vince-Prue (1997) e Erwin (2007), colocam que o processo de desvernalização é mais efetivo quando ocorre logo após ao tratamento com frio em uma planta não vernalizada por completo em temperaturas que normalmente variam de (25-30°C).

Whitman et al. (1996) constataram que plantas de *L. angustifolia* “Musted”, cultivadas em temperatura menores que 23°C após a vernalização por 13 semanas a uma temperatura de 5°C±1°C, obtiveram maior florescimento do que aquelas cultivadas em temperatura de 27°C. Apesar do florescimento das plantas de *L. angustifolia* após 10 e 12 semanas em câmara fria, e muito provavelmente maior número de gemas vernalizadas, as altas temperaturas logo após a vernalização, podem ter desvernalizado as gemas ainda não vernalizadas por completo, contribuindo sobre o menor número de inflorescências por plantas obtidas neste estudo, uma vez que, a temperatura média do ar superou os 25°C ao longo de praticamente todo o cultivo das plantas em casa de vegetação (Figura 1).

Em virtude do não florescimento das plantas de *L. angustifolia* nos períodos de vernalização de 0 a 8 semanas, não houve registro de massa seca e verde das inflorescências (Tabela 4). Apesar da ocorrência do florescimento nos tratamentos de 10 e 12 semanas de vernalização, as plantas de *L. angustifolia* apresentaram massa verde e seca inferior a *L. stoechas*, para esses mesmos períodos, sendo estes também, junto a 0 semanas de vernalização, os que resultaram na menor média tanto de massa verde como de massa seca de inflorescências.

Tabela 4- Massa verde e massa seca de plantas de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria

VERNALIZAÇÃO (SEMANAS)	MV INFLORESCÊNCIAS (g planta ⁻¹)		MS INFLORESCÊNCIAS (g planta ⁻¹)	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>
0	69,30 d	-	16,06 b	-
2	86,12 c	-	21,22 a	-
4	110,54 a	-	25,68 a	-
6	102,49 b	-	24,78 a	-
8	70,24 d	-	24,39 a	-
10	58,62 e	9,50	16,36 b	2,23
12	55,08 d	10,0	15,88 b	2,52
CV (%)	7,73	-	16,98	-
Média geral	80,34	-	20,66	-
VERNALIZAÇÃO (SEMANAS)	MV FOLHAS (g planta ⁻¹)		MS FOLHAS (g planta ⁻¹)	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>
0	184,27 aA	89,38 aB	40,30 aA	17,67 aB*
2	171,10 aA	90,38 aB	36,60 aA	21,26 aB
4	173,54 aA	82,51 aB	36,48 aA	19,11 aB
6	166,48 aA	90,01 aB	27,96 bA	20,45 aB
8	161,60 bA	60,64 bB	24,80 bA	13,70 bB
10	158,22 bA	49,84 bB	27,49 bA	14,03 bB
12	138,64 cA	49,96 bB	28,73 bA	12,01 bB
CV (%)	10,95		16,81	
Média geral	119,04		24,32	

*Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os períodos de vernalização e maiúsculas comparam as espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). MV = massa verde; MS = massa seca; Travessão (-) = sem dados; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

O tratamento de 4 semanas de vernalização, resultou no maior valor médio de massa verde e seca de inflorescências, sendo que a massa seca não diferiu de quando as plantas permaneceram 2, 6 e 8 semanas na câmara fria. A massa verde das folhas apresentou tendência de diminuir conforme as plantas permaneceram por mais tempo em câmara fria, sendo a não aplicação de vernalização (0 semanas em câmara fria), com a maior média de massa verde e seca das folhas (184,27 e 40,30 g planta⁻¹, respectivamente). No entanto, as semanas 0, 2, 4 e 6 semanas em câmara fria para massa fresca das folhas e, 0, 2 e 4 semanas em câmara fria para massa seca das folhas, não diferiram entre si (Tabela 4).

A massa seca das folhas apresentou tendência de decréscimo até a 8 semanas em câmara fria, e acrescido as semanas 10 e 12, foi observado uma tendência de aumento desta variável, porém, o sutil acréscimo, não foi suficiente para verificar diferença significativa das semanas 6

e 8 em câmara fria. Tal resultado indica que a aplicação de vernalização, na temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ por mais que 6 semanas não incrementa positivamente sobre estas variáveis, para *L. stoechas*.

A massa fresca e seca das folhas da *L. angustifolia* não variou estatisticamente de quando não foi aplicado frio (0 semanas) em relação a aplicação por 2, 4 e 6 semanas, sendo, nestes períodos, observados os maiores valores de massa fresca e seca das folhas, com uma variação máxima de 7,87 gramas. Quando as plantas permaneceram por 8, 10 e 12 semanas em câmara fria, a massa verde reduziu em um pouco mais de 30 gramas, no entanto, para a massa seca das folhas essa diferença foi de no máximo 9 gramas (Tabela 4).

Ainda, quando analisada a Tabela 4, observa-se que a *L. stoechas* apresentou massa verde e seca superior a *L. angustifolia*, tanto para as inflorescências, como para as folhas. O aumento do tempo de exposição ao frio, resultou num menor número de flores por planta, porém, a massa verde e seca de inflorescências decaiu após 8 semanas em câmara fria, indicando que a exposição ao frio até 6 semanas contribuiu sobre o ganho de massa verde e seca das plantas. A partir da 8 semanas em câmara fria, é possível observar, portanto, uma diminuição paralela destas variáveis, que pode estar associada a menor assimilação de fotoassimilados pelas plantas, pois nesses períodos as plantas emitiram mais rapidamente os botões florais.

O teor e rendimento do óleo essencial das folhas é apresentado na Tabela 5. De forma semelhante as demais variáveis analisadas neste trabalho, quanto maior o tempo que as plantas de *L. stoechas* permaneceram em câmara fria, menor foi o teor e o rendimento do óleo essencial. Em contrapartida, nos dois períodos de maior exposição ao frio em câmara fria para as plantas de *L. angustifolia*, maior o teor e o rendimento do óleo essencial (Tabela 5).

Tabela 5- Teor e rendimento de óleo essencial de folhas de *L. stoechas* e *L. angustifolia*, submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria

VERNALIZAÇÃO (SEMANAS)	TO (%)		RO (g planta ⁻¹)	
	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>L. angustifolia</i>
0	0,51 aA	0,07 bB	0,95 aA	0,05 bB*
2	0,54 aA	0,06 bB	0,92 aA	0,05 bB
4	0,56 aA	0,06 bB	0,98 aA	0,04 bB
6	0,50 aA	0,07 bB	0,74 bA	0,06 bB
8	0,40 bA	0,06 bB	0,64 bA	0,03 bB
10	0,36 bA	0,30 aA	0,57 bA	0,13 aB
12	0,43 bA	0,31 aA	0,49 bA	0,15 aB
CV (%)		32,78		37,44
Média geral		0,30		0,20

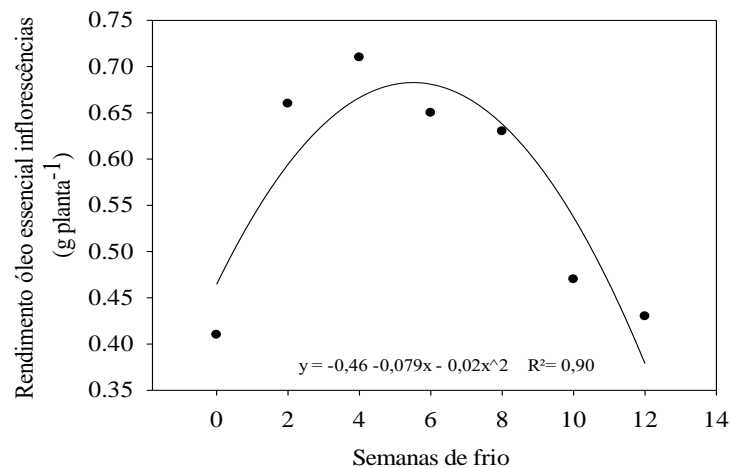
*Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os períodos de vernalização e maiúsculas comparam as espécies (*L. stoechas* e *L. angustifolia*). TO = teor de óleo; RO = rendimento de óleo; CV = coeficiente de variação.

Fonte: próprio autor.

As plantas que permaneceram por 4 semanas em câmara fria obtiveram o maior teor e rendimento do óleo essencial das folhas para *L. stoechas*, mas não diferiram estatisticamente quando não houve exposição ao frio (0 semanas) e quando as plantas permaneceram por 2 semanas em câmara fria. Em *L. angustifolia*, o teor e rendimento do óleo essencial das folhas foi maior quando as plantas permaneceram por 10 e 12 semanas em câmara fria. Observa-se um aumento significativo, em mais de 300% do teor e rendimento do óleo essencial dos períodos de 0 a 8 semanas, que não diferiram entre si, para quando as plantas permaneceram por 10 e 12 semanas em câmara fria (Tabela 5).

O teor e rendimento do óleo essencial das inflorescências foi analisado apenas para espécie *L. stoechas*, visto que não houve inflorescências suficientes para extração do óleo essencial de *L. angustifolia*. O teor de óleo essencial não apresentou diferença significativa para os períodos de vernalização analisados. Já o rendimento de óleo essencial apresentou tendência de decréscimo conforme o aumento do período que as plantas permaneceram em câmara fria. Para as plantas que permaneceram por 4 semanas em câmara fria, foi observado o maior rendimento de óleo essencial das inflorescências, com o aumento do período de vernalização, resultando em rendimento semelhante de quando não houve aplicação de frio sobre as plantas (0 semanas) (Figura 2).

Figura 2- Rendimento do óleo essencial das inflorescências de *L. stoechas* submetidas a diferentes períodos de vernalização em câmara fria



Fonte: próprio autor.

El-Matwally e Eisa (2021) encontraram incrementos no teor e rendimento do óleo essencial de coentro quando testadas temperaturas de 0, 3 e 6°C em comparação a testemunha. Tais resultados foram associados ao aumento do peso das sementes ou porcentagem de óleo essencial obtido. Da mesma forma, neste trabalho, os períodos de vernalização que resultaram em maior rendimento de óleo essencial das folhas (0, 2 e 4 semanas) foram as que obtiveram maiores incrementos em massa verde e seca (Tabela 4), não diferindo entre si. Incrementos de massa verde e seca de inflorescências também foram verificadas neste estudo quando as plantas permaneceram por 2, 4 e 6 semanas em câmara fria, sendo, as mesmas semanas que resultaram em maior rendimento de óleo essencial de inflorescências, para a *L. stoechas*. Hiroshi (1960) também verificou aumento no teor de óleo essencial de hortelã-pimenta, planta da família das Lamiaceae em 10-25% quando as plantas foram vernalizadas.

O teor e o rendimento do óleo essencial varia conforme as práticas de cultivo, fatores ontogenéticos, genéticos e condições ambientais (HORNOK, 1976; GUPTA et al., 2016; AL-SHAHMANI e AL-TUFAILI, 2020). Teores de óleo essencial para *L. angustifolia* entre 0,44 e 1,89% foram registrados na Grécia (GEORGIEVA et al., 2021), e em cultivos no oeste do Himalaia obtiveram teor de 2,8% (VERMA et al., 2010). Enquanto para a espécie *L. dentata* cultivada em Uberlândia – MG, os teores de óleo essencial variaram de 0,44-0,56% e 0,40% para inflorescências e folhas, respectivamente (MARTINS et al., 2019). Sob condições de cultivo na Silícia – Itália, teores de óleo essencial variando entre 0,73 a 1,08% para folhas e inflorescências foram encontrados para *L. stoechas* (TUTTOLOMONDO et al., 2015).

A exposição prolongada a uma determinada temperatura pode interferir sobre a produtividade de óleo essencial. Alguns mecanismos fisiológicos podem ser afetados pelo estresse prolongado a baixas temperaturas, reduzindo a área foliar que afeta o crescimento e consequentemente o rendimento do óleo essencial, além de poder causar alterações no metabolismo primário das plantas, devido à redução na fotossíntese e no crescimento das plantas. Tal alteração pode afetar a produção de metabólitos secundários, uma vez que os metabólitos primários são precursores dos metabólitos secundários. A glicose é a precursora para a formação dos terpenos nas plantas, e ela está diretamente relacionada a sintetização de compostos nas rotas metabólicas responsáveis pela produção dos terpenos. Assim, à medida que a fotossíntese é afetada, a produção de glicose é reduzida e consequentemente o rendimento do óleo essencial (SIMÕES et al., 2017).

Normalmente, os óleos essenciais apresentam aumento no teor quando as plantas são submetidas ao longo do florescimento a temperaturas mais elevadas, contudo, temperaturas muito elevadas, normalmente acima de 30°C, podem levar a perdas excessivas dos mesmos

(MORAIS, 2009). O menor teor e rendimento de óleo essencial das folhas em *L. angustifolia* pode estar relacionado as essas perdas, uma vez que, as temperaturas médias do ar que predominaram após a saída das plantas em câmara fria até a 8ª semana foram superiores a 25°C, com máximas superando os 40°C em vários momentos ao longo do cultivo (Figura 1).

Segundo La Bella et al. (2015), a *L. stoechas* é uma planta que tolera bem altas temperaturas. A espécie teve crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial satisfatórios, mesmo sem o tratamento com frio, sendo a exposição a temperatura do ar a 4°C±1°C por até 8 semanas, benéficos sobre a fitomassa das plantas e a produtividade de óleo essencial, com destaque para maior fitomassa de inflorescências e óleo essencial, para 4 semanas de vernalização. Em contrapartida, períodos prolongados de vernalização, acima de 8 semanas anteciparam o florescimento, porém, resultaram em menor crescimento, menos inflorescências e menor produtividade de óleo essencial de folhas e inflorescências.

A exposição à baixa temperatura por períodos prolongados (acima de 10 semanas na temperatura do ar de 4°C±1°C, é imprescindível para o florescimento da *L. angustifolia*. Contudo a espécie apresenta crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial sob cultivo subsequente, nas condições climáticas da região central do Rio Grande do Sul, insatisfatórios. Isso se deve provavelmente, porque temperaturas médias acima de 25°C, associadas a ocorrência de temperaturas elevadas após a exposição ao frio, prejudicaram o florescimento e o teor e rendimento de óleo essencial das folhas.

Referências Bibliográficas

AL-SHAHMANI, N. S. K.; AL-TUFAILI, A. K. H. The effect of gibberellin and tryptophan on some vegetative and qualitative characteristics of sweet basil. **Plant Archives**, v.20, n. 20, p. 1891-1894. 2020.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728. 2014. 13 Nov. 2018.

ADAMUCHIO, L. G. **pH do meio de cultura e agentes geleificantes na multiplicação in vitro de *Lavandula angustifolia* Miller**. 2015. 81p. Dissertação (Mestrado Área de concentração em Produção Vegetal) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ADAMUCHIO, L. G. DESCHAMPS, C.; MACHADO, M. P. Aspectos gerais sobre a cultura da Lavanda (*Lavandula* spp.). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 19, n. 4, p. 477-487, 2017.

- APROTOSOAIÉ, A. C. et al. Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry. **Phytochemistry Reviews**, v.4, p. 761-781, 2017.
- BALDINI, E. M. **Vernalização de duas cultivares de morango: produção e análise econômica**. 1997. 54f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BEUS, Dr. E. C. **Growing and marketing Lavender**. Farm the Northwest series Small Farms Team. Washington State University – Extension, 2005.
- BENABDELKADER, T. et al. Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and invitro biological properties. **Chem Biodivers**, v.8, p. 937–953, 2011.
- COOPER, P. I. The absorption of radiation in solar stills. **Solar Energy**, Nedlands, v. 12, n. 3, p. 333-346, 1969.
- EL SHERIF, F.; S. KHATTAB. Effect of seed vernalization temperature, duration and planting date on growth and yield of Hibiscus sabdariffa plants. **Life Science Journal**, v.13, n. 6, p. 52-60, 2016.
- EL-MATWALLY, I. M.; EISA, E. S. Effect of the variation in vernalization temperature and gibberellic acid concentration on Coriander productivity. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 64, n. 12, p. 6935-6945, 2021.
- ERWIN, J. FACTORS Affecting Flowering in Ornamental Plants. In ANDERSON, N. O. **Flower breeding and genetics**, Springer, Dordrecht, 2007, p. 7-48.
- ESMAT, J. A. et al. Effect of vernalization on seed production of Onion. **Agriculture, Forestry and Fisheries**, v.2, p. 212- 217, 2013.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- FRESCURA et al. Nutrient solution concentration and collection time in phytomass production, content, yield and chemical composition of essential oil of Rosemary. **Journal Plant Nutr**, v.41, n. 10, p. 1293-1302, 2018.
- GEORGIEVA, R. et al. Investigation of Some Agricultural Performances of Lavender Varieties. **Journal of Agricultural Science**, v. 31, n. 1, p. 170-178, 2021.
- GUPTA, S. et al. Encapsulation: entrapping essential oil/flavors/aromas in food. **Encapsulations**, v.2, p. 229-268, 2016.
- HIROSI, O. Results of experiments on the vernalization of medicinal and oil plants. **Agrobiologia**, n.3, p. 427-439, 1960.
- HORNOK, L. The effect of sowing date on the yield and essential oil content of coriander (*Coriandrum sativum*). **Herba Hungarica**, v. 15, p. 55–62, 1976.

- KOSHIOKA, M. et al. Florigenic Effect of Gibberellin on Flowering According to Period of Chilling Treatment in *Lavandula × intermedia*. **The Horticulture Journal Preview**, v. S/n. 2016.
- KUBOTA, S. et al. *Lavandula x intermedia* is a Vernalization type plant. **Agricultural Research Quarterly**, v.44, n.1, p. 67-72, 2010.
- LA BELLA, S. et al. Composition and Variability of the Essential Oil of the Flowers of *Lavandula stoechas* from Various Geographical Sources. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 11, 2015.
- LORENZI, H; SOUZA, H. M. DE. **Plantas ornamentas do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4 ed. Nova Odessa: Instituto de estudo da flora, 2008, 1123p.
- MARTINS, R. P. et al. Chemical characterization of *Lavandula dentata* L. essential oils grown in Uberaba-MG. **Ciência Rural**, v.49, n.8, e20180964, 2019.
- MONAGHAN, J. M.; WURR, D. C. E.; FELLOWS, J. R. The effects of temperature and lighting on flowering of lavender (*Lavandula angustifolia* 'Hidcote'). **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.79, n.5, p. 811-817, 2004.
- MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. Cap.9, p. 139-152.
- RIBEIRO, P. G. F.; DINIZ, R. C. **Plantas Aromáticas e medicinais: cultivo e utilização**. Londrina: IAPAR, 2008, 218p.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed. 2017, 463p.
- THOMAS, B.; VINCE-PRUE, D. **Photoperiodism in Plants**, 2 ed. Academic Press, New York, N.Y., 1997, p. 428.
- TUTTOLOMONDO, T. et al. Agronomical evaluation of Sicilian biotypes of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* and analysis of the essential oils. **Journal of essential oil research**, v. 27, n.2, p. 115-124, 2015.
- UPSON, T.; ANDREWS, S. **The Genus *Lavandula***. Kew (Royal Botanic Gardens): Timber Press, 2004, 442p.
- URWIN, N.A.R.; MAILER, J. Oil Content and fatty acid profiles of seed oil from the genus *Lavandula*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.85, p.491-492, 2008.
- VERMA, R. S. et al. Essencial oli composition of *Lavandula angustifolia* Mill. Cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. **Journal of the Serbian Chemical Society**, Uttarakhand, v.75, p. 343-348, 2010.
- WHITMAN, C. M. et al. Cold treatments, photoperiod, and forcing temperature influence flowering of *Lavandula angustifolia*. **HortScience**, v.31, n.7, p. 1150–3, 1996.

5 - ARTIGO 3

CITOGENOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LAVANDULA* SPP. SOB APLICAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA₃

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antiproliferativo e genotóxico do óleo essencial de duas espécies de *Lavandula* (*L. stoechas* e *L. angustifolia*), expostas a diferentes concentrações de GA₃, sobre o material genético de *Allium cepa* L. O óleo essencial foi extraído das inflorescências e folhas, que sofreram aplicação de 0, 100, 200, 400 e 600 mg L⁻¹, de GA₃ na concentração de 0,05%. Os bulbos de *A. cepa* foram enraizados em água destilada e posteriormente, colocados nos tratamentos por 24 horas. As radículas foram coletadas e fixadas em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por mais 24 horas. A preparação das lâminas foi realizada pela técnica do esmagamento e o material corado com orceína acética 2%, sendo analisadas 4000 células por tratamento. Foram calculados o índice mitótico e o número de alterações cromossômicas para determinar o efeito antiproliferativo e genotóxico, respectivamente. Os dados foram analisados pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Todos os tratamentos na concentração 0,05%, exceto o OE inflorescências de *L. stoechas* em 600 mg L⁻¹ de GA₃, apresentaram efeito proliferativo e genotóxico.

Palavras-chaves: *Allium cepa* L. Alterações cromossômicas. Índice mitótico. *Lavandula stoechas*. *Lavandula angustifolia*.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antiproliferative and genotoxic effect of the essential oil of two species of *Lavandula* (*L. stoechas* and *L. angustifolia*), exposed to different concentrations of GA₃, on the genetic material of *Allium cepa* L. The essential oil was extracted from the inflorescences and leaves, which were applied (0, 100, 200, 400 and 600 mg L⁻¹) at a concentration of 0.05%. The bulbs of *A. cepa* strain were rooted in distilled water and then placed in the treatments for 24 hours. The radii were collected and fixed in Carnoy 3:1 solution (ethanol: acetic acid) for a further 24 hours. The preparation of the blades was performed by the crushing technique and the material was colored with acetic orcein 2%, and 4000 cells were analyzed per treatment. The mitotic index and a number of chromosomal changes were calculated to determine the antiproliferative and genotoxic effects, respectively. The data were analyzed by the Skott-Knott test at a 5% probability of error. All treatments at 0.05% concentration except OE inflorescences of *L. stoechas* in 600 mg L⁻¹ GA₃ had a proliferative and genotoxic effect.

Keyword: *Allium cepa* L. Chromosomal alteration. Mitotic index. *Lavandula stoechas*. *Lavandula angustifolia*.

Introdução

Lavanda (*Lavandula* spp.) é conhecida e utilizada há muito tempo devido suas propriedades medicinais, mas principalmente pelo seu aroma e ação calmante (GNATTA, 2016). É amplamente difundida pelo mundo e utilizada in natura na forma de chás e na composição de uma gama de produtos terapêuticos, cosméticos e perfumaria. As plantas do gênero *Lavandula* pertencem à família das Lamiaceae. As espécies do gênero são arbustos ou subarbustos perenes, de caule lenhoso, inflorescências em espigas terminais simples ou ramificadas de diferentes cores, folhas opostas, simples, inteiras, dentadas, pinadas ou bipinadas (MCNAUGHTON, 2006; PLATT, 2009).

Suas principais ações terapêuticas são anti-inflamatórias, antioxidante, carminativas, sedativas, espasmódicas, diuréticas e estimulantes. Combate a acne, cólicas, flatulência, enjoos, insônia, gripe, asma, bronquite, dor de cabeça, tontura e reumatismo (WELLS et al., 2018). O óleo essencial é muito utilizado na Aromaterapia e massagens, no tratamento de problemas digestivos, musculares, depressivos, insônia e ansiedade (CUNHA et al., 2012; AMARAL e SILVA, 2015; OZLU e BILICAN, 2017; ANTONELLI e DONELLI, 2020). Tais benefícios são encontrados de forma in natura nas folhas e flores e no óleo essencial, que apresenta grande valor comercial.

A partir do óleo essencial, são produzidos cosméticos, fitoterápicos, perfumes finos, medicamentos, diversos produtos de higiene geral, como também, vinagres, aromatizantes para bebidas, produtos para a panificação, confeitarias, sobremesas, gelatinas, condimentos e conservante de alimentos (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

A lavanda é cultivada em larga escala no sistema convencional de produção, principalmente em países europeus que dominam a produção mundial. No Brasil o cultivo está restrito há poucas propriedades familiares de menor produção, destinada principalmente a fins turísticos (ADAMUCHIO et al., 2017).

O cultivo incipiente e a falta de conhecimentos básicos sobre a produção de espécies de lavanda para uma determinada região, faz com que muitos produtores não consigam obter os resultados esperados de qualidade do óleo essencial, sendo seu destino para a indústria, diretamente relacionado a sua composição química. A indústria, em geral, é extremamente exigente, principalmente a indústria de perfumaria, e os produtores que não alcançam o padrão de qualidade exigido pela indústria, ficam de fora e acabam, muitas vezes, abandonando o cultivo da espécie (ADAMUCHIO et al., 2017).

A falta de conhecimentos básicos e práticas para a produção de lavanda no Brasil,

demonstra a necessidade de estudos com a cultura, uma vez que o Brasil possui uma grande diversidade de clima e solo, influenciando no desenvolvimento, adaptação e no metabolismo secundário das plantas aromáticas e medicinais (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

A idade das plantas, variações sazonais, nutrição, temperatura, e fitormônios, influenciam diretamente sobre os processos fisiológicos e vias bioquímicas das plantas, alterando o metabolismo e contribuindo sobre a biossíntese e composição química dos óleos essenciais (SANGWAN et al., 2001).

No cultivo convencional de espécies ornamentais e de maneira geral, o uso de produtos hormonais que visam potencializar e facilitar diversos processos, é normalmente empregado, e um deles é a utilização do ácido giberélico (GA₃). O uso de GA₃ sobre as plantas pode agregar sobre a expansão celular, alongamento do caule, indução floral, além de participar no processo de germinação de sementes, desenvolvimento de frutos, produtividade das plantas e qualidade do óleo essencial (SHUKLA e FAROOQI, 1990), sugerindo melhorias sobre os sistemas de cultivo e novas possibilidades a serem exploradas.

Ainda, as plantas medicinais podem apresentar substâncias potencialmente perigosas e agressivas, constituintes químicos provenientes do metabolismo secundário que podem ser potencialmente mutagênicos ou carcinogênicos (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Existe uma carência de informações sobre o potencial tóxico do óleo essencial para uma gama de espécies de lavanda e menos ainda, quando submetidas a aplicação de hormônios vegetais ao longo do cultivo. Testes de plantas tem sido utilizados de forma eficiente para elucidar e avaliar o potencial citogenotóxico de extratos vegetais e óleo essenciais, especialmente o teste *Allium cepa*, excelente modelo in vivo, onde as raízes crescem em contato direto com a substância em análise.

Sendo assim, o presente estudo objetivou avaliar a atividade antiproliferativa e genotóxica do óleo essencial de espécies de *Lavandula* spp. expostas a aplicação de concentrações de GA₃ ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no campo experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS (latitude: 29° 43' S, longitude: 53° 43' W e altitude: 95 m). Segundo a classificação de Köppen e considerando a série centenária de dados meteorológicos, o clima da região que inclui Santa Maria é do tipo Cfa, descrito como,

subtropical úmido com verões quentes e sem estação seca definida. O solo do local é um Argissolo Vermelho Distrófico arênico, pertencente a unidade de mapeamento São Pedro (STRECK et al., 2008).

A produção das mudas de *L. angustifolia* foi conduzida em casa de vegetação no Setor de Horticultura da Universidade Federal de Santa Maria – RS. O material vegetal utilizado foi obtido de matrizes procedentes do próprio setor. As mudas de *L. stoechas* foram provenientes do setor de produção de mudas do Le Jardin parque de Lavanda – região metropolitana de Gramado –RS. Ambas as espécies foram propagadas via estaquia a partir do uso de ramos com 5 a 10 cm de comprimento e 2 a 3 pares de folhas na região apical submetidas a irrigação por aspersores a cada 15 minutos até atingir enraizamento satisfatório. As mudas foram enraizadas em bandejas de isopor com 200 células contendo substrato comercial MaxFertil®.

O experimento foi organizado no delineamento de blocos ao acaso, em esquema bifatorial, sendo testados os fatores espécies de *Lavandula* (*L. stoechas* e *L. angustifolia*) e cinco concentrações de ácido giberélico, (100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹, 400 mg L⁻¹, 600 mg L⁻¹ e 0 mg L⁻¹ como controle com a aplicação de água), com quatro repetições. O plantio das mudas ocorreu em 8 de agosto de 2019, quando as mudas estavam com 60 dias, medindo mais de 8 cm de altura.

Cada unidade experimental contou com três fileiras de 4 plantas espaçadas a 0,60 m entre plantas na linha e 0,50 m entre linha. As concentrações de GA₃ foram preparadas com o produto comercial Pro-gibb®- 10% GA₃, diluído em álcool, e posteriormente acrescentado, água. Trinta dias após o transplantes das mudas, quando estas apresentavam-se na fase vegetativa, efetuou-se a aplicação de GA₃ com auxílio de um pulverizador manual de 3 litros, pulverizando-se as plantas por inteiro, até atingir o ponto de escorrimento e em torno de 90 dias depois desta, foi realizada uma segunda aplicação de GA₃ sobre as plantas.

A colheita das inflorescências ocorreu nas duas plantas centrais, quando mais de 50% das inflorescências das hastes estavam em proporções iguais de pré-antese e antese (BEUS, 2005). Ao todos, foram realizadas quatro colheitas, e posteriormente o desbaste das plantas, momento que foi realizada a coleta de folhas. Para a espécie *L. angustifolia*, não houve inflorescências suficientes para a extração de óleo essencial.

Após a colheita, as inflorescências e folhas foram pesadas em balança de precisão com resolução de 0,001 g, embaladas e armazenadas em freezer a -4°C, até a extração do óleo essencial. A extração do óleo essencial foi realizada no laboratório de Biometria do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), através do aparelho tipo Clevenger, pelo processo de hidrodestilação. Para a extração, foram preparadas

quatro amostras de 30 gramas de folhas e inflorescências de cada tratamento, constituindo, assim, quatro repetições.

O óleo essencial foi diluído em etanol a uma concentração de 0,05%, para a avaliação do seu efeito genotóxico e antiproliferativo sobre o material genético de *Allium cepa*. O teste foi realizado no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade do Departamento de Biologia da UFSM. Foram utilizados 18 grupos de quatro bulbos de cebola, ou seja, 18 tratamentos com quatro repetições cada (Tabela 1). Dos 18 tratamentos, três consistiram os controles positivo (glifosato – 2%), controle negativo (água destilada) e etanol, no qual o óleo essencial foi diluído.

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos utilizados na avaliação da cito e genotoxicidade do óleo essencial (OE) de *Lavandula stoechas* e *Lavandula angustifolia*, pelo teste de *Allium cepa*

Tratamento	Descrição do tratamento
T1	Controle positivo (glifosato 2%)
T2	Controle negativo em água destilada
T3	Controle negativo em etanol
T4	0,05% OE inflorescências <i>L. stoechas</i> - 0 mg L GA ₃
T5	0,05% OE inflorescências <i>L. stoechas</i> - 100 mg L GA ₃
T6	0,05% OE inflorescências <i>L. stoechas</i> - 200 mg L GA ₃
T7	0,05% OE inflorescências <i>L. stoechas</i> - 400 mg L GA ₃
T8	0,05% OE inflorescências <i>L. stoechas</i> - 600 mg L GA ₃
T9	0,05% OE folhas <i>L. stoechas</i> - 0 mg L GA ₃
T10	0,05% OE folhas <i>L. stoechas</i> - 100 mg L GA ₃
T11	0,05% OE folhas <i>L. stoechas</i> - 200 mg L GA ₃
T12	0,05% OE folhas <i>L. stoechas</i> - 400 mg L GA ₃
T13	0,05% OE folhas <i>L. stoechas</i> - 600 mg L GA ₃
T14	0,05% OE folhas <i>L. angustifolia</i> - 0 mg L GA ₃
T15	0,05% OE folhas <i>L. angustifolia</i> - 100 mg L GA ₃
T16	0,05% OE folhas <i>L. angustifolia</i> - 200 mg L GA ₃
T17	0,05% OE folhas <i>L. angustifolia</i> - 400 mg L GA ₃
T18	0,05% OE folhas <i>L. angustifolia</i> - 600 mg L GA ₃

OE= óleo essencial
Fonte: próprio autor.

Os bulbos de cebola foram colocados para enraizar por aproximadamente 48 horas em água destilada. Após, foram mantidas em contato com os tratamentos (Tabela 1), por 24 horas. Passado as 24 horas, as raízes foram cortadas e transferidas para o fixador etanol: ácido acético (3:1) por 24 horas, e por fim, acondicionadas em recipientes com etanol 70% e mantidas sob refrigeração até o preparo das lâminas para análise da citogenotoxicidade.

As lâminas foram preparadas pela técnica do esmagamento (GUERRA e SOUZA, 2002) e o material corado com orceína acética 2%. As lâminas foram analisadas sob microscópio ótico com aumento de 40X. Foram analisadas ao todo 4000 células por tratamento, sendo o índice mitótico (IM) calculado a partir do número de células em divisão, dividido pelo número total de células analisadas. O índice genotóxico (IG), a partir do número de alterações cromossômicas encontradas, (células binucleadas, quebras, desorganizações e pontes cromossômicas), dividido pelo número total de células analisadas. Ambos os resultados foram multiplicados por 100, para a transformação em porcentagem dos valores.

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F, e em seguida as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro pelo programa estatístico SISVAR®, versão 5.3 (FERREIRA, 2014).

Resultados e Discussão

No presente trabalho observou-se que todos os tratamentos de OE das folhas e inflorescências das duas espécies de *Lavandula* spp., exceto T8 (0,05% OE inflorescências *L. stoechas* – 600 mg L⁻¹ de GA₃, IM= 2,00%), diferiram estatisticamente de T2 (controle negativo – água destilada, IM= 1,40%), demonstrando efeito proliferativo sobre as células meristemáticas das pontas de raízes de *A. cepa* (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de células meristemáticas de *Allium cepa* analisadas nos diferentes tratamentos com óleo essencial de *Lavandula* spp. e seus respectivos índices mitóticos e índices genotóxicos, células em interfase, em divisão celular e com irregularidades

(continua)						
Tratamento	Total de células analisadas	Células em interfase	Células em divisão	Células com alterações cromossômicas	IM (%)	IG (%)
T1	4000	3944	56	29	1.40 d	0.73 b*
T2	4000	3946	54	0	1.35 d	0.00 d
T3	4000	3927	73	8	1.83 d	0.20 d
T4	4000	3825	175	27	4.38 b	0.68 b
T5	4000	3857	143	29	3.58 c	0.73 b
T6	4000	3865	135	18	3.38 c	0.45 c
T7	4000	3864	136	16	3.40 c	0.40 c
T8	4000	3909	91	23	2.00 d	0.58 c
T9	4000	3887	113	23	3.23 c	0.58 c
T10	4000	3808	192	39	4.80 b	0.98 a
T11	4000	3789	211	37	5.28 a	0.93 a

(conclusão)

Tratamento	Total de células analisadas	Células em interfase	Células em divisão	Células com alterações cromossômicas	IM (%)	IG (%)
T12	4000	3825	175	33	4.38 b	0.83 a
T13	4000	3779	221	29	5.53 a	0.73 b
T14	4000	3834	166	30	4.15 b	0.75 b
T15	4000	3803	197	26	4.93 a	0.65 b
T16	4000	3789	211	37	5.28 a	0.93 a
T17	4000	3781	219	26	5.48 a	0.65 b
T18	4000	3787	213	30	5.33 a	0.75 b

Abreviaturas: T1: controle positivo (glifosato 2,0%); T2: controle negativo (água destilada); T3: controle negativo (etanol); T4: 0,05% OE inflorescências *L. stoechas* - 0 mg L⁻¹ GA₃; T5: 0,05% OE inflorescências *L. stoechas* - 100 mg L⁻¹ GA₃; T6: 0,05% OE inflorescências *L. stoechas* - 200 mg L⁻¹ GA₃; T7: 0,05% OE inflorescências *L. stoechas* - 400 mg L⁻¹ GA₃; T8: 0,05% OE inflorescências *L. stoechas* - 600 mg L⁻¹ GA₃; T9: 0,05% OE folhas *L. stoechas* - 0 mg L⁻¹ GA₃; T10: 0,05% OE folhas *L. stoechas* - 100 mg L⁻¹ GA₃; T11: 0,05% OE folhas *L. stoechas* - 200 mg L⁻¹ GA₃; T12: 0,05% OE folhas *L. stoechas* - 400 mg L⁻¹ GA₃; T13: 0,05% OE folhas *L. stoechas* - 600 mg L⁻¹ GA₃; T14: 0,05% OE folhas *L. angustifolia* - 0 mg L⁻¹ GA₃; T15: 0,05% OE folhas *L. angustifolia* - 100 mg L⁻¹ GA₃; T16: 0,05% OE folhas *L. angustifolia* - 200 mg L⁻¹ GA₃; T17: 0,05% OE folhas *L. angustifolia* - 400 mg L⁻¹ GA₃; T18: 0,05% OE folhas *L. angustifolia* - 600 mg L⁻¹ GA₃.

IM = índice mitótico. IG = índice genotóxico.

*Números seguidos de letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-knott (p < 0,05).

Os tratamentos T1 (controle positivo - glifosato - 2%, IM= 1,40%) e T3 (controle negativo - etanol, IM= 1,83%), não diferiram estatisticamente de T2 (controle negativo - água destilada, IM= 1,40%). Apesar de não terem sido observados um grande número de células em divisão celular e alterações cromossômicas em T1, as células em interfase neste tratamento, apresentaram-se pequenas e de formato irregular, confirmando que o glifosato é uma substância causadora de irregularidades. As alterações cromossômicas encontradas no controle negativo em etanol têm relação com a desnaturação ou modificação de proteínas fundamentais na síntese de DNA (RIEGER e MICHAELIS, 1960).

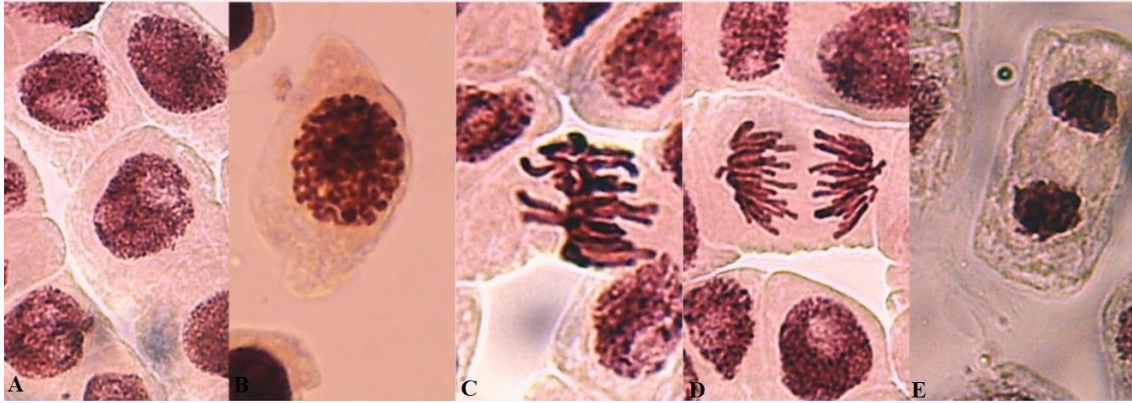
Os tratamentos T11 e T13 (0,05% OE folhas *L. stoechas* em 200 e 600 mg L⁻¹ GA₃ com IM= 5,28% e 5,53%, respectivamente) e T15, T16, T17 e T18 (0,05% OE folhas *L. angustifolia* a 100, 200, 400 e 600 mg L⁻¹ de GA₃ com IM= 4,93, 5,28, 5,48 e 5,33% apresentaram maior atividade proliferativa (Tabela 2).

Todos os tratamentos de OE das folhas das duas espécies de lavanda, exceto T9 (0,05% OE Folhas de *L. stoechas* a 0 mg L⁻¹ GA₃), diferiram estatisticamente de todos os tratamentos na mesma concentração de OE das inflorescências de *L. stoechas*, se mostrando, portanto, mais proliferativos.

O efeito genotóxico foi avaliado pela quantificação e diferenciação das células normais (Figura 1) de alterações cromossômicas, tais como, células desorganizadas, quebras

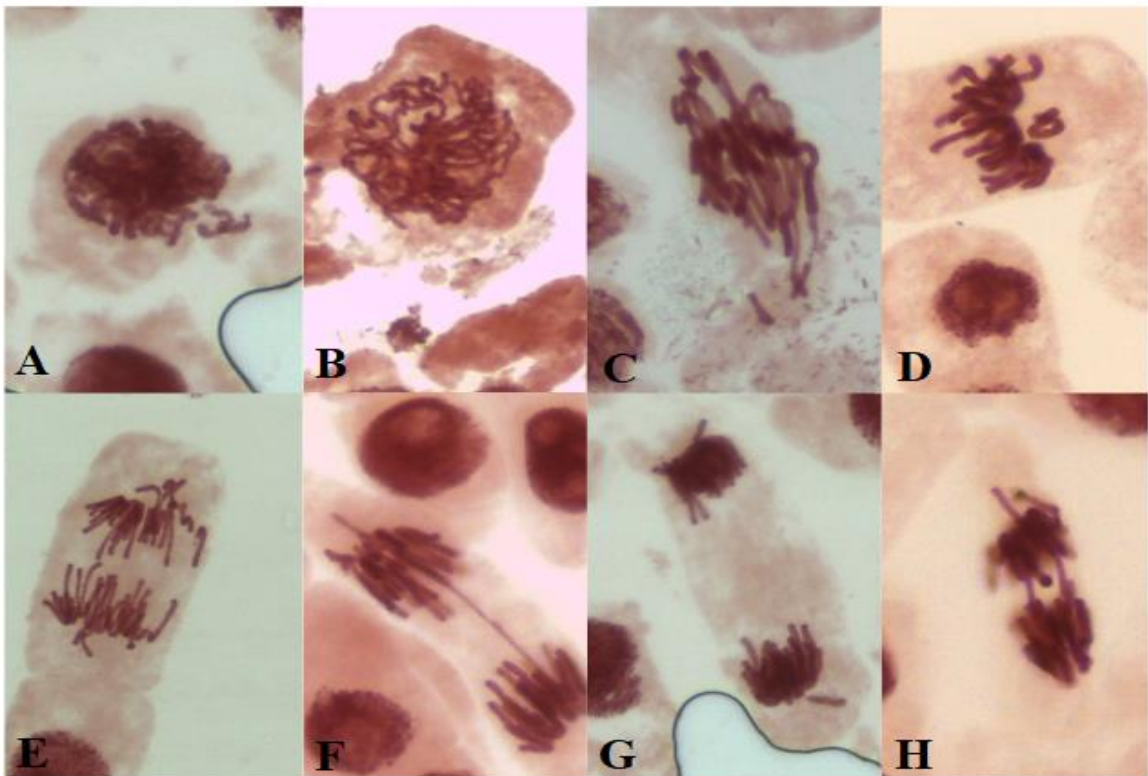
cromossômicas, cromossomos perdidos e células binucleadas (Figura 2).

Figura 1 - Fases da divisão celular observadas em células meristemáticas de raízes de cebola (*Allium cepa*) tratadas com óleo essencial de *Lavandula* spp. e visualizadas em microscópio óptico com aumento de 40x



A) Interfase; B) Prófase C) Metáfase; D) Anáfase; E) Telófase.
Fonte: próprio autor.

Figura 2 - Alterações cromossômicas em células meristemáticas das pontas de raízes de cebola (*Allium cepa*) tratadas com óleo essencial de lavanda (*Lavandula* spp.)



A) Prófase com quebra cromossômica; B) Prófase desorganizada; C) Metáfase desorganizada e cromossomo perdido; D) Metáfase com quebra cromossômica; E) Anáfase com quebra cromossômica; F) Anáfase com ponte cromossômica G) Telófase com quebra cromossômica; H) Telófase com micronúcleo e ponte cromossômica.
Fonte: próprio autor.

Todos os tratamentos, exceto T3 (controle negativo – etanol, IG= 0,20%) diferiram estatisticamente de T2 (controle negativo- água destilada com IG= 0%). Quando comparado com T1 (controle positivo – glifosato 2%, IG=0,73%), apenas os tratamentos T6, T7, T8 e T9 (0,05% OE nas concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹ do OE das inflorescências de *L. stoechas* e 0 mg L⁻¹ do OE das folhas de *L. stoechas*), apresentaram IG inferior, (IG= 0,45, 0,40, 0,58 E 0,58%, respectivamente) (Tabela 2).

Os demais tratamentos, não difeririam estatisticamente de T1 (controle positivo – glifosato – 2%) ou diferiram com IG superior. A maior atividade genotóxica, foi apresentada por T10, T11, T12 e T16 (0,05% OE a 100, 200 e 400 mg L⁻¹ das folhas de *L. stoechas* e 200 mg L⁻¹ das folhas de *L. angustifolia*, com IG= 0,98, 0,93, 0,83 e 0,93%, respectivamente) (Tabela 2).

As principais alterações cromossômicas encontradas foram quebras cromossômicas na metáfase (Figura 2D), seguido de pontes na anáfase (Figura 2F) e metáfase desorganizadas (Figura 2C), e em menor número, quebras cromossômicas na prófase e anáfase, prófases desorganizadas, pontes e quebras cromossômicas na telófase. Todos os tratamentos, exceto T2 e T3 (controles negativos – água destilada e etanol) apresentaram pelo menos uma vez estas alterações cromossômicas. Em média, 0,92% das células analisadas dos quatro tratamentos que obtiveram os maiores valores de IG (T10, T11, T12 e T16), apresentaram alterações cromossômicas, representando um baixo número. Apesar disso, é possível afirmar que o OE das folhas de *L. stoechas* e *L. angustifolia* é genotóxico.

Os óleos essenciais são misturas naturais complexas de 20-100 compostos, presentes em diferentes concentrações, caracterizados por alguns constituintes principais. Os efeitos biológico e propriedades terapêuticas dos óleos essenciais podem ser derivados de um dos compostos principais ou à mistura na totalidade (DJILAN e DICKO, 2012).

Os terpenos e terpenoides constituem os principais grupos de componentes presentes nos óleos essenciais do gênero *Lavandula* spp., sendo os óleos essenciais potenciais causadores de efeitos tóxicos em certas concentrações. Esses efeitos são atribuídos principalmente ao linalol, cânfora e acetato de linalila, alguns dos compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Lavandula* spp. Porém, de maneira geral, o óleo essencial de lavanda é considerado um óleo de baixa toxicidade (ETHUR et al., 2011).

O potencial genotóxico do óleo essencial de lavanda e seus principais componentes, linalol e acetato de linalila, foi avaliado in vitro em humanos periféricos proliferação de linfócitos. Na faixa de concentrações não tóxicas (0,5-100 µg/ml), o acetato de linalila exibiu um perfil de agente aneugênico (separação cromossomal anormal), enquanto o linalol não

apresentou genotoxicidade (DI SOTTO et al., 2011). Linalool, 1,8-cineol, borneol e cânfora, são os principais constituintes químicos encontrados no OE de *L. angustifolia* (EBADOLLAHI et al., 2014; EBADOLLAHI et al., 2020). Da mesma forma, Di Sotto et al. (2011) apontaram o efeito genotóxico do óleo essencial da *L. angustifolia* ao constituinte acetato de linalina e não ao conjunto de compostos químicos.

A cânfora, composto presente em maiores quantidades nas espécies *L. dentata* e *L. stoechas*, em determinadas concentrações, pode apresentar envenenamento e consequências graves, como convulsões, coma, insuficiência cardíaca, colapso circulatório e até a morte. A cânfora também tem propriedades abortivas (CHEN et al., 2013). Além da cânfora, são identificados a fenchona, α -pineno e o linalool como principais constituintes químicos presentes no OE dessas espécies, sendo os efeitos citotóxicos encontrados na literatura, atribuídos, ao linalool, cânfora e acetato de linalina.

Em um estudo com óleo essencial de *L. angustifolia*, Prashar et al. (2004), verificaram danos na membrana celular da pele humana e Sugiura et al. (2000), Thomson e Wilkinson, (2000), estudando extratos de lavanda e seus principais constituintes, linalol e acetato de linalina, verificaram dermatites de contato em pacientes com dermatites cosméticas.

Um estudo com plantas medicinais, consideradas fitoimunomoduladoras (ligadas ao sistema imunológico), como (*Arctium minus* (Hill) Bernh., *Ecballium elaterium* L., *Momordica charantia* L., *Plantago major* L., *Urtica dioica* L., *Viscum álbium* L., *Euphorbia rigida* e *Acteoside* e *Abies nordmannia*), algumas da família das Lamiaceae, (*Salvia triloba* e *Stachys lavandulifolia*), indicaram uma ação prejudicial ao DNA em linfócitos do sangue periférico humano in vitro (DURNEV e LAPITSKAIA, 2013). Ahmadi et al. (2021) verificaram citotoxicidade e genotoxicidade dose dependente em linfócitos humanos do extrato de *Ziziphora clinopodioides*, planta da família Lamiaceae. O índice de dano ao DNA foi elevado para as maiores concentrações do extrato testadas, com índice de dano na concentração de 10 mg/ml (2,22), 22 vezes maior que o controle negativo e controle positivo.

Para infusões em água de *Hyssopus officinalis* L., outra planta da família Lamiaceae, Dragoeva et al. (2010), também encontraram efeito genotóxico. Foram identificadas diferentes aberrações cromossômicas, como anáfases e telófases com pontes e fragmentos em maior frequência, seguido de anáfases com cromossomos vagantes e em menor frequência, metáfases com anormalidades no fuso.

Há um consenso de que devido à complexidade química dos óleos essenciais, é difícil associar sua atividade biológica com apenas uma substância química. Porém, quanto a genotoxicidade, estudos indicam que plantas que contém majoritariamente os compostos

linalol, acetado de linalina e cânfora, como as espécies *Lavandula* spp., a genotoxicidade estaria ligada a estes compostos, muito provavelmente, sob ação isolada. Contudo, é preciso ainda elucidar melhor os riscos associados ao uso do óleo essencial de *Lavandula* spp., tanto do conjunto dos compostos químicos, como dos isolados, uma vez que estes tendem a modificar qualitativamente e quantitativamente sob diferentes condições ambientais e de cultivos.

Esse estudo mostrou que OE de lavanda sob aplicação do fitormônio GA₃, na concentração de 0,05%, possui atividade proliferativa e genotóxica, embora apresente baixa genotoxicidade. As giberelinas (GAs) participam e regulam vários processos ao longo do ciclo de vida das plantas (KASHIWAQUI et al., 2019). As alterações fisiológicas provocadas pelo uso de GA₃ sobre o crescimento, florescimento, fotossíntese e expansão celular em plantas, podem levar ao aumento da atividade metabólica das plantas ocasionados pelo estresse e biossíntese de antocianinas (OHLSSON e BJÖRK, 1988; YUAN e XU, 2001; TAIZ et al., 2017).

Os reguladores de crescimento também atuam sobre o crescimento e biossíntese de terpenoides em plantas medicinais, o que pode resultar em efeitos significativos sobre as propriedades e conteúdo dos terpenóides em produção (SHUKLA et al., 1992), e, alterações quantitativas e/ou qualitativas no óleo essencial.

Os óleos essenciais de *Lavandula* spp., apresentaram efeito proliferativo, ou seja, aumentaram a divisão celular, principalmente nos tratamentos de 0,05% de OE das folhas de *Lavandula* spp. Além disso, os óleos essenciais demonstraram baixo efeito genotóxico, verificado pelas alterações cromossômicas visualizadas no teste de *A. cepa*.

Da mesma forma, outros resultados de citotoxicidade e genotoxicidade, tanto in vivo como in vitro, vem ao encontro dos resultados encontrados neste estudo, tanto para uma diversidade de plantas medicinais, como também para espécies de *Lavandula* spp., demonstrando a importância dessa investigação, de modo a obter cada vez mais respostas seguras quanto ao uso de plantas medicinais, independentemente dos benefícios que elas possam trazer.

Referências Bibliográficas

ABÍLIO, F. J. P.; WATANABE, T. Ocorrência de *Lymnaea columella* (*Gastropoda: Lymnaeidae*), hospedeiro intermediário da *Fasciola hepatica*, para o Estado da Paraíba, Brasil. **Revista Saúde Pública**, v.32, n.2, p. 448-56, 1998.

ADAMUCHIO, L. G.; DESCHAMPS, C.; MACHADO, M. P. Aspectos gerais sobre a

cultura da Lavanda (*Lavandula* spp.). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.19, n.4, p. 477-484, 2017.

AHMADI, A. et al. Phytochemical composition and in vitro safety evaluation of *Ziziphora clinopodioides* Lam. ethanolic extract: Cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity assessment. **Journal Ethnopharmacol**, v.266, p. 1-10, 2021.

AMARAL, D. C.; SILVA, E. M. Os efeitos da massagem relaxante associada a aromaterapia no tratamento da depressão. **Revista Cient do Unisalesiano**, v.6, n.13, 2015.

ANTONELLI, M.; DONELLI, D. Eficácia, segurança e tolerabilidade da massagem aromática com óleo essencial de lavanda: uma visão geral. **Int J Ther Massagem Carroçaria**, v. 36, n. 13, p. 32- 36, 2020.

BEUS, C. **Growing and Marketing Lavender**. Washington State University Extension, v.eb2005, p.1-28, 2006.

BIASI L. A.; DESCHAMPS C. **Plantas Aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer; 2009.

CHEN, W.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. Camphor: a fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon: a review. **Molecules**, v.18, n.5, p.5434–5454, 2013.

COSTA, A.V. et al. Efeito moluscicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) sobre *Lymnaea columella* (Say, 1817) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.14, n.4, p. 707-12, 2015.

CUNHA, A. P. et al. **Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Composição e Aplicações**, Lisboa, 2012, 678 p.

DI SOTTO, A. et al. Genotoxicity of lavender oil, linalyl acetate, and linalool on human lymphocytes in vitro. **Environ Mol Mutagen**, v. 52, p. 69–71, 2011.

DJILANI, A.; DICKO, A. **The therapeutic benefits of essential oils**, In: Nutrition, well-being and health, Bouayed J (ed), ISBN: 978-953-51-0125-3, InTech, Reuno Unido, 2012.

DRAGOEVA, A. P.; NANOVA, Z. D.; KALCHEVA, V. P. Allelopathic activity of micropropagated *Hyssopus officinalis* L., Lamiaceae, water infusions. **Revivista Brasileira Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 513-518, 2010.

DURNEV, A. D.; LAPITSKAYA, A. S. The genotoxicology of plant compounds. **Russian Journal Genetics Applied Research**, v.3, n.5, p. 388–398, 2013.

EBADOLLAHI, A. et al. Chemical Composition and Acaricidal Effects of Essential Oils of *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiales: Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiales: Lamiaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Hindawi Publishing Corporation Psyche**. p. 1-6. 2014.

EBADOLLAHI, A.; ZIAEE, M.; PALLA, F. Essential Oils Extracted from Different Species

of the Lamiaceae Plant Family as Prospective Bioagents against Several Detrimental Pests. **Molecules**, v.25, n.7, p. 1556, 2020.

ETHUR LZ, JOBIM JC, RITTER JG, OLIVEIRA G, TRINDADE BS. Comércio formal e perfil de consumidores de plantas medicinais e fitoterápicos no município de Itaqui – RS. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.13, p. 121-128, 2011.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.2, p. 109-112, 2014.

GNATTA, J. R. et al. Aromaterapia e enfermagem: concepção histórico-teórica. **Revista Escola Enfermagem USP**, v.50, n.1, p. 130-136, 2016.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 131p.

KASHIWAQUI, M. et al. Reguladores Vegetais: uma breve revisão sobre a giberelina. **Sodebras**, v.14, n. 166, p. 11-16, 2019.

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

OHLSSON, A. B.; BJÖRK, L. Effects of gibberellic acid on cardenolide accumulation by *Digitalis lanata* tissue cultures grown in light and darkness. **Journarl Plant Physiology**, v.133, p. 535-538, 1988.

OZLU, Z. K.; BILICAN, P. Effects of aromatherapy massage on the sleep quality and physiological parameters of patients in a surgical intensive care unit. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, v.14, n.3, v. 14, p. 83-88, 2017.

PLATT, E. S. **Lavender. How to grow and use the fragrant herb**. 2nd. Ed. Mechanicsburg PA: Stackpole books, 2009, 157p.

PRASHAR, A; LOCKE, I. C.; EVANS, C. S. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. **Cell Proliferation**, v.37, n.3, p. 221-229, 2004.

RIEGER, R.; MICHAELIS, A. Chromosomen aberrationen nach Einwirkung von Acetaldehyd auf Primärwurzeln von *Vicia faba*. **Biologisches Zentralblatt**, v.79, p. 1-5, 1960.

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

SHUKLA, A.; FAROOQI, A. H. A. E. Review article: Utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. **Current Research Medicinal & Aromatic Plants**, v.12, n. 3, p. 152-7, 1990.

SHUKLA, A.; et al. Effect of triacontanol and chlormequat on growth, plant hormones and artemisinin yield in *Artemisia annua* L. **Plant Growth Regulation**, v.11, p. 165-171, 1992.

SUGIURA, M. et al. Results of patch testing with lavender oil in Japan. **Contact Dermatitis**, v.43, n.3, p.157-60, 2000.

STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. EMATER/RS-ASCAR, Porto Alegre, Brasil, 2008. 222p.

TAIZ. L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

THOMSON, K. F.; WILKINSON, S. M. Allergic contact dermatitis to plant extracts in patients with cosmetic dermatitis. **British Journal of Dermatology**, v.14, n.2, p. 84-88, 2000.

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

YUAN; L.; XU, D. Q. Stimulation effect of gibberellic acid short-term treatment on leaf photosynthesis related to the increase in Rubisco content in broad bean and soybean. **Photosynth Research**. v.68, p.39-47, 2001.

WELLS, R. et al. *Lavandula* Essential Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food, and Cosmetic Industries of Lavender. **Natural Product Communications**, v.3, n.10, 2018.

6 ARTIGO 4

Cytogenotoxicity of the essential oil of *Lavandula* spp. cultivated under different periods of cold¹

Abstract. The objective of this study was to evaluate the antiproliferative and genotoxic effect of the essential oil of *Lavandula* species (*L. stoechas* L. and *L. angustifolia* Mill.), exposed to different cold periods, on the genetic material of *Allium cepa* L. The essential oil was extracted from the inflorescences and leaves, exposed to 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks of cold, at the concentration of 0.05%. *A. cepa* bulbs were rooted in distilled water and then placed in the treatments for 24 hours. Rootlets were collected and fixed in 3:1 Carnoy's solution (ethanol: acetic acid) for another 24 hours. Slides were prepared by the smashing technique and the material was stained with 2% acetic orcein, and 4000 cells were analyzed per treatment. The data were analyzed by the Skott-Knott test at 5% probability of error. The results showed that the essential oil of both *Lavandula* species has proliferative potential, except for the leaves of *L. stoechas*, exposed to 4 weeks of cold. For *L. stoechas*, only the essential oil from the leaves showed genotoxic activity from the 6th week of cold exposure, while for *L. angustifolia* the essential oil from the leaves showed genotoxic activity in all treatments.

Keywords: Lamiaceae, *Allium cepa*, chromosomal alterations, mitotic index.

¹Artigo científico organizado nas normas do periódico "Caryologia"

1. INTRODUCTION

Interest in the properties and uses of medicinal plants has been growing over the past few years (Wegener 2017, Dias et al. 2018). Such interest is justified by the great diversity of medicinal plants and herbal medicines and their biological properties applicable to various areas. Among the main families of medicinal plants producing essential oil is the family Lamiaceae with about 300 genera and approximately 7500 species (Lorenzi and Souza 2008).

The genus *Lavandula* belongs to this family and contains about 39 species divided into three subgenera, *Lavandula*, *Fabrica* and *Sabaudia*, plus several hybrid varieties. The genus *Lavandula* also involves sections of plants with distinct characteristics, originating from different regions of the world, these being *Lavandula* (Mediterranean region), *Stoechas* (Mediterranean), *Dentata* (Mediterranean, Micronesia, and southern Arabia), *Chaeostachys* (India) and *Subnuda* (Arabia and Africa) (Upson and Andrews 2004).

Lavandula spp. plants have essential oil with anti-inflammatory, antispasmodic, carminative, diuretic, sedative, antibacterial, antifungal properties and are used worldwide for folk medicine and pharmacology (Biasi and Deschamps 2009, Kashani et al. 2011, Sienkiewicz et al. 2011, Marincas and Feher 2018).

The essential oil extracted mainly from the flowers is widely used by the industry of pharmaceuticals, perfumes, cosmetics among others, utopically or by inhalation for the treatment of insomnia, anxiety, rheumatic pains, burns or even in folk medicine, without scientific substantiation from infusions of flowers and leaves, consumed in the form of teas, baths and in cooking (Biasi and Deschamps 2009, Cheraghbeigido et al. 2019, Donelli et al. 2019).

However, products derived from medicinal plants should be used with caution, as indiscriminate and popular consumption can negatively affect the health of consumers (Hister et al. 2017). Thus, toxicity and mutagenicity studies can contribute to safer and more effective use of these products.

To ensure more confidence in the use of essential oils, the use of bioassays can be made, such as the example of the *Allium cepa* test, a bioindicator of changes in the genetic material of onion root tip cells. The test is validated by the International Program for Chemical Safety (IPCS, WHO) (Cabrera Rodrigue, 1999) and is a quick, easy, and low-cost method. Furthermore, studies performed in conjunction with in vitro testing with rat bone marrow cells or human lymphocytes have obtained similar responses to the test with *A. cepa* (Teixeira et al. 2003, Tedesco and Laughinghouse 2012).

The therapeutic properties of essential oils depend on the chemical composition of essential oils, originating from the secondary metabolism of plants, and genetic factors, environmental factors such as temperature, light, humidity, water availability among others and management, can alter quantitatively and qualitatively its composition, (Sangwan et al. 2001, Gobbo-Neto and Lopes 2007) and thus have effects on target organisms. Furthermore, it is of fundamental importance to know the influence of the essential oil from a larger number of Lavender species and different plant organs on the cell cycle and genetic material of *A. cepa*.

Therefore, the present study aimed to evaluate the antiproliferative and genotoxic activity of the essential oil from *Lavandula* spp. species exposed to different cold periods at the beginning of the plant development cycle.

2. MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted in the Department of Plant Science of the Federal University of Santa Maria (UFSM), in a shelter covered with 100 µm thick anti-UV additive polyethylene, between August 2020 and July 2021. According to Köpen's classification, the region's climate is humid subtropical "Cfa" (abundant and well distributed precipitation throughout the year) (Buriol et al. 2006).

Seedlings of two species of Lavender (*L. stoechas* L. and *L. angustifolia* Mill.) were propagated by cuttings from parent plants in the Horticulture Sector of the Department of Plant Science at UFSM. Branches with 5 to 10 cm in length and 2 to 3 pairs of leaves were removed from the apical region and submitted to intermittent irrigation until satisfactory rooting was achieved. Afterwards, the plants were subjected to a refrigeration chamber in the Sector of Fruit Culture of the Department of Plant Science at UFSM at a constant temperature of $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Monaghan et al. 2004) and photoperiod of 12 h. The plants remained for 0, 2, 6, 8, 10 and 12 weeks in a cold chamber, and after the end of each corresponding period, they were transplanted into polypropylene pots with 3 dm³ capacity filled with commercial MacPlant® substrate. The plants received nutrient solution through drip tape based on Frescura et al. (2018) for rosemary (*Salvia rosmarinus* Spenn.), synonym *Rosmarinus officinalis* L. culture with up to 8 daily fertirrigations every 15 minutes on days of greater water requirement.

The experimental design was entirely randomized with six repetitions, seven cold exposure periods (0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks in cold storage) and two Lavender species (*L. angustifolia* and *L. stoechas*). The collection of inflorescences occurred manually every 15 days from the beginning of flowering, totaling single samples and at the end of flowering of all

treatments, a pruning of the plants was carried out with the collection of leaves that were stored in a freezer at -4°C until at the time of essential oil extraction.

The essential oil was extracted from the inflorescences and leaves in the UFSM Biometry Laboratory using a hydro distillation process with a Clevenger apparatus for 2 hours from the beginning of boiling. Four samples of 50 g of inflorescences and 50 g of leaves were used for each treatment. For *L. angustifolia* the extraction occurred only from the leaves of the plants because the fresh mass of inflorescence obtained was insufficient to extract the essential oil.

The essential oil was diluted in ethanol at a concentration of 0.05% to evaluate the genotoxic and antiproliferative effect on the genetic material of *A. cepa*. Twenty-four groups of four bulbs, each corresponding to a treatment, were placed for rooting in distilled water. After rooting, on average 72 hours, one group remained in distilled water, another group was placed in 2% glyphosate solution and the others were transferred to the essential oil dilutions of each treatment. The distribution of the treatments was done as follows (Table 1):

Onion bulbs were left in the treatments for 24 hours at room temperature. After the treatment period, rootlets (including controls) were collected, fixed in ethanol: acetic acid (3:1) for 24 hours and then stored in 70% ethanol under refrigeration. To make the slides, acetic orcein was used as a stain for the genetic material, following by the modified squashing technique (Guerra and Souza 2002).

The technique consists of hydrolyzing the roots in 1N hydrochloric acid (HCl) for seven minutes, with subsequent washing of the roots in distilled water. The roots were then relocated on a histological slide and with the help of tweezers and a needle the root meristematic region was detached, which in turn was stained with a drop of 2% acetic orcein and squashed.

The slides were analyzed under the microscope at 40X magnification, and two slides were prepared for each treatment group (repetitions). Five hundred cells per slide were analyzed, totaling 1000 cells per bulb and 4000 cells per treatment.

The mitotic index (MI) was calculated from the number of dividing cells (prophase, metaphase, anaphase, and telophase) divided by the total number of cells observed. The genotoxic index (GI) was calculated from the number of cells with chromosomal changes (bridges in anaphase and telophase, disorganized metaphases and prophases, lost chromosome fragments, among others), divided by the total number of cells. Both results were multiplied by 100 to obtain the results in percentages.

The data were submitted to variance analysis using the F test, and the differences between the means of the variables were compared using the Scott-Knott test at 5% probability of error with the aid of the SISVAR® program.

3. RESULTS

Table 2 presents the total number of cells analyzed, the observed number of cells in interphase, in different stages of cell division, cells with chromosomal changes, and the values of mitotic and genotoxic indices.

Essential oils are a complex mixture of several chemical compounds that interact or act predominantly and/or in isolation and characterize a biological activity. The proliferative or antiproliferative effects are some of them, being important commercial parameters, because they indicate the activity of cell division, which can be inhibited, or else triggered, and can decrease or increase the formation of malignant tumors, for example (Panathur et al. 2013).

All treatments, except T11 (0.05% OE leaves *L. stoechas* - 4 weeks cold storage) and T1 (positive control - glyphosate 2%), differed statistically from T2 (negative control - distilled water), indicating proliferative activity of the cells, since MI increased. Treatment T15 showed the highest MI value = 5.28% (Table 2).

In general, the essential oil of flowers and leaves of *Lavandula* spp. exposed to different cold periods showed to be proliferative in the concentration of 0.05%. For the essential oil from *Lavandula stoechas* inflorescences at a concentration of 0.05% (T4 to T10), in addition to being proliferative (when compared to distilled water), they did not differ statistically.

As for *L. stoechas* leaves, besides being proliferative, except for T13 (0.05% OE leaves *L. stoechas* - 4 weeks of cold), (IM = 1.30%), which did not statistically differ from T2 (negative control - distilled water) (IM = 1.40%), showing no antiproliferative activity, the treatments T11, T15 and T16, (0.05% OE leaves at 0, 8 and 10 weeks of cold, respectively), showed greater cell division, not differing from each other.

The OEs of *Lavandula angustifolia* leaves treated with different cold periods, at 0.05% concentration, similarly showed proliferation (T17 to T24), however, a decrease in MI was observed as there was an increase in cold exposure time, being T22, T23 and T24 with (MI= 2.15%, 2.15% and 2.13%, respectively), differing from the other treatments.

The genotoxic potential was determined by comparing cells with chromosomal changes and cells with normal chromosomes. Cells in interphase and in cell division were found to have the presence of chromosomal irregularities of the binucleated-type (Figure 1a and 1j), chromosome breaks (Figure 1b, 1c, 1d and 1e), disorganization of chromosomes, (Figure 1c, 1f, 1g and 1h) and chromosome bridges (Figure 1i and 1j). Chromosomal alterations were found in all treatments except T2 (positive control - distilled water).

Although T1 (positive control - glyphosate 2%), did not differ statistically from T2

(negative control - distilled water), not as expected, it is known that glyphosate is a substance that causes mutations, and the cells in interphase observed in this treatment, were small and irregularly shaped. The chromosomal changes found in the negative control in ethanol are related to the denaturation or modification of key proteins in DNA synthesis (Rieger and Michaelis 1960).

The chromosomal changes that most occurred were anaphase bridges, followed by metaphase and prophase chromosome breaks and metaphase chromosome disorganization. The chromosomal bridges arise from breaks and fusions of chromatids or chromosomes, chromosome adhesion, defects in the degradation of the cohesion complex as well as DNA repair, chromosome fusion triggered (Eminovicet et al. 2016, Pampalona et al. 2016).

Treatments T4 to T13 (Table 2), which consisted of all treatments of essential oil from *L. stoechas* inflorescences and treatments T11, T12, T13, which consisted of the three shortest periods of exposure to cold (0, 2 and 4 weeks of cold, respectively) of essential oil from *L. stoechas* leaves at a concentration of 0.05%, showed no statistical difference from T2 (negative control - distilled water), indicating no genotoxic activity. However, with increasing cold exposure to the plants, the essential oil from leaves of *L. stoechas* at concentration 0.05%, corresponding to treatments T14, T15 and T16 (8, 10 and 12 weeks of cold, respectively), showed genotoxic activity (GI = 1.23%, 1.30% and 0.93%, respectively), differing statistically from both controls T1 and T2 (positive control - glyphosate 2% and negative control - distilled water, respectively).

For the essential oil treatments of the leaves of *L. angustifolia* species at a concentration of 0.05%, the opposite trend was observed to that observed for the essential oil of the leaves of *L. stoechas* species. For plants that remained up to 6 weeks exposed to cold, there was genotoxic action of the essential oil, and the treatments, T17, T18, T19 and T20 (0, 2, 4 and 6 weeks of cold, respectively), were statistically different from T1 and T2 (positive control - glyphosate 2% and negative control - distilled water, respectively). Whereas T21, T22 and T24 (8, 10 and 12 weeks of cold, respectively), would not differ statistically from T2 (positive control - glyphosate - 2%). Although chromosomal alterations were found in all treatments and in low numbers, on average 1.10% of the cells analyzed for the treatments that obtained the highest GI values, it is possible to state that the essential oil from the leaves of *L. stoechas* and *L. angustifolia* is genotoxic.

4. DISCUSSION

The characteristics of essential oils vary due to several factors, such as plant species, climatic conditions, harvest time, extraction method, and plant tissue. These conditions can modify the amount of the main constituents present in the oil (Cheng et al. 2009, Rahimzadeh et al. 2016). According to Matos et al. (2009), Ebadollahi et al. (2014) and Ebadollahi et al. (2020), the main constituents identified in the essential oil of *L. angustifolia*, are Linalool, 1,8-cineol, borneol and camphor and in *L. stoechas*, they are fenchone, camphor, α -pinene and linalool.

Di Sotto et al. (2011), pointed out the genotoxic effect of the essential oil of *L. angustifolia* and gave its majority constituents linalool and linalin acetate, and attributed the genotoxic activity to the constituent linalin acetate and not to the set of chemical compounds. Aqueous extracts of *L. stoechas* flowers at concentrations of 40, 80, and 120 g/L reduced MI, especially 80g/L, but showed genotoxic effect on *A. cepa* root tip meristems (Celik and Aslanturk 2007).

Mesic et al. (2019), testing the concentrations (0.10 ml/ml, 0.20 ml/ml, and 0.30 ml/ml) of essential oil from *L. angustifolia* Mill., found that for none of the concentrations there was a decrease in MI compared to the positive (solvent) and negative (water) control. However, several genotoxic effects were observed, such as micronuclei, sticky chromosomes, chromosome bridges, chromosome breakage, multipolar anaphases. All tested concentrations significantly increased the number of sticky chromosomes compared to the positive control (solvent). The concentrations (0.10 ml/ml and 0.30 ml/ml) had an increase in the number of chromosome bridges when compared to the control.

Celik and Aslanturk (2017), analyzing human peripheral blood lymphocytes in vitro, tested infusions and decoctions of *L. stoechas* flowers and (*Salvia rosmarinus* Spenn.), synonym *Rosmarinus officinalis* L. leaves at the traditional concentrations in use in Turkey (0.4 and 1.2 mg/ml) for *L. stoechas* and (1.5 mg/ml and 3 mg/ml) for *R. officinalis* at 24 and 48 hours, and found that there was a reduction in cell division of lymphocytes and metaphase cells. However, the extract treatments induced micronucleus formation when compared to controls, and the 1.2 mg/ml decoction concentration showed the greatest genotoxic effect after 48 hours.

Imelouane et al. (2010) evaluated the cytotoxicity of essential oil from the flowers and leaves of *L. dentata* on five cancer cell lines to find out if the oil would have the ability to induce cell death in these cell types. The EC₅₀ (50% effective concentration) was found to be low. According to the authors, it may be related to specific components of the oil, either the majority

component or those found in smaller amounts, which may also contribute to cytotoxicity, and there is synergism between them. Prashar et al. (2004) in a similar study, evaluating the cell viability of the essential oil from *L. angustifolia*, observed cytotoxicity of the essential oil at a concentration of 0.25% in three types of cells tested. The major components of the oil, linalyl acetate and linalool, were also tested under similar conditions for their cytotoxicity and it was found that linalyl acetate showed greater cytotoxicity compared to the essential oil itself, possibly suggesting suppression of its activity by an unknown factor.

Other studies analyzing the essential oils of Lamiaceae species have shown antiproliferative and genotoxic effects. *Mentha longifolia* essential oil (2.5-50 µg/ml) negatively affected the mitotic index of meristematic cells of *A. cepa* root tips and induced various chromosomal aberrations, such as chromosomal bridges, c-mitotic, viscid, wandering chromosomes (Singh et al. 2020). Grandona et al. (2014) observed a significant decrease in mitotic index and chromosomal changes in the essential oil of *Origanum vulgare* Subs.

According to Lima et al. (2003), air temperature interferes on the production of secondary metabolites in plants, being small variations, or exposure time for example, sufficient to stimulate the production of terpenoids. While extreme values may result in their reduction. The different times of exposure to cold that the plants remained may have contributed, therefore, to alter the chemical composition of the essential oil of the two species in question, being, most likely, as demonstrated in other studies, related to the components, linalool, linalin acetate and camphor.

Also, the major compounds present in the essential oil can vary according to the organ of the plant. Skoula et al. (1996) found as major constituents in the oil of *L. Stoechas* in Crete in Greece, α -pinene, 1,8-cineole, fenchone, camphor and myrtenol acetate, with variation in the quantitative composition of the essential oil between leaves and inflorescences. The inflorescences showed higher amounts of phenchone, myrtenol acetate and α -pinene, while the leaves, contained more 1,8-cineole and camphor. In addition, the inflorescences produced significantly more essential oil than the leaves. Kirmizibekmez et al. (2009), found in higher percentage α -fenchone (41.9%), 1,8-cineole (15.6%), camphor (12.1%) and viridiflorol (4.1%) in the leaves and α -fenchone (39.2%), myrtenol acetate (9.5%), α -pinene (6.1%), camphor (5.9%) and 1,8-cineole (3.8%) in the inflorescences of *L. stoechas*.

Given the evidence resulting in this work (proliferative and genotoxic effect) and considering the increasing use of natural products as health and personal care products, further studies on the antiproliferative and genotoxic activity of the essential oil of *Lavandula* spp. species are needed, especially under different cultivation conditions. It is also of utmost

importance to investigate other use concentrations, and to identify the chemical constituents responsible for this activity.

5. CONCLUSION

The essential oil of both *Lavandula* species has proliferative potential, except for the leaves of *L. stoechas*, exposed to 4 weeks of cold. For *L. stoechas*, only the essential oil from the leaves showed genotoxic activity from the 6th week of cold exposure, while for *L. angustifolia* the essential oil from the leaves showed genotoxic activity in all treatments. The genotoxic activity found in this work refers to values lower than 1.30%.

REFERENCES

- Biasi LA, Deschamps C. (2009). Plantas Aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba, PR: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda.
- Buriol GA, Estefanel V, Swarowsky A, D'Avila RF, Heldwein AB. (2006). Homogeneidade e estatísticas descritivas dos totais mensais e anuais de chuva de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. Rev. Bras. de Recur. Hídr. 11(4): 89-97. DOI: 10.21168/rbrh.v11n4.p89-97
- Cabrera GL, Rodriguez DMG. (1999). Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three-plant bioassay. Mutation Research. 426(2): 211-214. DOI: 10.1016/s0027-5107(99)00070-6
- Çelik T, Aslantürk ÖS. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of *Lavandula stoechas* aqueous extracts. Biologia. 62(3): 292- 296. DOI: 10.2478/s11756-007-0051-2
- Celik TA, Aslanturk OS. (2018). Cytotoxic and Genotoxic Effects of Aqueous Extracts of *Rosmarinus officinalis* L., *Lavandula stoechas* L. and *Tilia cordata* Mill. on in vitro Human Peripheral Blood Lymphocytes. Cumhuriyet Science Journal. 39(1): 127-143. DOI: 10.17776/csj.405629
- Cheraghbeigi N, Modarresi M, Rezaei M, Khtony A. (2019). Comparing the effects of massage and aromatherapy massage with lavender oil on sleep quality of cardiac patients: a randomized controlled trial. Complem. Ther. Clin. Pract. 35: 253–258. DOI: 10.1016/j.ctcp.2019.03.005
- Cheng SS, Chua MT, Chang EH, Huang CG, Chen WJ, Chang ST. (2009). Variations in insecticidal activity and chemical compositions of leaf essential oils from *Cryptomeria japonica* at different ages. Bioresour. Technol. 100(1): 465–470. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.11.060
- Dias ECM, Trevisan DD, Nagai SC, Ramos NA, Silva EM. (2018). Uso de fitoterápicos e potenciais riscos de interações medicamentosas: reflexões para prática segura. Rev. Baiana Saúde Pública. 41(2): 297-307. DOI: 10.22278/2318-2660.2017.v41.n2.a2306

- Di Sotto A, Mazzanti G, Carbono F, Hrelia P, Maffei F. (2011). Genotoxicity of lavender oil, linalyl acetate, and linalool on human lymphocytes in vitro. *Environ. Mol. Mutagen.* 52(1): 69–71. DOI: 10.1002/em.20587
- Donelli D, Antonelli M, Bellinazzi C, Gensini GF, Firenzuoli F. (2019). Effects of lavender on anxiety: a systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine*, 65:153099. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.153099
- Ebadollahi A, Sendi JJ, Aliakbar A, Razmjou J. (2014). Chemical Composition and Acaricidal Effects of Essential Oils of *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Psyche*. 1-6. DOI: 10.1155/2014/424078
- Ebadollahi A, Ziaee M, Palla F. (2020). Essential Oils Extracted from Different Species of the Lamiaceae Plant Family as Prospective Bioagents against Several Detrimental Pests. *Molecules*. 25(7), 1556. DOI: 10.3390/molecules25071556.
- Eminovic I, Kahrovic E, Mesic A, Turkusic E, Kargic D, Zahirovic A, Dolicanin Z. (2016). Cytogenotoxic effects of two potential anticancer ruthenium (III) schiff bases complexes. *J. Health Sci.* 6(2): 1-9. DOI: 10.17532/jhsci.2016.357
- Fachinetto JM, Bagatini MD, Durigon J, Silva ACF, Tedesco SB. (2007). Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 17: 49-54. DOI: 10.1590/S0102-695X2007000100011
- Frescura VD, Boligon AA, Barbosa FM, Souza JM, Lerner MA, Laughinghouse H, Tedesco BS. (2018). Nutrient solution concentration and collection time in phytomass production, content, yield and chemical composition of essential oil of Rosemary. *Journal Plant Nutrition*. 41(10): 1293-1302. DOI: 10.1080/01904167.2018.1450420
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. 30(2): 374-381. DOI: 10.1590/S0100-40422007000200026
- Guerra M, Souza MJ. (2002). *Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. FUNPEC, Ribeirão Preto.
- Grondona E, Gatti G, López AG, Sánchez LR, Rivero V, Pessah O, Zunino MP, Ponce AA. (2014). Bio-efficacy of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare* Lamiaceae. spp. hirtum). *Plant Foods for Hum. Nutr.* 69(4): 351–357. DOI: 10.1007/s11130-014-0441-x
- Hister CAL, Pasqualli M, Trapp KC, Stefanello R, Boligon AA, Campos MMA, Tedesco, SB (2017). Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste in vivo de *Allium cepa* L. *Rev. Bras. Bioc.* 15(1): 43-48.
- Imelouane B, El Bachiri A, Khedid K, Wathelet JP, Amhamdi H. (2010). Chemical composition, cytotoxic and antioxidant activity of the essential oil of *Lavandula dentata*. *World J. Chem.* 5(2): 103– 110. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.07.060

Kashani MS, Tavirani MR, Talaei SA, Salami M. (2011). Aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia*) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease. *Neurosc. Bull.* 27(2): 99–106. DOI: 10.1007/s12264-011-1149-7

Kirmizibekmez H, Demirci B, Yesilada E, Baser KHC, Demirci F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* growing wild in Turkey. *Nat. Prod. Commun.* 4(7): 1001–1006. PMID: 19731612

Lima HRP, Kaplan MAC, Cruz AVM. (2003). Influências dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenoides em plantas. *Floresta e Ambient.* 10(2), 71-77.

Lorenzi H, Souza HM. (2008). *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil (2 Ed)*, Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.

Marincas O, Feher I. (2018). A new cost-effective approach for lavender essential oils quality assessment. *Ind. Crops Prod.* 125:241-247. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.010>

Matos FM, Miguel M, Duarte J, Venâncio F. (2009). Antioxidant capacity of the essential oils from *Lavandula luisieri*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri* and *L. viridis* grown in Algarve (Portugal). *J. Essent. Oil Res.* 21(4): 327–336. DOI: 10.1080/10412905.2009.9700184

Mesic A, Mahmutovic-Dizdarevic I, Tahirovic E, Durmisevic I, Eminovic I, Jerkovi-Mujki A, Besta-Gajevic R. (2021). Evaluation of toxicological and antimicrobial activity of lavender and immortelle essential oils. *Drug Chem. Toxicol.* 44(2): 190-197. DOI: 10.1080/01480545.2018.1538234

Monaghan JM, Wurr DCE, Fellows JR. (2004). The effects of temperature and lighting on flowering of lavender (*Lavandula angustifolia* 'Hidcote'). *J. Hortic. Sci. Biotechnology.* 79(5): 811-817. DOI: 10.1080/14620316.2004.11511847

Pampalona J, Roscioli E, Silkworth WT, Bowden B, Genescà A, Tusell L, Cimini D. (2016). Chromosome bridges maintain kinetochoremicrotubule attachment throughout mitosis and rarely break during anaphase. *PLoS One.* 11(1):e0147420. DOI: 10.1371/journal.pone.0147420

Panathur N, Dalimbra U, Koushik PV, Alvala M, Yogeewari P, Sriram D, Kumar V. (2013). Identification and characterization of novel indole based small molecules as anticancer agents through SIRT1 inhibition. *Eu. J. Med. Chem.* 69: 125-138. DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.08.018

Prashar A, Locke IC, Evans CS. (2004). Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif.* 37(3): 221-229. DOI: 10.1111/j.1365-2184.2004.00307.x

Rahimzadeh S, Sohrabi Y, Heidari G, Pirzad A, Golezani KG. (2016). Effect of Bio-fertilizers on the Essential Oil Yield and Components Isolated from *Dracocephalum moldavica* L. Using

Nanoscale Injection Method. *J. Essent. Oil Bear. Pl.* 19(3): 529–541. DOI: 10.1080/0972060X.2014.935057

Rieger R, Michaelis A. (1960). Chromosomen aberrationen nach Einwirkung von Acetaldehyd auf Primärwurzeln von *Vicia faba*. *Biol. Zent.* 8(1): 230-243. DOI: 10.1007/BF02096014

Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS. (2001). Regulation of essential oil production in plant. *Plant Growth Regul.* 34: 3-21. DOI: 10.1023/a:1013386921596

Sienkiewicz M, Lysakowska M, Ciecwierz J, Denys P, Kowalczyk E. (2011). Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. *Medicinal Chemistry.* 7(6): 674–689. DOI: 10.2174/157340611797928488

Singh N, Singh HP, Batish DR, Kohli RK, Yadav SS. (2020). Chemical characterization, phytotoxic, and cytotoxic activities of essential oil of *Mentha longifolia*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27(12): 13512-13523. DOI: 10.1007/s11356-020-07823-3

Skoula M, Abidi C, Kokkalou E. (1996). Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochem. Systemat. Ecol.* 24(3): 255–260. DOI: 10.1016/0305-1978(96)00023-3

Tedesco SB, Laughinghouse IVHD. (2012). In: Srivastava JK (Ed.) *Environmental Contamination* (p. 137–156), Rijeka: InTech. DOI: 10.5772/1124

Teixeira RO, Camparoto ML, Mantovani MS, Vicentini VEP. (2003). Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in vitro and in vivo assays. *Genet. Mol. Biol.* 26(4): 551-555. DOI: 10.1590/S1415-47572003000400021

Upton T, Andrews S. (2004). *The Genus Lavandula*. Kew (Royal Botanic Gardens): Timber Press.

Wegener T. (2017). Patterns and Trends in the Use of Herbal Products, Herbal Medicine and Herbal Medicinal Products. *Int. J. Complement. Altern. Med.* 9(6): 00317. DOI: 10.15406/ijcam.2017.09.00317

Table 1. Treatments evaluated in the *Allium cepa* test.

	Treatment description
T1	Positive control (glyphosate 2%)
T2	Negative control in distilled water
T3	Negative control in ethanol
T4	0.05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 0 weeks cold
T5	0,05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 2 weeks of cold
T6	0,05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 4 weeks of cold
T7	0,05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 6 weeks of cold
T8	0,05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 8 weeks of cold
T9	0,05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 10 weeks of cold
T10	0,05% EO <i>L. stoechas</i> inflorescences - 12 weeks of cold
T11	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 0 weeks of cold
T12	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 2 weeks of cold
T13	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 4 weeks of cold
T14	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 6 weeks of cold
T15	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 8 weeks of cold
T16	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 10 weeks of cold
T17	0,05% EO leaves <i>L. stoechas</i> - 12 weeks of cold
T18	0,05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 0 weeks of cold
T19	0.05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 2 weeks of cold
T20	0.05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 4 weeks of cold
T21	0.05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 6 weeks of cold
T22	0.05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 8 weeks of cold
T23	0.05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 10 weeks of cold
T24	0.05% EO leaves <i>L. angustifolia</i> - 12 weeks of cold

Table 2. Mitotic index (MI), Genotoxic index (GI), cells in interphase, in division and irregularities.

Treatment	Total of analyzed cells	Cells in interphase	Cells in division	Cells with chromosomal alterations	MI (%)	GI (%)
T1	4000	3946	54	29	1.35 d	0.72 c*
T2	4000	3944	56	0	1.40 d	0.00 d
T3	4000	3927	73	8	1.82 c	0.20 d
T4	4000	3871	129	8	3.23 b	0.20 d
T5	4000	3843	157	5	3.93 b	0.13 d
T6	4000	3862	138	7	3.45 b	0.18 d
T7	4000	3872	124	6	3.20 b	0.15 d
T8	4000	3883	117	7	3.15 b	0.17 d
T9	4000	3859	141	3	3.53 b	0.08 d
T10	4000	3856	144	3	3.60 b	0.08 d
T11	4000	3789	211	12	5.28 a	0.30 d
T12	4000	3879	121	6	3.03 b	0.15 d
T13	4000	3950	51	6	1.30 d	0.15 d
T14	4000	3871	129	49	3.23 b	1.23 a
T15	4000	3812	188	52	4.70 a	1.30 a
T16	4000	3821	179	37	4.48 a	0.93 b
T17	4000	3856	144	35	3.60 b	0.88 b
T18	4000	3855	145	41	3.63 b	1.03 b
T19	4000	3831	169	41	4.23 a	1.03 b
T20	4000	3858	142	42	3.55 b	1.05 b
T21	4000	3867	133	40	3.83 b	1.00 b
T22	4000	3914	86	25	2.15 c	0.63 c
T23	4000	3863	137	31	2.15 c	0.78 c
T24	4000	3915	90	23	2.13 c	0.57 c
CV (%) ¹	-	-	-	-	24.79	35.78

¹Coefficient of variation. *Numbers followed by different letters differ significantly from each other by Scott-Knott test ($p < 0.05$). MI = Mitotic Index. GI = Genotoxic Index.

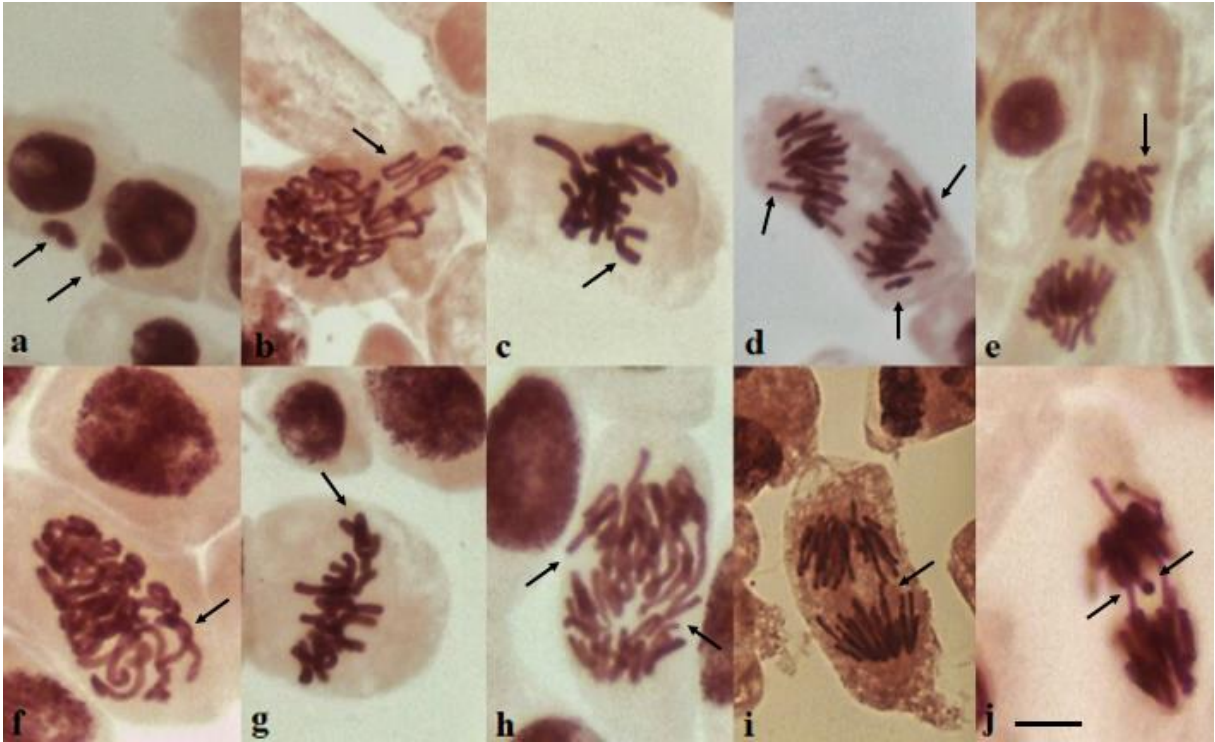


Figure 1. Chromosomal changes in meristematic cells of onion (*Allium cepa*) root tips treated with lavender (*Lavandula* spp.) essential oil. Arrow indicates: a) micronucleus; b) Prophase with chromosome breakage; c) Disorganized metaphase and chromosome breakage; d) Anaphase with chromosome breakage; e) Telophase with chromosome breakage; f) Disorganized prophase; g) Disorganized metaphase; h) Disorganized anaphase; i) Anaphase with chromosome bridge; j) Telophase with micronucleus and chromosome bridge. Scale Bar: 10 μ m

7 DISCUSSÃO GERAL

Os resultados obtidos neste trabalho, trazem alternativas para melhorar e introduzir o cultivo de novas espécies de *Lavandula* spp. no Rio Grande do Sul, pelo manejo da aplicação do ácido giberélico (GA₃), que junto às condições mais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento da lavanda, mostraram-se promissores. O manejo por meio da utilização da vernalização para ambas as espécies estudadas, mostrou-se essencial para a *Lavandula angustifolia* e uma prática de manejo a ser recomendada para a *Lavandula stoechas*, que mesmo apresentando resultados promissores quando cultivada sem a aplicação anterior ao frio, mostrou-se positivamente responsiva a vernalização. Portanto, o uso das práticas de manejo testadas neste trabalho, resultaram em vantagens ao crescimento, desenvolvimento e produtividade de espécies de lavanda ainda pouco exploradas no Brasil.

A definição do uso do ácido giberélico em determinada concentração, bem como o tratamento com vernalização, consistem práticas de manejos facilitadoras e eficientes, adotadas para uma gama de culturas, como, por exemplo, para plantas de *Cyclamen persicum* 'Mill' (TREDER et al., 1999) *Dahlia variabilis* (KHAN e TEWARI, 2003), *Tulipa hybrida* (RUDNICKI et al., 1976), *Ocimum basilicum* L. (SENA et al., 2019), *Salvia officinalis* (POVH e ONO, 2008), *Lavandula intemedia* (KOSHIOKA et al., 2016), em que o uso de GA₃, incrementou não apenas sobre o crescimento, desenvolvimento floral dessas espécies, agregando valor comercial, mas também promoveu ganhos significativos sobre o rendimento de óleo essencial de espécies medicinais e aromáticas.

A influência das GAs sobre a indução floral, consistem nas respostas mais distintas observadas entre as espécies de plantas. A aplicação das GAs pode favorecer a indução floral, como também afetar a floração, época de floração e morfologia da flor, como em *Arabidopsis thaliana*, planta facultativa de dia longo (RICHARDS et al., 2001), ou em *Aquilegia x hybrida* Sims, planta perene ornamental, com aumento do número de flores e antecipação da floração (GIANFAGNA e MERRITT, 1998).

A vernalização possibilita o florescimento, sua aceleração ou melhora a uniformidade desta. Essa prática é recomendável principalmente para espécies com requisito à vernalização, que na falta deste, retardam o florescimento e permanecem vegetativas e não competentes para responder aos sinais florais como fotoperíodos indutivos (LIU, 2007). Tais requisitos são necessários para algumas espécies de *Lavandula* spp., que mostram sensibilidade a temperatura do ar e ao fotoperíodo, fatores ambientais relevantes na indução floral, assim, a não exposição por um período prologando ao frio, pode inibir a floração ou resultar no florescimento

insatisfatório. Além disso, o uso essencial das lavandas está baseado, principalmente, na comercialização das hastes florais, na ornamentação e extração do óleo essencial das inflorescências.

Sendo a lavanda uma cultura típica da agricultura familiar no Brasil, e as práticas de manejo caracterizam-se basicamente de cunho ecológico, típico dos cultivos de espécies de plantas medicinais, o manuseio da aplicação exógena de GA₃ sobre as plantas, torna-se outra prática de manejo promissora para o desenvolvimento da cultura.

O primeiro artigo apresenta a influência da aplicação exógena de GA₃ sobre as espécies *L. stoechas* e *L. angustifolia*, com uma aplicação na primavera e outra aplicação antecedendo o verão. Pôde-se observar que o crescimento, produção de inflorescências, biomassa e óleo essencial foi superior para a espécie *L. stoechas*, demonstrando maior adaptabilidade às condições do local de estudo, fato que indicou beneficiar as respostas das plantas à aplicação de GA₃ e indicou que a espécie apresenta exigências edafoclimáticas inferiores a *L. angustifolia*.

O florescimento de *L. stoechas*, mostrou-se, indiferente a aplicação de GA₃, visto que não houve diferença significativa para o início do florescimento, porém, maior foi o crescimento, número de inflorescências, biomassa e produtividade do óleo essencial, sob aplicação de GA₃, em comparação ao controle (aplicação com água), principalmente nas concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹. As maiores concentrações resultaram, portanto, nas respostas mais positivas para as plantas de *L. stoechas*, porém, a altura de plantas e o teor de óleo essencial das inflorescências, apresentou tendência de decréscimo com o uso da concentração de 600 mgL⁻¹. Tais resultados comprovam as evidências de Hassanpouraghdam (2011), que indicou que concentrações superiores a 300 mg L⁻¹, poderiam promover ainda mais o crescimento e a produtividade de óleo essencial de lavanda. As plantas de *L. stoechas* mantiveram as respostas positivas de crescimento e florescimento nas maiores concentrações testadas, após a segunda aplicação de GA₃.

A *L. angustifolia* não floresceu em nenhum dos tratamentos após a aplicação de GA₃ na primavera. No verão, em condições de fotoperíodo mínimo de 12 horas/dia e temperaturas médias do ar mais elevadas, todos os tratamentos, inclusive sem a aplicação de GA₃, floresceram, porém, apenas as plantas que receberam 400 e 600 mg L⁻¹ de GA₃, tiveram 100% de florescimento, sendo essas concentrações, responsáveis pela antecipação do florescimento, maior crescimento das plantas, biomassa e produtividade de óleo essencial das folhas. Apesar de o florescimento ter ocorrido, a biomassa de inflorescências obtida, foi insuficiente para a extração do óleo essencial.

Tais resultados estão relacionados com as maiores exigências edafoclimáticas da

espécie, principalmente de temperatura do ar, indicando que a aplicação de GA₃, não conseguiu substituir totalmente os requisitos de vernalização das plantas e antecipar o florescimento. A aplicação exógena de GA₃ e a não exposição a um período prolongado de frio, podem levar ao acúmulo de ácido caurenótico em grandes quantidades nos ápices caulinares, local onde ocorre a percepção dos estímulos ao frio, e que quando percebidas temperaturas do ar mais altas, transformam o ácido caurenótico em GA₉, uma das giberelinas mais ativa na estimulação das respostas ao florescimento (THINGNAES et al., 2003). Tais condições térmicas associadas ao acúmulo de GA₃ em *L. angustifolia*, podem explicar o florescimento das plantas obtido no início do verão, uma vez que a diferenciação floral foi induzida pelo aumento da temperatura média do ar.

Ademais, uma segunda aplicação de GA₃ realizada em momento anterior ao verão, em condições de fotoperíodo favoráveis (em que os níveis de giberelina endógena em plantas de dia longo tendem a aumentar com o aumento do fotoperíodo) (LEE et al., 1998), explicam os maiores estímulos ao florescimento e sua antecipação, influenciados, principalmente, pelas maiores concentrações de GA₃ testadas.

Em relação ao segundo artigo, os períodos de vernalização apresentaram interação significativa com as espécies de lavanda para todas as variáveis analisadas, exceto para o teor e o rendimento de óleo essencial das inflorescências de *L. stoechas*, demonstrando que diferentes períodos de vernalização afetaram de maneira distinta as espécies de lavanda estudadas. A *L. angustifolia* apresentou os menores valores de crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial de folhas, não se obtendo biomassa de inflorescências suficiente para extração do óleo essencial. As plantas de *L. stoechas* obtiveram melhor crescimento e desenvolvimento quando submetidas aos diferentes períodos de vernalização.

As variáveis analisadas para a *L. stoechas* apresentaram diferentes respostas aos diferentes períodos de vernalização testados. A espécie não necessita da vernalização para florescer. A exposição a 4°C±1°C em câmara fria, não resultou em diferença significativa do crescimento das plantas em comparação a não vernalização, enquanto, de maneira geral, o número de inflorescências maior que 3 cm foi beneficiado com a vernalização de 2 semanas. Contudo, as maiores respostas à vernalização foram observadas sobre a fitomassa das plantas, teor e rendimento do óleo essencial, sendo a vernalização por 4 semanas à 4°C±1°C, a que resultou nos maiores valores de fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial das inflorescências. Enquanto a fitomassa e o teor de óleo essencial das folhas foi beneficiado pela vernalização de até 6 semanas, e o rendimento de óleo essencial das folhas, com a vernalização de 4 semanas, com valor próximo a 1,0 g planta⁻¹.

Os menores valores para todas as variáveis resultaram das plantas vernalizadas nos maiores períodos. Assim, ocorreu um menor crescimento e produtividade desta espécie quando expostas aos maiores períodos de vernalização, podendo-se inferir, de maneira geral, que a exposição à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, acima de 6 semanas em câmara fria, causaram estresse térmico, acelerando o florescimento e refletindo negativamente sobre a biomassa e produtividade de óleo essencial.

Portanto, a *L. stoechas* apresentou respostas satisfatórias à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ em câmara fria, por um período máximo de 6 semanas, porém não se mostrou uma planta resistente ao prolongamento do tratamento com frio. Segundo Bergamachi e Bergonci (2017), a adaptação das plantas a temperatura varia entre as espécies e genótipos de uma mesma espécie. Plantas de clima frio tem menor sensibilidade ao frio e quando a exposição ao resfriamento tem curta duração, muitos dos efeitos negativos são reversos, porém, se a duração do resfriamento se prolongar, algumas espécies de plantas podem progredir para a inanição, levando a uma condição irreversível e prejudicial ao desenvolvimento.

As plantas de *L. angustifolia* floresceram quando vernalizadas por 10 e 12 semanas a $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, indo ao encontro dos resultados obtidos por outros autores como Monaghan et al., (2004); Kubota et al., (2010); Koshioska et al., (2016), que constataram que a *L. angustifolia* e seus híbridos, são plantas de vernalização obrigatória, e que a variação da temperatura de $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, por no período mínimo 10 semanas em câmara fria, é eficiente para iniciar a diferenciação floral. Porém, temperaturas médias do ar iguais ou superiores a 25°C , após a vernalização, condições verificadas neste estudo, prejudicaram o desenvolvimento da espécie, visto que a desvernalização já pode ocorrer a partir de temperaturas acima de 20°C , afetando o florescimento e conseqüentemente a produtividade das plantas (TAIZ et al., 2017; BERGAMACHI e BERGONCI, 2017).

Ao menos que existam condições de temperatura do ar amenas, junto ao fornecimento mínimo de fotoperíodo de 12 horas/dia ou mais, após a vernalização, obter resultados satisfatórios de florescimento e produtividade para *L. angustifolia*, são difíceis. Ademais, realizar o manejo da espécie por tempo prolongado em câmara fria (de 8 a 12 semanas), a partir de mudas com no mínimo oito ramos desenvolvidos, para serem responsivas a vernalização e introduzir fotoperíodo mínimo 12 horas/dia e temperaturas do ar amenas ao longo de todo o cultivo, demandariam de estruturas específicas, nas quais tais condições poderiam ser controladas ao longo de todo o cultivo. Tais condições tornam-se pouco viáveis a serem aplicadas pelos agricultores de lavanda, pois demandariam altos investimentos, custos e mão de obra envolvida, aliado ao fato da lavanda ser uma cultura pouco difundida no Brasil e que

ainda recebe pouco incentivo de produção.

Diante dos resultados obtidos, este estudo contribuiu de forma significativa para compreender como ocorrem as respostas de duas espécies de lavanda em relação à aplicação de GA₃ e a vernalização, em interação com as condições edafoclimáticas da região central do Rio Grande do Sul, importante também para a tomada de decisão da espécie que melhor responde às condições impostas. Os resultados gerados, principalmente para a espécie *L. stoechas* são inovadores, e proporcionarão maiores estudos da espécie à diferentes tratamentos e condições edafoclimáticas distintas, além de serem utilizadas por outros pesquisados para compreender as respostas de crescimento, florescimento e produtividade de inflorescências e óleo essencial.

No terceiro e quarto artigos foram avaliadas a citogenotoxicidade do óleo essencial de folhas e inflorescências de duas espécies de *Lavandula* spp. cultivadas sob a aplicação de diferentes concentrações de GA₃ e períodos de vernalização. Conforme os resultados encontrados, se constatou que o óleo essencial na concentração de 0,05%, de maneira geral, apresenta atividade proliferativa e genotóxica. Foi possível observar, ainda, variações no índice genotóxico entre as partes das plantas a que o óleo essencial foi extraído, e entre espécies de *Lavandula* spp. testadas, quando as plantas foram expostas a diferentes períodos de frio.

O óleo essencial das inflorescências de *L. stoechas* em todos os tratamentos e os três menores períodos de exposição ao frio (0, 2 e 4 semanas de frio) do óleo essencial das folhas de *L. stoechas*, não apresentaram atividade genotóxica. Porém, com o aumento da exposição ao frio, o óleo essencial das folhas de *L. stoechas*, apresentou atividade genotóxica. O óleo essencial das folhas da espécie *L. angustifolia* na concentração de 0,05%, expostas ao frio por até 6 semanas, resultou em maior ação genotóxica em comparação as semanas 8, 10 e 12.

Apesar de o maior potencial genotóxico ter sido encontrado para o óleo essencial de *Lavandula* spp., pelo número de alterações no material genético de *Allium cepa*, indicando a capacidade desta substância em causar mutações genéticas (BIANCHI, 2008), tais resultados também podem servir como um bioindicador para futuros trabalhos sobre o estudo de substâncias capazes de induzir alterações cromossômicas e/ou a morte celular, um resultado interessante para pesquisas com medicamentos e também, para a agricultura, como por exemplo, o uso em bioherbicidas.

Ainda existem muitos aspectos a serem considerados e estudados na cultura da lavanda, como, por exemplo, as respostas das plantas frente a mais concentrações de GA₃, número de aplicações e períodos de vernalização em condições edafoclimáticas diferentes, principalmente, temperatura do ar, pós vernalização, das encontradas neste estudo, tanto em Santa Maria, RS, como em outros municípios do estado do Rio Grande do Sul.

8 CONCLUSÕES

As aplicações exógenas de GA₃ influenciam o crescimento, florescimento e a produtividade de óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula* spp.

A altura, diâmetro de plantas, dias para o florescimento, florescimento, tamanho e número de inflorescências, variam conforme as interações entre as concentrações de GA₃ e as espécies de *Lavandula* spp. e das influências que as condições edafoclimáticas exercem sobre estas. A *L. stoechas* apresenta melhor adaptabilidade às condições climáticas da região central do Rio Grande do Sul e as aplicações de GA₃ promovem um aumento do crescimento vegetativo, florescimento e produtividade de óleo essencial. Para *L. angustifolia*, a aplicação de GA₃ na primavera não induz ao florescimento, enquanto a aplicação de GA₃, associada ao aumento da temperatura do ar e o do fotoperíodo, antecipam e intensificam o florescimento, porém, não de maneira satisfatória para a extração do óleo essencial das inflorescências.

As concentrações de 400 e 600 mg L⁻¹ resultam em maior produção de fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências, com tendência de decréscimos do teor de óleo essencial das inflorescências de *L. stoechas* em concentrações igual ou acima de 600 mg L⁻¹.

A fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de folhas e inflorescências variaram conforme a espécie de lavanda, sendo que, a *L. stoechas* apresenta os maiores valores para essas variáveis, exceto para a fitomassa de folhas. Já a *L. angustifolia* apresenta os menores valores em fitomassa de inflorescências, teor e rendimento de óleo essencial das folhas.

Os efeitos dos diferentes períodos de vernalização no crescimento, florescimento e produtividade de óleo essencial de folhas e inflorescências estão associadas às espécies de *Lavandula* spp. A *L. stoechas* não apresenta a vernalização como requisito obrigatório para o florescimento, em contrapartida, a *L. angustifolia* apresenta ser uma planta de vernalização obrigatória.

Diferentes períodos de vernalização à 4°C±1°C, não afetam o número de dias para o florescimento, número de ramos, plantas e ramos com inflorescências de *L. stoechas*, enquanto, a altura de plantas, número e tamanho das inflorescências, fitomassa, teor e rendimento de óleo essencial de folhas, variam as respostas até as 8 semanas em câmara fria. Acima de 8 semanas de vernalização, tais variáveis apresentaram menor valor pelo estresse térmico, refletindo sobre o desempenho produtivo das plantas.

A altura da *L. angustifolia* é maior nos maiores períodos de vernalização e está diretamente relacionado ao florescimento, enquanto, o número de ramos é menor. A menor

fitomassa de folhas ocorre nos maiores períodos de vernalização, contudo, no maior rendimento de óleo essencial de folhas.

A *L. angustifolia* necessita de vernalização de 10 e 12 semanas à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ para florescer. O florescimento é afetado negativamente por temperaturas médias do ar iguais ou acima de 25°C , pós vernalização, resultando em biomassa de inflorescências insatisfatória e baixa produtividade de óleo essencial de folhas.

A vernalização de 4 semanas em câmara fria à $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ resulta em maior teor e rendimento de óleo essencial de inflorescências de *L. stoechas*.

O óleo essencial de inflorescências e folhas de *Lavandula* spp., a uma concentração de 0,05%, apresenta efeito proliferativo e baixo efeito genotóxico sob aplicação de GA_3 e o óleo essencial de folhas de *L. stoechas* apresenta atividade proliferativa e atividade genotóxica a partir da 6ª semana de vernalização, enquanto o óleo essencial das folhas de *L. angustifolia* apresenta atividade proliferativa, exceto para 0,05% de óleo essencial de folhas *L. stoechas* - 4 semanas de vernalização e genotóxica em todos os tratamentos, com valores inferiores a 1,30%.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXA, E. et al. Synergistic Antifungal, Allelopathic and Anti-Proliferative Potential of *Salvia officinalis* L., and *Thymus vulgaris* L. Essential Oils. **Molecules**, v.23, n.1, p. 1-15, 2018.
- ALBERTO, C. M. et al. Resposta à vernalização de cultivares brasileiras de trigo. **Bragantia**, v.68, n.2, p.535-543, 2009.
- AMASINO, R. Seasonal and developmental timing of flowering. **The Plant Journal**, v.61, p.1001–1013, 2010.
- ATZEI, A. D. In **Le Piante nella Tradizione Popolare della Sardegna**; Carlo Delfino Editore: Sassari, Italy, 2003; 222p.
- BERGAMACHI, H.; BERGONCI, J. I. **As plantas e o clima: princípios e aplicações**. Guaíba: Agrolivros, 2017, 352 p.
- BERNIER, G. The control of floral evocation and morphogenesis. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 39, p. 175-219, 1988.
- BIANCHI, J. **Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida malation, utilizando os sistemas teste de *Allium cepa* e células de mamíferos**. 165p, 2008. Dissertação- (Mestrado em Ciências Biológicas) -Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP.
- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas Aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba, 2009, 160p.
- 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.
- CABRERA, G. L, RODRIGUEZ D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**, v.426, n.2, p. 211-214. 1999.
- CARDOSO, J. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Ácido giberélico na indução e qualidade do florescimento de orquídea *Phalaenopsis* 'White Dream'. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.18, n.2, p. 135-140, 2012.
- CARRASCO, A. et al. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography-mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. **Industrial Crops and Products**, v.73, p.16-27, 2015.
- CARVALHO, A. C. B et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v.11, n.11, 2007.
- ÇELIK, T. ASLANTÜRK, Ö. S. Cytotoxic and genotoxic effects of *Lavandula stoechas* aqueous extracts. **Biologia**, v.62, n.3, p. 292-296, 2007.

CHERAGHBEIGI, N. et al. Comparing the effects of massage and aromatherapy massage with lavender oil on sleep quality of cardiac patients: a randomized controlled trial. **Complement Ther Clin Practice**, v.35, p. 253–258, 2019.

CHRISPEELS, M. J.; VARNER, J. E. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of arabinonuclease by isolated aleurone layers. **Plant Physiology**. v. 42, n. 398-406, 1967.

CHOUARD, P. Vernalization and its relations to dormancy. **Annual Review of Plant Physiology**, v.11, p. 191-238, 1960.

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

COELHO, A. P. D. et al. Genotoxic and antiproliferative potential of extracts of *Echinodorus grandiflorus* and *Sagittaria montevidensis* (Alismataceae). **Caryologia**, v.70, n. 1, p. 82-91, 2017.

CORRÊA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L. E. M. **Plantas Mediciniais: do cultivo à terapêutica**. 6. ed. Petrópolis: Vozes, 2003. 247 p.

CUMMINGS, B. **Biology**. 6th ed. San Francisco: [s.n], 2002.

DAIS, Directorate Agricultural information services – **Department of Agriculture**, Forestry and Fisheries South Africa. Lavander Production. 2009.

DE LA TORRE, J. E. et al. Spice use in food: Properties and benefits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.57, n.6, p. 1078–1088, 2017.

DONELLI, D. et al Effects of lavender on anxiety: a systematic review and meta-analysis. **Phytomed**. v.65, 2019.

ITF - **Índice Terapêutico fitoterápico: Ervas medicinais**. Petrópolis: Editora de Publicações Biomédicas; 2008, 328p.

DUKE, J. A. **Handbook of Medicinal Herbs**. Flórida: CRC, 2000. 667p.

EL-KHATEEB, M. A. Effect of some growth regulators on the vegetative growth and essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Faculty Agricultural**, v.29, n.1, p. 401-414, 1989.

EZ ZOUBI, Y. E.; BOUSTA, D.; FARAH, A. A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. **Clinical Phytoscience**, v.6, n.9, p. 1-9, 2020.

ERWIN, J. FACTORS Afecting Flowering in Ornamental Plants. In ANDERSON, N. O. **Flower breeding and genetics**, Springer, Dordrecht, 2007, p. 7-48.

FALEIRO, M. L. et al. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. **Lett Appl Microbiology**, v.36, n.1, p. 35-40, 2003.

FERNANDES, S. D. C. Plantas medicinais: risco e toxicidade. In: SANTOS, J. S.; ALMEIDA, C. C. O. F. **Das plantas medicinais à fitoterapia: uma ciência em expansão**

(Orgs.). Brasília: Editora IFB, 2016, p. 65-71.

FIORI, A. C. G. et al. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v. 148, n. 7/8, p. 483-487, 2000.

FISKESJÖ, G. Allium test. In: O'HARE, S., ATTERWILL, C. K. (Eds). **In vitro toxicity testing protocols. Series - methods in molecular biology™**, vol 43. **Humana Press**. 1995. Cap. 14, p. 119-127.

FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas: O estudo do que está por trás do que se vê**. 4. ed. Passo Fundo: UPF, 2008. 733p.

FRANCO, J. **Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)**. Lisboa; 1984. 186-89 p.

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

FRESCURA, V. D. S. **Parâmetros fitoquímicos, genotóxicos e de crescimento de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em diferentes salinidades e concentrações de nitrogênio**. 2014. 113 p. tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

GARCIA, C. S. C. et al. Pharmacological perspectives from Brazilian *Salvia officinalis* (Lamiaceae): antioxidant, and antitumor in mammalian cells. **Brazilian Academy of Sciences**, v.88, n.1, p.281-292, 2016.

GIANFAGNA, T. J.; MERRITT, R. H. GA4/7 promotes stem growth and flowering in a genetic line of *Aquilegia x hybrida* Sims. **Plant Growth Regulation**, v. 24, p. 1-5, 1998.

GIANNOULIS, K. D. et al. Could bio-stimulators affect flower, essential oil yield, and its composition in organic lavender (*Lavandula angustifolia*) cultivation? **Industrial Crops Products**, v.154, p. 11261, 2020.

GIRAY, F. H. An analysis of world lavender oil markets and lessons for Turkey. **Journal Essential Oil Bear Plants**, v.21, n.6, p. 1612–1623, 2018.

GNATTA, J. R. et al. Aromaterapia e enfermagem: concepção histórico-teórica. **Revista Escola Enfermagem**, v.50, n.1, p. 130-136, 2016.

GOBBO-NETO L.; LOPES N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Químa Nova**, v.30, n.2, p. 374-381. 2007.

GONÇALVES, V. et al. Potencial de plantas acaricidas no controle de carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.3, n.1, p. 14-22, 2016.

GUITTON, Y. **Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula***:

aspects évolutifs et physiologiques. Biologie végétale. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, 2010. Français.

HASSANPOURAGHDAM, M. B.; HAJISAMADI, ASL B.; KHALIGHI, A. A. Aplicação foliar de ácido giberélico influencia o crescimento, o óleo volátil e algumas características fisiológicas da lavanda (*Lavandula officinalis* Chaix.). **Romanian Biotechnological Letters**, v.16, n.4, 2011.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O., et al. (Org.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre: Artmed, p. 167-184, 2017.

HISTER, C. A. L. et al. Determinação de compostos fenólicos e avaliação do potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). Caderno de Pesquisa. **Série biologia (UNISC)**, v.31, p. 17-30, 2019.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético.** 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 630p.

KHAN, F. U.; TEWARI, G. N. Effect of growth regulators on growth and flowering of dahlia (*Dahlia variabilis* L.). **Indian Journal Horticulturae**, Bangalore, v. 60, n. 2, p. 192-194, 2003.

KAGALE, S. et al. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.65, n.2, p. 91-100, 2004.

KANEKO, M. et al. Where do gibberellin biosynthesis and gibberellin signaling occur in rice plants?. **The Plant Journal**, v.35, p. 104-115, 2003.

KASHANI, M. S. et al. Aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia*) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease. **Neuroscience Bulletin**, v.27, n.2, p. 99-106, 2011.

KASHIWAQUI, M. et al. Reguladores vegetais: uma breve revisão sobre a giberelina **Revista Sodebras**, v. 14, n. 166, p. 11-16, 2019.

KENDE, H.; ZEEVAART, J.A.D. The five "classical" plant hormones. **The Plant Cell**, Baltimore, v.9, n.7, p.1197-1210, 1997.

KIVRAK, S. Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavander and Lavandin from western Anatolia. **Industrial Crops and Products**, v.117, p. 8896, 2018.

KOSHIOKA, M. et al. Florigenic Effect of Gibberellin on Flowering According to Period of Chilling Treatment in *Lavandula × intermedia*. **The Horticulture Journal Preview**, v.85, n.2, p. 169-1176, 2016.

KUBOTA, S. et al. *Lavandula x intermedia* is a Vernalization type plant. **Agricultural Research Quarterly**, v.44, n.1, p. 67-72, 2010.

KUHN, A. W. **Manjerição (*Ocimum basilicum* L.) sob diferentes períodos de estresse salino: fitomassa, fitoquímica e citogenotoxicidade**. 2018. 80p. tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

LA BELLA, S. et al. Composition and Variability of the Essential Oil of the Flowers of *Lavandula stoechas* from Various Geographical Sources. **Natural Product Communications**, v.10, n.11, 2015.

LAVAGNINI, C. G. et al. Fisiologia Vegetal - Hormônio Giberelina. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 25, n. 1, p.48-52, 2014.

LAWLESS, J. **Enciclopedia degli Oli Essenziali**; Editore Tecniche Nuove: Milano, Italy, 2003, 175p.

LEE, I. J., FOSTER, K. R.; MORGAN, P. W. Photoperiod control of gibberellin levels and flowering in Sorghum. **Plant Physiology**, v.116, p. 1003-1011, 1998.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, v.682, n.1, p. 71-81, 2009.

LIS-BALCHIN, M. History of nomenclature of Lavandula species, hybrids and cultivars. _____. In: **The Genus Lavender**, Taylor and Francis, London, v.2, p. 2, 2002.

LIU, D. L. Incorporating vernalization response functions into an additive phenological model for reanalysis of the flowering data of annual pasture legumes. **Field Crops Research**, v.101, n.3, p. 331-342, 2007.

LOPES, A. L. et al. Gibberellic acid fermented extract obtained by solid-state fermentation using citric pulp by Fusarium moniliforme: Influence on *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in vitro. **Pak Journal Botanic**, v. 45, p. 2057-2064, 2013.

LORENZI, H.; MATOS E. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2. ED. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2008.

LORENZI, H; SOUZA, H. M. DE. **Plantas ornamentas do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 4 ed. Nova Odessa: Instituto de estudo da flora, 2008, 1123p.

MAHMOUND, S. E. D. M. Response of growth and essential oil content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) to some natural hormones. **Acta Horticulturae**, v.426, p. 629-634, 1996.

MARINCAS, O.; FEHER, I. A new cost-effective approach for lavender essential oils quality assessment. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 241-247, 2018.

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

METZGER, J. D. A physiological comparison of vernalization and dormancy chilling requirement. In: Lang GA (ed) **Plant Dormancy: Physiology, biochemistry and molecular biology**. CAB International, Wallingford, UK, 1996, p 147-156.

MICHAEL, S. D.; AMASINO, R. M. Memories of winter: vernalization and the competence to flower. **Plant Cell and Environment**, v.23, p.1145-1153, 2000.

MIRAJ, S. *Lavandula stoechas* L: A systematic review of medicinal and molecular perspectives. **Der Pharmacia Lettre**, v.8, n.13, p. 56-58, 2016.

MONAGHAN, J. M.; WURR, D. C. E.; FELLOWS, J. R. The effects of temperature and lighting on flowering of lavender (*Lavandula angustifolia* 'Hidcote'). **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.79, n.5, p. 811-817, 2004.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. Cap.9, p. 139-152.

MORAIS, L. A. S. de; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com Atividade Inseticida. In: HALFELD-VIEIRA, B. de A. et al. **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília: Embrapa, 2016. Cap. 19, p. 542-593.

PASQUALLI, M.; TEDESCO, M.; TEDESCO, S. B. Potencial antiproliferativo e genotóxico de *Allophylus edulis* (A.St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. pelo teste de *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, n.21, p. 2365-2372, 2015.

PELLISSARI, G. P. et al. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC. Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.1, p. 70-74, 2010.

PINHO, D.S. et al. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trime-ra* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.2, p.165-170, 2010.

PISTELLI, L. et al. Agronomic and phytochemical evaluation of lavandin and lavender cultivars cultivated in the Tyrrhenian area of Tuscany (Italy). **Industrial Crops and Products**, v.109, p. 37-44, 2017.

PLATT, E. S. **Lavender: How to grow and use the fragrant herb**. 2nd. ed. Mechanicsburg PA: Stackpole books, 2009, 157p.

POLAT, R. SATIL, F. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir-Turkey). **Journal Ethnopharmacol**, v.139, n.2, p. 26-641, 2012.

PORTO, C. D.; DECORTI, D.; KIKIC, L. 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.

POVH, J. A.; ONO, E. O. Crescimento de plantas de *Salvia officinalis* sob ação de reguladores de crescimento vegetal. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p. 2186-2190, 2008.

PRUSINOWSKA, R.; ŚMIGIELSKI, K. B. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. **Herba Polonica**, v.60,

n.2, 2014.

REID, A. Growing lavender in Western Australia. Departamento de Agricultura e Alimentos, Oeste Austrália, Perth. Research Library, **Boletim 4454**, 2000.

RICHARDS, et al. How Gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. **Plant Physiology Plant Mol Biol.**, v. 52, p. 67-88, 2001.

RIBEIRO, P. G. F.; DINIZ, R. C. **Plantas Aromáticas e medicinais: cultivo e utilização**. Londrina: IAPAR, 2008, 218p.

RUDNICKI, R.M.; NOWAK, J.; SANIEWSKI, M. Effect of gibberellic acid on sprouting and flowering of some tulip cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.23, p. 387-397, 1976.

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

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, R. et al. Revisiting an ancient spice with medicinal purposes: *Cinnamon*. **Trends in Food Science and Technology**, v.62, p. 154–169, 2017.

SENA, A. C.; FERNANDES, S.; DAVID, E. F. S. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de *Ocimum Basilicum* L. cultivada com aplicação de diferentes concentrações de giberelina via foliar. **Revista AGROFIB**, v.1, p. 39-46, 2019.

SIENKIEWICZ, M. et al. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. **Medicinal Chemistry**, v.7, n.6, p. 674–689, 2011.

SHARAFZADEH, S.; ZARE, M. Influence of growth regulators on growth and secondary metabolites of some medicinal plants from Lamiaceae family. **Advances In Environmental Biology**, v.1, p. 2296–2303, 2011.

SHEDEED, M. R. et al. Physiological studies on the growth, oil yield and chemical constituents in basil plant, *Ocimum basilicum* L. **Annales of Agricultural Science**, v.35, p. 971-979, 1990.

SHUKLA, A.; et al. Effect of triacontanol and chlormequat on growth, plant hormones and artemisinin yield in *Artemisia annua* L. **Plant Growth Regulation**, v.11, p. 165-171, 1992.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto alegre/ Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004. Cap. 18, p. 467-495.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed. 2017, 463p.

SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. Rio de Janeiro. **Óleos essenciais: uma fonte de divisas a ser mais explorada no Brasil**. Disponível em:

<<https://www.sna.agr.br/oleos-essenciais-uma-fonte-de-divisas-a-ser-mais-explorada-no-brasil-2/>>. Acesso em: 01 mar. 2022.

SOUZA, G. S.; BORGES, K. C. A. S. Influência de fitorreguladores e do tipo de cultivo no crescimento de *Ocimum basilicum*. **Cadernos UniFOA**, n.24, p.57-63, 2014.

SOUZA, S. A. M. et al. Atividade alelopática e citotóxica do extrato aquoso de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss.). Publicatio UEPG: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 11 n. 3/4, p. 7-14, 2005.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia Vegetal**. 6. ed. 2017. 888p.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, I. V. H. D. **Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa***. Test. In: Environmental Contamination. Rijeka: Intech Publisher, 2012. 137-156p.

THINGNAES, E. et al. Day and night temperature responses in Arabidopsis: Effects on gibberellin and auxin content, cell size, morphology and flowering time. **Annals of Botany**, v.92, n.4, p. 601-612, 2003.

THOMAS, B.; VINCE-PRUE, D. **Photoperiodism in Plants**, 2 ed. Academic Press, New York, N.Y., 1997, p. 428.

TUTTOLOMONDO, T. et al. Agronomical evaluation of Sicilian biotypes of *Lavandula stoechas* L. spp. *stoechas* and analysis of the essential oils. **Journal of essential oil research**, v. 27, n.2, p. 115-124, 2015.

TRAPP, K. C. et al. Determination of phenolic compounds and evaluation of cytotoxicity in *Plectranthus barbatus* using the *Allium cepa* test. **Caryologia**, v.73, p. 143-153, 2020.

TREDER, J.; MATYSIAK, B.; NOWAK, J. The effect of gibberellic acid on growth and flowering of *Cyclamen persicum* Mill. **Folia Horticulturae**, Kraków, v.11, n. 2, p. 81-86, 1999.

TSURO, M.; KODA, M.; INOUE, M. Efficient plant regeneration from multiple shoots formed in the leaf-derived callus of *Lavandula vera*, using the “open culture system”. **Scientia Horticulturae**, v.86, n.1, p. 81-88, 2000.

UBESSI, C. et al. Antiproliferative potential and phenolic compounds of infusions and essential oil of chamomile cultivated with homeopathy. **Journal Ethnopharmacol**, v.239, 11907, 2019.

UPSON, T. The taxonomy of the genus *Lavandula* L. In: LIS-BALCHIN, M. **The Genus *Lavandula***. London, 2002, v.2, p. 2

UPSON, T.; ANDREWS, S. **The Genus *Lavandula***. Kew (Royal Botanic Gardens): Timber Press, 2004, 442p.

VEAUVY, M. **La Lavande: culture et distillation**. Valence: Charpin et Reyne, 1933. 93 p.

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. et al. Essencial oli composition of *Lavandula angustifolia* Mill. Cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. **Journal of the Serbian Chemical Society**, Outtarakhand, v.75, p. 343-348, 2010.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SILVA, J.S. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luis: Edufma, 2010. 230p.

WELLENSIEK, S. J. Recent developments in vernalization. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 4, p. 308-314, 1965.

WISE, M. L. WISE, CROTEAU R. **Comprehensive natural products chemistry, Isoprenoids including carotenoids and steroids**. Cane D. Hrsg (Ed.), vol. 15, Elsevier, Oxford, p. 97-153. 1999.

WHITMAN, C. M. et al. Cold treatments, photoperiod, and forcing temperature influence flowering of *Lavandula angustifolia*. **HortScience**, v.31, n.7, p. 1150–3, 1996.

WOODS, D. P.; AMASINO, R. M. Dissecting the Control of Flowering Time in Grasses Using *Brachypodium distachyon*. In: **Plant Genetics and Genomics: Crops Models**, 2015.

XU, S.; CHONG, K. Remembering winter through vernalisation. **Nature Plants**, v.4, p. 997-1009, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global report on traditional and complementary medicine** 2019. Geneva: WHO, 2019. 228p. Disponível em <<https://www.who.int/publications-detail/who-global-report-on-traditional-and-complementary-medicine-2019>>. Acesso em: 01 mar. 2022.

NUP: 23081.052780/2023-11

Prioridade: Normal

Ato de entrega de dissertação/tese

134.334 - Dissertação e tese

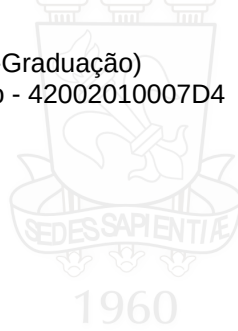
COMPONENTE

Ordem	Descrição	Nome do arquivo
1	Tese de doutorado (134.334)	Tese doutorado Andressa J Puhl.pdf

Assinaturas

11/04/2023 11:22:07

ANDRESSA JANAÍNA PUHL (Aluno de Pós-Graduação)
03.10.01.03.0.0 - PG Agronomia - Doutorado - 42002010007D4



Código Verificador: 2614200

Código CRC: 1ab6e326

Consulte em: <https://portal.ufsm.br/documentos/publico/autenticacao/assinaturas.html>

