

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**FERNANDA JAQUELINE MENEGUSSO**

**ESTUDO HISTOLÓGICO E PROPAGAÇÃO ASSEXUADA  
DE GENÓTIPOS DE LAVANDA**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2021**

**ESTUDO HISTOLÓGICO E PROPAGAÇÃO ASSEXUADA  
DE GENÓTIPOS DE LAVANDA**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Fabíola Villa

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ  
2021**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Menegusso, Fernanda Jaqueline  
ESTUDO HISTOLÓGICO E PROPAGAÇÃO ASSEXUADA DE GENÓTIPOS DE  
LAVANDA / Fernanda Jaqueline Menegusso; orientadora Fabiola  
Villa. -- Marechal Cândido Rondon, 2021.  
85 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) --  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências  
Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.

1. Propagação assexuada . 2. Lavandula sp.. 3. Ácido  
indolbutírico. 4. Óleo essencial. I. Villa, Fabiola , orient.  
II. Título.



**FERNANDA JAQUELINE MENEGUSSO**

Estudo histológico e propagação assexuada de genótipos de lavanda

Tese apresentada à distância, de forma síncrona e por videoconferência, conforme Resolução nº 052/2020 – CEPE, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Manejo de Culturas, APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Orientadora - Fabíola Villa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Écio Silvério Klosowski

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Shirley Martins Silva

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Zilda Cristiani Gazim

Universidade Paranaense - UNIPAR (UNIPAR)

Ana Paula Morais Mourão Simonetti

Faculdade Assis Gurgacz (FAG)

Ativar  
 Acesse (

Neumárcio Vilanova da Costa  
 Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
 Marechal Cândido Rondon, 10 de março de 2021

A minha família e amigos  
que estiveram ao meu lado,  
**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de doutorado sanduíche que me foi disponibilizada através de edital, que possibilitou desenvolver parte desta tese e conhecer a cultura em estudo cultivada de forma comercial, o que não seria possível acompanhar no Brasil.

A todos os professores e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) e à Universidade Estadual do Oeste do Paraná... (Unioeste) pelo apoio e incentivo durante o desenvolvimento dos trabalhos no doutorado.

À professora Dr<sup>a</sup> Fabíola Villa, pela orientação e incentivo durante o doutorado, apoio nos momentos difíceis e por estimular que fizesse a seleção para o doutorado sanduíche.

À toda equipe do “Centro de Investigaciones Agroforestales de Albaladejito” (CIAF), Cuenca, Espanha, por me receberem de forma tão cordial, disponibilizarem todo material necessário para o desenvolvimento dos experimentos, proporcionarem um ambiente agradável durante minha estadia, para que me sentisse em casa e principalmente pela amizade, que foi estabelecida dentro e fora do Centro de Pesquisa. Posso dizer que a Espanha também é meu lar e me deixaram com as melhores impressões possíveis. Gestos e momentos que vou levar com muita gratidão no meu coração.

A todos os colegas do grupo de estudos em fruticultura e floricultura (GEFF), pois sem a ajuda de vocês não seria possível realizar os experimentos e principalmente ter aproveitado a oportunidade da bolsa sanduíche. As amizades construídas durante esses anos de convivência serão levadas com muito carinho e fizeram toda diferença para chegar até o final.

À força superior que me rege neste mundo, por deixar todos os caminhos abertos, me mostrando as boas oportunidades e me protegendo.

À minha família, meus pais Adriana Margarida Lenhardt Menegusso e Edegar José Menegusso, irmãos Fabricio Matheus Menegusso, Rafaela Beatriz Menegusso, cunhada Luciana Lima Leffer Menegusso e sobrinho Matteo Leffer Menegusso, por todo apoio e presença durante esse período.

Se vai lutar na chuva, treine na tempestade.  
(Autor desconhecido)

## RESUMO

MENEGUSSO, Fernanda Jaqueline, D. S. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro - 2021. **Estudo histológico e propagação assexuada de genótipos de lavanda.** Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Fabíola Villa.

Objetivou-se avaliar o potencial de enraizamento de estacas de lavanda em função da espécie, genótipo, concentração de ácido indolbutírico (AIB) e o seu modo de aplicação e qualidade do óleo essencial. Foram conduzidos 3 experimentos e uma caracterização de óleo essencial. Experimento 1: O experimento foi realizado no período de março a abril de 2019 sob condições de telado com 50% de sombreamento, na Estação Experimental de Horticultura e Cultivo Protegido da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon (PR). Foram coletados ramos das plantas matrizes com auxílio de uma tesoura de poda, cultivadas em área experimental da mesma universidade. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4 [espécie *L. angustifolia* e *L. canariensis* x concentrações de 0, 1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Experimentos 2 e 3: Experimentos realizados de outubro a dezembro de 2019 no “Centro de Investigaciones de Albaladejito” em Cuenca, Cuenca, Espanha. O experimento 2 contou com 3 genótipos (G621, G763 e G764) x 4 concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 3000 mg L<sup>-1</sup>) e o experimento 3 com os mesmos genótipos x tipos de imersão (lenta e rápida). Nos experimentos 1, 2 e 3 foram avaliados os parâmetros fitotécnicos, percentagem de estacas enraizadas e calejadas, número de raízes e comprimento da maior raiz (cm). Para os experimentos 1 e 2 foram realizadas análises anatômicas, com foco na formação de raízes adventícias. Também foi realizada a caracterização de óleo essencial das espécies *L. canariensis*, *L. latifolia* e *L. dentata*. Para o experimento 1 encontrou-se que para os parâmetros estacas calejadas e comprimento da raiz houve significância apenas para espécie *L. angustifolia*, apresentando menor percentagem de estacas calejadas e maior comprimento de raiz. Enraizamento e número de raízes aumentaram proporcionalmente ao aumento da concentração de AIB. No estudo histológico a espécie *L. latifolia* apresentou estrutura essencialmente secundária e *L. canariensis* apresentou estrutura essencialmente primária. Em *L. latifolia* há presença de feixes de fibras isolados na região cortical e em *L. canariensis* há tricomas e feixes de fibras bem desenvolvidos sobre o floema. Para ambas as espécies em estudo houve correlação entre este estudo e avaliação fitotécnica de número de raízes. Conclui-se que o uso de AIB para as espécies em estudo é indicado na maior dose testada (3000 mg L<sup>-1</sup>) e a presença desse feixes de fibras não impedem a emergência de raízes. No experimento 2, encontrou-se que AIB promoveu aumento no enraizamento, com exceção do genótipo G764. Para número de raízes apenas as concentrações de AIB foram significativas, demonstrando diminuição nos valores com o aumento de AIB. No estudo histológico, nos genótipos analisados feixe de fibras formando um cilindro descontínuo podem ser observados, como por exemplo no caule do genótipo 621. Em relação à imersão (experimento 3), G621 apresentou maior comprimento de raiz na imersão rápida e G764 na imersão lenta. Recomenda-se uma concentração média de 1500 mg L<sup>-1</sup> de AIB para os genótipos G621 e G763 e de 400 mg L<sup>-1</sup> para o G764. Apesar da presença de feixes de fibras, não há impedimento para emissão das raízes adventícias nos genótipos estudados. A



imersão rápida foi favorável para o G621 e a lenta para o genótipo G764. Na caracterização do óleo encontrou-se que a amostra B (*L. canariensis*) diferiu das demais quanto a grupo químico e componentes majoritários, tendo características peculiares que podem ser aproveitadas. Conclui-se que há diferenças entre espécies e genótipos de lavandas quanto a enraizamento e os feixes de fibras existentes não impedem o enraizamento. porém não é visualizado barreiras anatômicas para as espécies em estudo. O óleo essencial também apresenta características diferentes entre as espécies. Entre partes diferentes de uma mesma espécie ocorrem algumas diferenças nas quantidades de componentes, no entanto os grupos majoritários permanecem iguais. *Lavandula canariensis* apresentou características químicas interessantes para serem exploradas comercialmente.

Palavras-chave: Óleo essencial. *Lavandula*. Estaquia.

### ABSTRACT

MENEGUSSO, Fernanda Jaqueline, D. S. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, february - 2021. **Histological study and asexual propagation of lavender genotypes**. Advisor: PhD Fabíola Villa.

The aim of this study was to evaluate the rooting potential of lavender cuttings as a function of species, genotype, indolbutyric acid (IBA) concentration and its mode of application and essential oil quality. Three experiments and one essential oil characterization were conducted. Experiment 1: The experiment was carried out from March to April 2019 under greenhouse conditions with 50% shading, in the Experimental Station of Horticulture and Protected Cultivation of Uniãoeste, *Campus Marechal Cândido Rondon* (PR). Branches were collected from the mother plants with the aid of pruning scissors, cultivated in an experimental area of the same university. The experimental design was in randomized blocks, in a 2 x 4 factorial scheme [species *L. angustifolia* and *L. canariensis* x concentrations of 0, 1000, 2000 and 3000 mg L<sup>-1</sup> of IBA. Experiments 2 and 3: Experiments carried out from October to December 2019 at the “Centro de Investigaciones de Albaladejito” in Cuenca, Cuenca, Spain. Experiment 2 had 3 genotypes (G621, G763 and G764) x 4 IBA concentrations (0, 1000, 2000, 3000 mg L<sup>-1</sup>) and experiment 3 with the same genotypes x types of immersion (slow and fast). In experiments 1, 2 and 3, the phytotechnical parameters, percentage of rooted and callused cuttings, number of roots and length of the longest root (cm) were evaluated. For experiments 1 and 2, anatomical analyzes were performed, focusing on the formation of adventitious roots. The characterization of essential oil of the species *L. canariensis*, *L. latifolia* and *L. dentata* was also carried out. For experiment 1 it was found that for the parameters calloused cuttings and root length there was significance only for *L. angustifolia* species, with a lower percentage of calloused cuttings and longer root length. Rooting and number of roots increased proportionally to the increase in IBA concentration. In the histological study, the species *L. latifolia* presented an essentially secondary structure and *L. canariensis* presented an essentially primary structure. In *L. latifolia* there are isolated fiber bundles in the cortical region and in *L. canariensis* there are well-developed trichomes and fiber bundles over the phloem. For both species under study there was a correlation between this study and the

phytotechnical evaluation of the number of roots. It is concluded that the use of IBA for the species under study is indicated at the highest dose tested (3000 mg L<sup>-1</sup>) and the presence of these fiber bundles does not prevent root emergence. In experiment 2, it was found that AIB promoted an increase in rooting, with the exception of the G764 genotype. For number of roots only the concentrations of IBA were significant, showing a decrease in values with the increase of IBA. In the histological study, fiber bundles forming a discontinuous cylinder can be observed in the analyzed genotypes, such as in the stem of genotype 621. Regarding immersion (experiment 3), G621 showed greater root length in fast immersion and G764 in slow immersion. An average concentration of 1500 mg L<sup>-1</sup> of IBA is recommended for genotypes G621 and G763 and 400 mg L<sup>-1</sup> for G764. Despite the presence of fiber bundles, there is no impediment to the emission of adventitious roots in the studied genotypes. Fast immersion was favorable for G621 and slow for the G764 genotype. In the characterization of the oil, it was found that sample B (*L. canariensis*) differed from the others in terms of chemical group and major components, having peculiar characteristics that can be used. It is concluded that there are differences between lavender species and genotypes regarding rooting and the existing fiber bundles do not prevent rooting. However, anatomical barriers are not visualized for the species under study. Essential oil also has different characteristics between species. Between different parts of the same species there are some differences in the amounts of components, however the major groups remain the same. *Lavandula canariensis* presented interesting chemical characteristics to be commercially exploited.

Keywords: Essential oil. *Lavandula*. Cutting.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 ARTIGO 1: "Influência do ácido indolbutírico na histologia e propagação assexuada de <i>Lavandula latifolia</i> medik. e <i>Lavandula canariensis</i> mill" .....	2
3 ARTIGO 2: "Estudo anatômico e propagação assexuada de genótipos de lavanda ( <i>Lavandula latifolia</i> Medik.)" .....	21
4 ARTIGO 3: "Composição química e atividade antioxidante dos óleos essenciais de lavanda" .....	44
CONCLUSOES GERAIS .....	73

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As plantas do gênero *Lavandula* L. são apreciadas pelas suas propriedades aromáticas e presença de óleo essencial. Seu cultivo está se tornando expressivo em diferentes regiões do Brasil, como no estado de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul, atraindo atividades de turismo e oferecendo retorno econômico aos agricultores. Pesquisas em relação a propagação irão promover uma implantação de cultivos com maior qualidade, trazendo desenvolvimento para as famílias rurais e diversificando a produção.

A espécie do gênero predominantemente explorada é a *Lavandula dentata* L., cujo óleo essencial tem características canforadas. Surge assim o interesse em entender melhor a propagação de outras espécies vegetais pertencentes ao gênero bem como os seus óleos essenciais.

Espécies de lavanda podem ser propagadas assexuadamente pelo método de estaquia. Para melhorar e uniformizar o enraizamento de espécies vegetais pode ser utilizado fitorregulador, como o ácido indolbutírico (AIB). Um sistema radicular uniforme e bem formado ajudará no estabelecimento da muda no campo.

Algumas espécies podem ter barreiras anatômicas que impedem o enraizamento de estacas, precisando de medidas alternativas como injúrias na base das estacas. Essas barreiras que são um problema para o enraizamento podem ser identificadas a partir de estudo anatômico.

Com base no exposto objetivou-se com o presente estudo avaliar a propagação assexuada por estaquia de espécies e genótipos de lavanda com diferentes concentrações de AIB, modo de aplicação deste fitorregulador, realizar estudo anatômico e caracterizar quimicamente o óleo essencial de espécies.

## 2 ARTIGO 1

Influência do ácido indolbutírico na histologia e propagação assexuada de *Lavandula latifolia* Medik. E *Lavandula canariensis* Mill.

(Elaborado de acordo com as normas da Revista Pesquisa Agropecuária Tropical)

RESUMO: Diferentes espécies pertencentes à família Lamiaceae apresentam respostas distintas ao uso de ácido indolbutírico (AIB) quanto ao enraizamento. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi encontrar a concentração de AIB adequada para obtenção de mudas pelo método de estaquia das espécies *Lavandula cf. latifolia* Medik. e *Lavandula canariensis* (L.) Mill. e identificar anatomicamente alterações em relação às concentrações testadas. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4 [espécie *L. cf. latifolia* e *L. canariensis* x concentrações de 0, 1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. As avaliações fitotécnicas realizadas foram percentagem de estacas enraizadas e calejadas, número de raízes e comprimento da maior raiz (cm). Também foi realizada análise anatômica. O enraizamento e número de raiz aumentaram proporcionalmente ao aumento da concentração de AIB. Notam-se feixes de fibras isolados na região cortical, mas que estes não impedem a emergência das raízes. A espécie *L. canariensis* apresenta tricomas e feixes de fibras bem desenvolvidos sobre o floema primário no período de 7 a 14 dias. Houve incremento na formação de raízes adventícias, principalmente nos caules com estrutura secundária estabelecida (28 a 42 DAE) e nas maiores concentrações de AIB (2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup>). O uso de AIB é indicado na maior dose testada (3000 mg L<sup>-1</sup>) e que por terem estruturas primárias para uma espécie e secundária para a outra, isso influenciou na percentagem de enraizamento e que a presença dos feixes de fibras não impede a emergência de raízes.

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia caulinar, estaquia, lamiaceae,

ABSTRACT: Different species belonging to the Lamiaceae family have different responses to the use of indolebutyric acid (IBA) regarding rooting. Therefore, the objective of this work was to find the adequate IBA concentration to obtain seedlings by the cutting method of *Lavandula cf. latifolia* Medik. and *Lavandula canariensis* (L.) Mill. and anatomically identify changes in relation to the concentrations tested. The experimental design was in randomized blocks, in a 2 x 4 factorial scheme species *L. cf. latifolia* and *L. canariensis* x concentrations of 0, 1000, 2000 and 3000 mg L<sup>-1</sup> of IBA. The phytotechnical evaluations performed were percentage of rooted and callused cuttings, number of roots and length of the longest root (cm). Anatomical analysis was also performed. Rooting and root number increased proportionally to the increase in IBA concentration. Isolated fiber bundles can be seen in the cortical region, but these do not prevent the emergence of roots. The species *L. canariensis* presents well-developed trichomes and fiber bundles over the primary phloem within a period of 7 to 14 days. There was an increase in the formation of adventitious roots, mainly in stems with established secondary structure (28 to 42 DAE) and in the highest concentrations of IBA (2000 and 3000 mg L<sup>-1</sup>). The use of IBA is indicated at the highest dose tested (3000 mg L<sup>-1</sup>) and because they have primary structures for one species and secondary for the other, this influenced the percentage of rooting and that the presence of fiber bundles does not prevent emergence of roots.

KEYWORDS: Stem anatomy, cutting, lamiaceae,

## INTRODUÇÃO

O Brasil cultiva em sua maioria a espécie *Lavandula dentata* L. por ser uma espécie bem adaptada a climas tropicais e pode ser cultivada em latitudes mais baixas. A maioria das

espécies de lavanda cresce exclusivamente em climas mediterrâneos, no entanto, uma série de espécies de lavanda com características distintas são amplamente distribuídas globalmente (Figueiredo et al. 2021). Pensando desta forma, com tantas espécies pertencentes ao gênero *Lavandula* poderia ser ampliada a gama de espécies exploradas comercialmente.

O gênero *Lavandula* L. é composto por 39 espécies, dentre elas plantas com aspectos arbustivos e herbáceos, sendo a maioria originária de países do Mediterrâneo, Oriente Médio, Índia, Norte da África, Ilhas Canárias e Cabo Verde (Upson 2004, Mason 2018).

A lavanda pode ser cultivada a partir de sementes, no entanto cultivos utilizando sementes não são tão produtivos, apresentando baixa síntese de metabólitos secundários, assim como variações genótípicas e fenotípicas (Bona et al. 2011). Dessa forma, uma alternativa para produção de mudas seria a utilização da propagação assexuada, por meio de estaquia, pois as plantas formadas apresentam menor variação e melhor uniformidade na produção de óleo essencial (Bona et al. 2011).

No entanto, o enraizamento de estacas pode ser afetado por fatores internos e externos. Entre os fatores internos estão: condição fisiológica da planta-matriz e sua idade, tipo de estaca, época do ano de retirada das estacas, genótipo, entre outros. Como fatores externos, podem-se citar temperatura, luz, umidade, substrato e condicionamento dos ramos antes da estaquia (Navroski et al. 2015).

Além disso, a emergência das raízes pode ser dificultada pela presença de tecidos mecânicos (fibras e esclereides) na região cortical, formando um cilindro contínuo ou na forma de feixes bem desenvolvidos (inserir referências enviadas). Assim, analisar a estrutura anatômica das estacas se faz importante para verificação dessas possíveis barreiras.

Para propagação assexuada de espécies do gênero *Lavandula* recomenda-se estacas herbáceas com 8 a 15 cm de comprimento, mantendo de 1/3 a 2/3 da quantidade de folhas (Bona et al. 2011, Bona et al. 2012, Paulus et al. 2016).

O uso de fitorreguladores pode auxiliar na formação das mudas a partir da estaquia, pois tem por finalidade induzir o processo rizogênico, aumentar a percentagem de estacas que formam raízes adventícias, o número e qualidade das raízes adventícias formadas e a uniformidade no enraizamento. Dentre os fitoreguladores utilizados, destaca-se o ácido indolbutírico (AIB), por ser fotoestável quando comparado a outras auxinas, de ação localizada, persistente e não tóxico em ampla gama de concentrações (Fachinello et al. 2005).

Quanto ao uso e concentrações de AIB em espécies de Lamiaceae, ocorrem variações, podendo ser citado o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L) que obtém percentagens de enraizamento próximas a 85% mesmo sem o uso de fitorreguladores e, dentro do próprio gênero *Lavandula*, como em *L. stoechas* L. em que se faz necessário o uso de AIB. Para a espécie *Lavandula dentata* verifica-se um aumento na percentagem de enraizamento com o uso deste fitorregulador, alcançando 96% com concentração de AIB de 2100 mg L<sup>-1</sup>, melhorando a qualidade do sistema radicular (Aguiar et al. 2017; Bona et al. 2010).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi encontrar a concentração de AIB adequada para obtenção de mudas pelo método de estaquia das espécies *Lavandula angustifolia* L. e *L. canariensis* Mill. e avaliar anatomicamente as estacas de ambas espécies nas diferentes concentrações de AIB testadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de março a abril de 2019 sob condições de telado com 50% de sombreamento, na Estação Experimental de Horticultura e Cultivo Protegido da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon (PR), cujas coordenadas geográficas de latitude e longitude são, respectivamente, 24° 33' 22'' S e 54° 03' 24'' W, com altitude aproximada de 420 m.



As plantas matrizes das espécies utilizadas foram adquiridas de produtor de plantas ornamentais no município de Gramado/RS, sendo estas *Lavandula cf. latifolia Medik* e *Lavandula cf. canariensis Mill.* Uma exsicata foi depositada no Herbário UNOP da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* Cascavel, voucher nº 10.802 e 10.799 respectivamente.

As mudas foram transplantadas em julho de 2018 para sacos de polietileno, mantidas apoiadas no solo e aclimatizadas em ambiente coberto (telado) com malha que proporcionava 50% sombreamento por 90 dias, após esse período foram transplantadas para a área experimental, sendo realizada uma gradagem e posterior marcação e abertura de covas.

Na Tabela 1 encontra-se o resultado da análise química do solo da área de cultivo das plantas matrizes. Com base nesta, optou-se por não realizar adubação de implantação, apenas de cobertura. Essa decisão baseada na análise de solo foi fundamentada na recomendação para plantas ornamentais arbustivas e herbáceas (Raij et al. 1997), visto que não há uma recomendação específica para espécies de lavanda e levando em consideração que as plantas do gênero *Lavandula* são menos exigentes quanto a adubação, optou-se por não realizar na implantação.

Tabela 1. Análise química do solo da área utilizada para cultivo das matrizes. Unioeste, *Campus* Marechal C. Rondon, PR.

P	MO	pHCaCl <sub>2</sub>	H+Al	Al <sup>3+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SB	CTC	V	Al
mg	g dm <sup>-3</sup>	0,01 mol L <sup>-1</sup>				cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					%
78,41	26,66	6,44	2,42	0	0,64	4,79	4,07	9,50	11,90	80	0

Foi realizada fertilização apenas com ureia aos 45 dias após o transplântio, aplicando 40 g por planta. Após o plantio das mudas foram realizados tratamentos culturais como capina manual para eliminar plantas daninhas, controle visual de pragas e doenças, sendo realizado

semanalmente, e quando necessário, utilizaram-se defensivos agrícolas, como inseticida de princípio ativo Teflubenzurom (Nomolt 150) para lagartas. A irrigação ocorreu diariamente, por sistema de irrigação tipo aspersão, acionado durante 30 min. e uma vez ao dia.

Decorridos 150 dias do transplante (março de 2019), foram coletados ramos das plantas matrizes com auxílio de uma tesoura de poda, logo no início da manhã, acondicionados em sacos de rafia e transportados até o telado, onde permaneceram em caixa d'água durante a montagem do experimento.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4 [espécie *L. latifolia* e *L. canariensis* x concentrações de 0, 1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> de ácido indol butírico (AIB)], resultando em 8 tratamentos, contendo 3 repetições e 50 estacas por repetição, totalizando 1200 estacas.

O AIB utilizado foi pesado em balança analítica com 4 casas decimais depois da vírgula, sendo posteriormente diluído em 0,1 L de álcool etílico hidratado a 46,2° INPM e acrescido 0,1 L de água destilada, resultando em 0,2 L das concentrações finais (1000, 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente).

As estacas foram preparadas a partir dos ramos coletados na Estação Experimental, com 10 cm de comprimento e mantendo cerca de 1/3 das folhas. A base das estacas foi mergulhada por 10 s nas soluções de AIB preparadas. Para o tratamento testemunha (sem AIB), as bases das estacas foram mergulhadas apenas em água destilada por 10 s.

Após os tratamentos, as estacas foram dispostas em canteiro de alvenaria (1x 3m) em ambiente coberto (telado), incluindo as laterais, com malha que proporcionava 50% sombreamento. O canteiro continha areia lavada de textura média, a qual passou por desinfecção prévia, utilizando 1 L de hipoclorito de sódio diluído em 10 L de água, e distribuído pela sua extensão com auxílio de um regador. Foi utilizado espaçamento de 5 x 5 cm entre as estacas.

Durante o período de enraizamento (42 dias) foram realizados tratos culturais como capina manual, controle visual de pragas e doenças, sendo necessária a utilização de inseticida de princípio ativo Teflubenzurom (Nomolt 150) para controle de lagartas. A irrigação ocorreu diariamente, por sistema de irrigação tipo microaspersão, acionado durante 5 min e intervalos médios de 1 h, com vazão de  $1,17 \times 10^{-8} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ .

A temperatura média durante o experimento foi de 23°C e a umidade relativa (UR%) foi de 80%, dados estes obtidos da estação meteorológica de observação de superfície automática de Marechal Cândido Rondon-PR.

Decorridos 42 dias (6 semanas, sendo final do mês de abril de 2019) da implantação do experimento, avaliou-se aspectos fitotécnicos como a percentagem de estacas enraizadas e calejadas, número de raízes e comprimento da maior raiz (cm). Das 50 estacas por repetição, 25 foram reservadas para estas avaliações. Estas tiveram as raízes cuidadosamente lavadas em água corrente e secas em papel toalha. Para aquelas variáveis que envolviam percentagem (estacas enraizadas e calejadas) foi feita a contagem e calculada então a percentagem. Para o comprimento da maior raiz, utilizou-se régua graduada para medição.

As médias das variáveis qualitativas obtidas foram submetidas à análise de variância, sendo posteriormente comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro e a média das variáveis quantitativas submetidas à regressão, por meio do software estatístico Sisvar (Ferreira 2011).

Foi realizada análise anatômicas das estacas, sendo que das 50 colocadas para enraizamento por repetição, 25 foram reservadas para este fim, com amostragem de cinco estacas a cada sete dias chegando até os 42 DAE (dias após estaquia). Para o tempo zero (dia da montagem do experimento) foram elaboradas estacas extras para este fim e a última amostragem ocorrida na sexta semana (dia da avaliação dos demais parâmetros) foi coletada depois das avaliações fitotécnicas. As amostras foram retiradas com auxílio de uma tesoura de

poda e compostas pela base da estaca e do entrenó mais próximo à base da estaca em estacas que não apresentavam enraizamento e da região que apresentava raízes em amostras com enraizamento.

O material coletado de cada amostragem foi acondicionado em embalagens de acrílico (capacidade de 10 ml e fechamento com tampa de pressão) identificadas com o tratamento e data de coleta e fixados em FAA 70% (37% formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 70% na proporção de 1:1:18) (Johansen 1940) por 48 horas e posteriormente conservados em álcool 70%.

As análises anatômicas qualitativas foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Morfologia de Plantas na Unioeste, *Campus* Cascavel/PR. Para cada amostra foi selecionada três porções para a elaboração das secções anatômicas. Foram realizadas secções transversais à mão livre das diferentes porções com auxílio de lâmina de barbear de aço inoxidável. As secções foram clarificadas forma hipoclorito de sódio 50%, submetidas a tríplice lavagem com água destiladas para dupla coloração com azul de alcian (1%) e Fucsina básica (1%) (Kraus et al. 1998) e montagem em meio semipermanente em glicerina 70%.

As lâminas foram avaliadas no Laboratório de Fotomicroscopia da Unioeste, *Campus* Cascavel/PR, observando onde havia formação radicular ou primórdio radiculares. As imagens das secções anatômicas foram capturadas com auxílio de câmera digital DP041 acoplada ao fotomicroscópio Olympus Bx70 utilizando o programa DP Controller. As fotos foram selecionadas e arranjadas em formato de prancha com auxílio do programa Adobe Photoshop, para melhor visualização.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável percentagem de estacas enraizadas houve interação entre espécie e concentração de AIB, com CV de 25.29%. Observa-se na Figura 1 que para esta variável

houve incremento com o uso de AIB, principalmente para a espécie *L. canarienses*, podendo haver um aumento linear no enraizamento em relação ao aumento das concentrações do AIB, com melhor resultado utilizando 3000 mg L<sup>-1</sup>. Entretanto, o enraizamento da espécie *L. latifolia* não sofreu influência do fitoregulador, visto que sem a adição do mesmo, a percentagem de enraizamento foi de 35%, também apresentou um aumento da percentagem de enraizamento, porém não tão expressivo.

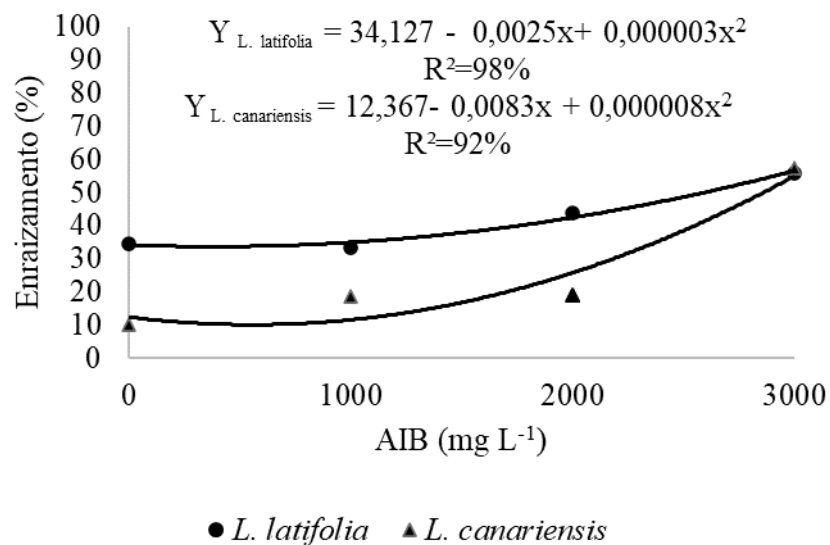


Figura 1. Percentagem de estacas enraizadas em função da espécie de lavanda e concentrações de ácido indolbutírico (AIB).

Resultados parecidos para *L. angustifolia* cv. 'Provence Blue' foram obtidos por Machado et al. (2011), que observaram que na ausência de AIB houve a redução na percentagem de enraizamento e com o uso de AIB observaram entre 80 e 100% de enraizamento.

Para algumas espécies os teores endógenos de auxinas são suficientes para desdiferenciação e indução da divisão celular, independentemente da aplicação exógena de auxina (Vignolo et al. 2012). Fachinello et al. (2005) afirmam que o teor adequado de auxina

exógena depende da concentração existente no tecido. Como observado nos resultados obtidos, *L. canarienses* teve um maior efeito possivelmente por ter teores internos de auxina inferiores a *L. latifolia*.

Para a variável estacas calejadas houve significância apenas para espécie, com CV de 14,76%. Observa-se na Tabela 2 que a espécie *L. latifolia* apresenta menor percentagem de mudas com calos.

Tabela 2. Estacas calejadas (%) em mudas de duas espécies de lavanda.

Espécies	Comprimento raiz (cm)	Estacas calejadas (%)
<i>L. latifolia</i>	4,52 a <sup>1</sup>	0,66 a <sup>1</sup>
<i>L. canariensis</i>	2,48 b	5,66 b

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. Dados transformados para raiz quadrada de  $Y + 1.0$ .

Observa-se que os resultados de enraizamento e calejamento foram inversamente proporcionais, pois a espécie que teve maior percentagem de enraizamento (Figura 1) foi a *L. latifolia* e para estacas calejadas foi a que teve menor percentagem de estacas calejadas. O mesmo ocorreu para *L. canariensis*. A variável comprimento da raiz foi significativa apenas para espécie, com CV de 14,76%. Na Tabela 2 observam-se valores maiores para a espécie *L. latifolia*.

As espécies pertencentes à família Lamiaceae diferem muito quanto à resposta de enraizamento à reguladores de crescimento (Paulus et al. 2016). Costa Júnior et al. (2018), em trabalho com estaquia de *Rhaphiodon echinus* Schauer (Lamiaceae), em diversas concentrações de AIB encontraram aumento no comprimento da maior raiz quando utilizada a concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup>, em comparação a não utilização, porém este tratamento não

diferiu das demais concentrações utilizadas (2000 e 4000 mg L<sup>-1</sup>). Diferente do que foi encontrado para *L. latifolia* e *L. canariensis*, onde as concentrações não foram significativas para a variável avaliada.

O número de raízes apresentou significância para a interação entre concentração de AIB e espécie, com cv de 17,79%. Observando a Figura 2, percebe-se que para ambas as espécies houve incremento no número de raízes com o uso do AIB.

Paulus et al. (2016), em trabalho com estacas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), da mesma família das lavandas, em diferentes concentrações de AIB encontraram que a aplicação de auxinas exógenas nas estacas propiciou efeitos favoráveis ao crescimento, qualidade do sistema radicular e enraizamento de estacas. Dentre as concentrações trabalhadas (0 a 3000 mg L<sup>-1</sup>), o tratamento com 2500 mg L<sup>-1</sup> resultou em maiores massas fresca e seca de raízes, o que pode ser associado ao maior número de raízes. Já quando não se utilizou o AIB obtiveram menores valores para este parâmetro.

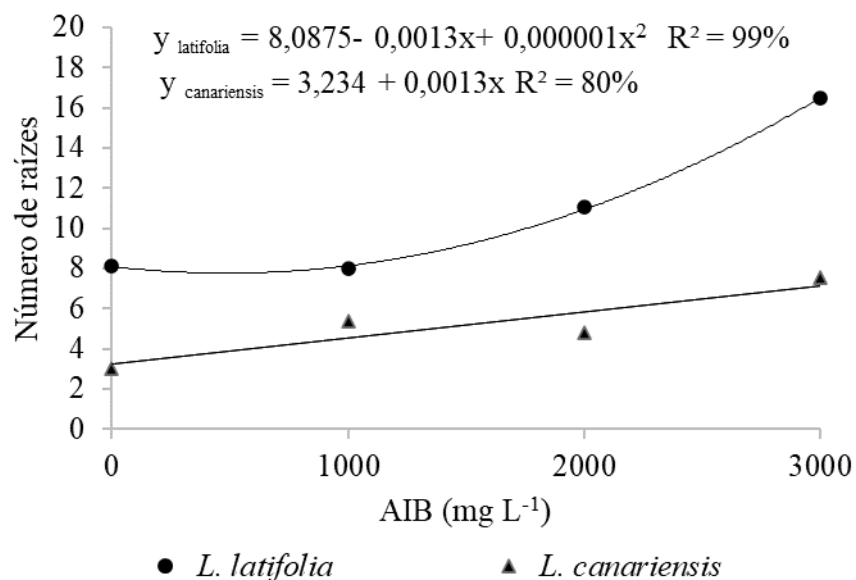


Figura 2. Número de raízes em função da espécie de lavanda e concentrações de AIB.

Ao tratar a base da estaca com reguladores de crescimento como o AIB, os carboidratos são translocados para a área tratada, aumentando a taxa de respiração e ocorrendo transformação dos carboidratos e compostos nitrogenados orgânicos, sendo que este pode acelerar o metabolismo normal e aumentar o número de primórdios radiculares (Paulus et al. 2016), justificando assim que maiores concentrações tenham obtido maiores número de raízes.

Para as avaliações fitotécnicas, percebe-se que houve incremento quanto ao número de raízes e enraizamento quando se faz uso de fitorregulador, melhorando assim o sistema radicular, sendo as demais características influenciadas pela própria espécie apenas.

O estudo anatômico das espécies encontra-se nas Figura 3 e 4. No estudo histológico caulinar de *L. latifolia* (Fig. 3) em diferentes períodos de enraizamento e concentrações de AIB observa-se que o caule apresenta estrutura essencialmente secundária com tecido vascular secundário (Fig. 3), mas regiões com epiderme ainda podem ser visualizadas no caule com 7 dias. Em todos os períodos e concentrações notam-se feixes de fibras isolados na região cortical, mas que estes não impedem a emergência das raízes (L.A. 35 1000; L.A. 35 2000). Nota-se também que com o crescimento secundário, essa camada de fibra é descartada durante a formação da periderme (L.A. 21 1000; L.A. 35 1000). Para *Lavandula latifolia* verifica-se que o uso de AIB promoveu um incremento no número de raízes mesmo em poucos dias após a estaquia, por exemplo para o tratamento de 14 dias e com aumento, perceptível visualmente, no número de raízes relacionado com maiores concentrações de AIB.

Para a espécie *Lavandula canariensis* (Figura 4) nota-se estrutura essencialmente primária até o 21º dia em transição para secundária, com destaque para tecido vascular em transição de primário para secundário e sistema de revestimento com epiderme apresentando tricomas e feixes de fibras bem desenvolvidos sobre o floema primário no período de 7 a 14 dias. Nos demais períodos, nota-se maior atividade cambial na formação de tecidos vasculares



secundários (xilema e floema) e também de raízes adventícias, além do felogênio na produção de periderme. Observa-se, visualmente nas imagens, que houve incremento na formação de raízes adventícias, principalmente nos caules com estrutura secundária estabelecida (28 a 42 DAE) e nas maiores concentrações de AIB (2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup>).

Verificou-se essa diferença entre as 2 espécies onde *L. latifolia* apresentou estrutura essencialmente secundária com tecido vascular secundário e a espécie *L. canariensis* apresentou estrutura essencialmente primária até o 21º dia em transição para secundária na sequência. Juntando este fato com a Figura 2, onde observa-se maior percentagem de enraizamento da espécie *L. latifolia* em relação a *L. canariensis*, percebe-se que pode haver uma relação entre esses dois fatores.

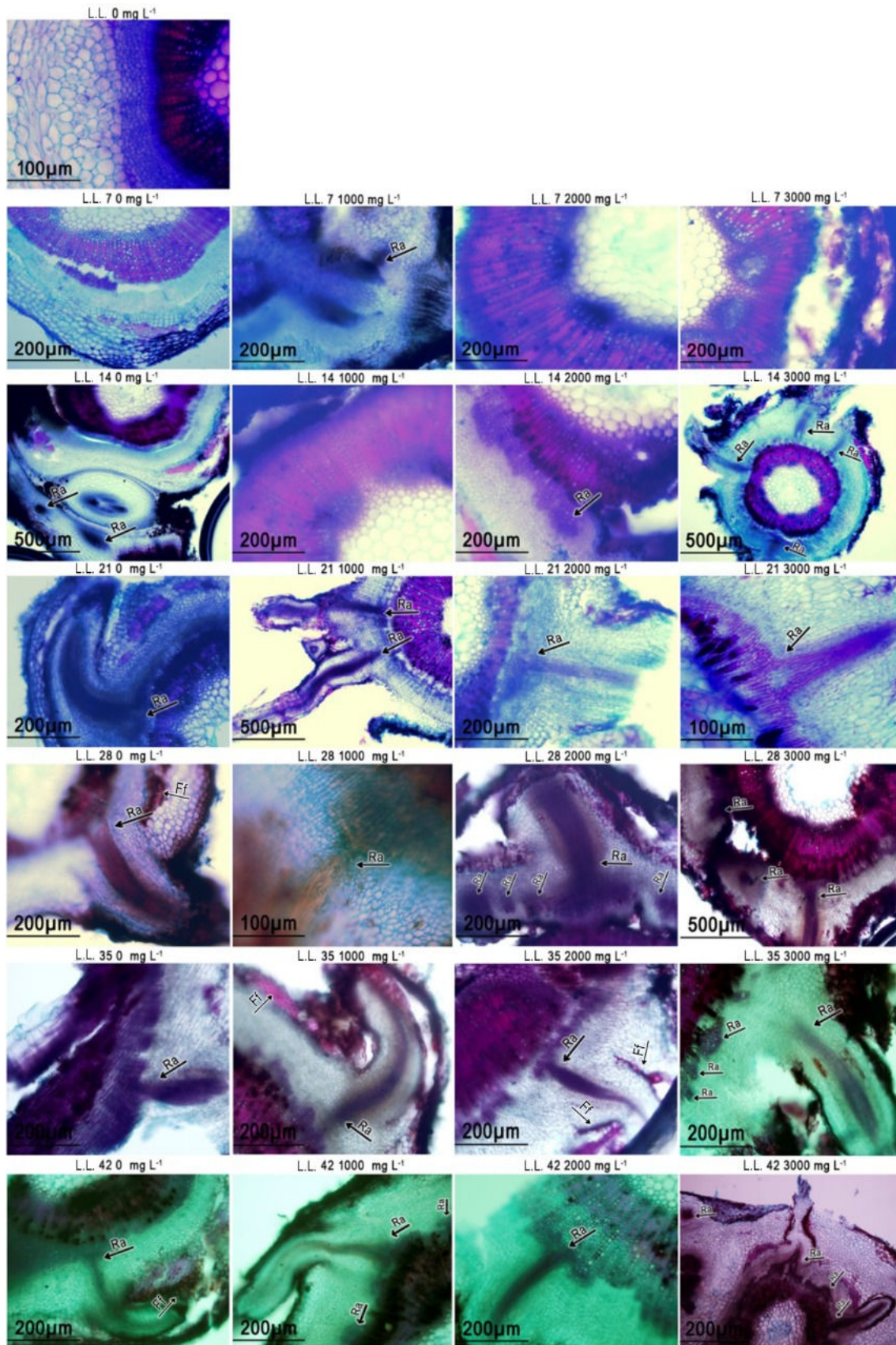


Figura 3: Secções transversais de caules de *Lavandula latifolia* (L.L.) em função dos dias após a estaquia e concentrações ácido indolbutírico (AIB), com destaque para a formação de raiz adventícia (Ra) e feixe de fibras (Ff).

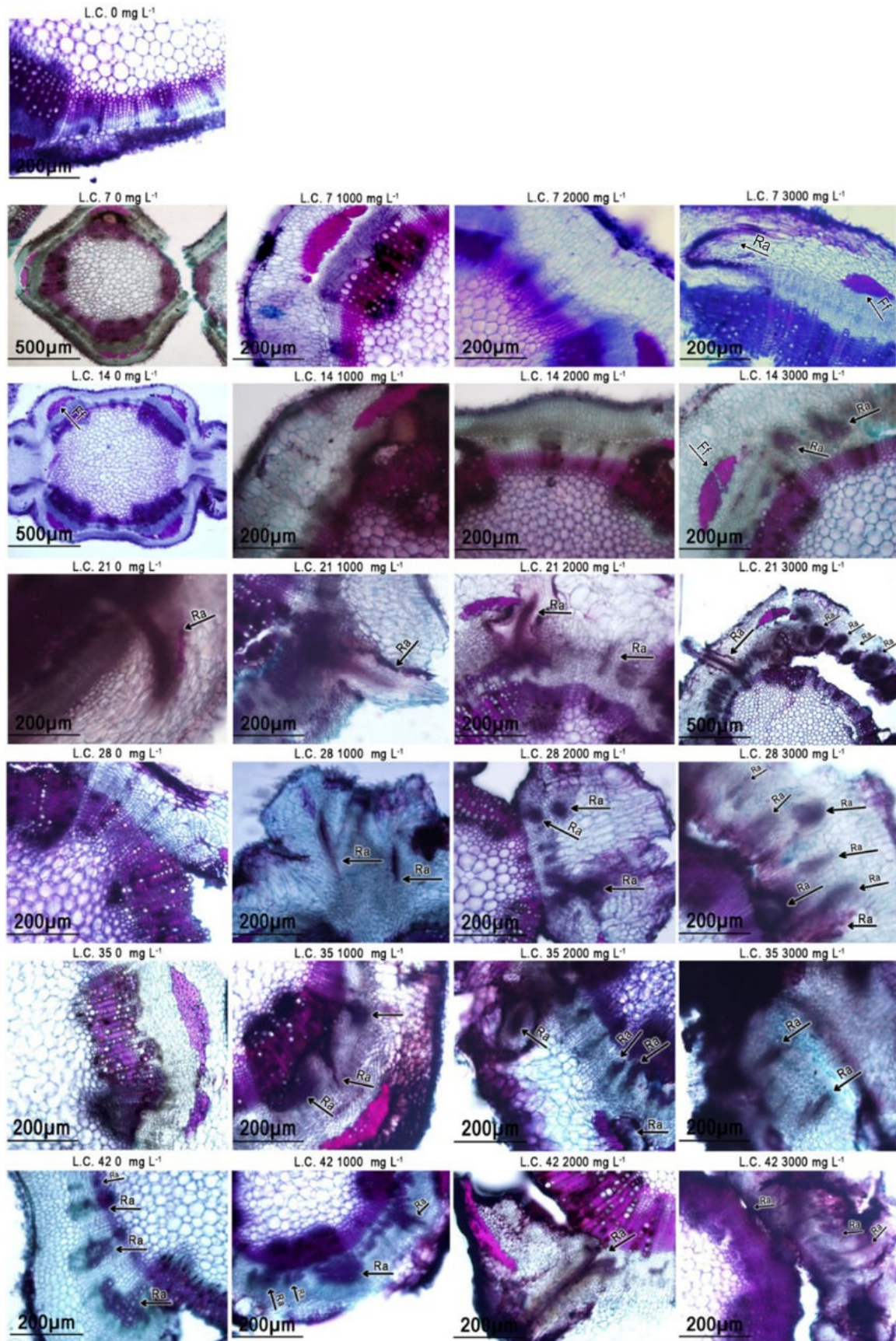


Figura 4: Secções transversais de caules de *Lavandula canariensis* (L.C.) em função dos dias após a estaquia e concentrações ácido indolbutírico (AIB), destacando a produção de raiz adventícias (Ra) e feixe de fibras (FF).

De acordo com Fandino et al. (2021) a aplicação exógena de auxina na raiz principal do corte promove a formação de raízes adventícias (RA) especificamente a partir do câmbio e em *Arabidopsis* há genes responsáveis pela divisão celular cambial durante o crescimento secundário regulação da diferenciação do xilema. Os autores indicam que o câmbio passando por crescimento secundário ativo pode ser reprogramado para formar células fundadoras de RAs em resposta ao corte de raiz. Isso pode justificar a ligação entre maior enraizamento e estrutura essencialmente secundária em *L. latifolia*, diferente do que ocorreu para *L. canariensis*.

## CONCLUSÕES

As duas espécies trabalhadas apresentam diferenças quanto à proporção que respondem ao uso de AIB, mas para ambas se indica o uso da maior concentração (3000 mg L<sup>-1</sup>).

No estudo histológico a espécie *L. latifolia* apresentou estrutura essencialmente secundária e *L. canariensis* apresentou estrutura essencialmente primária.

Em *L. latifolia* há presença de feixes de fibras isolados na região cortical e em *L. canariensis* há tricomas e feixes de fibras bem desenvolvidos sobre o floema, mas que não impedem a emergência de raízes.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M.; FERNANDES, A. J.; FURLAN, M. R. Propagação assexuada do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). *Revista Eletrônica Thesis*, v.14, n.27, p.12-26, 2017.

BONA, C. M.; BIASI, L. A.; LIPSKI, B.; MASETTO, M. A. M.; DESCHAMPS, C. Adventitious rooting of auxin-treated *Lavandula dentata* cuttings. *Ciência Rural*, v.40, n.2, p. 1210-1213, 2010.

BONA, C. M.; REINHART, V.; BIASI, L. A.; ZANETE, F. *Lavandula dentata* and *Lavandula angustifolia* in vitro organogenesis. *Plant Cell Culture & Micropropagation*, v.7, n.2, p. 66-70, 2011.

BONA, C, M.; MASETTO, M. A. M.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L. A. Indução de enraizamento em diferentes acessos de *Lavandula angustifolia* por meio de aplicação de auxina. *Semina: Ciências Agrárias*, v.33, n.1, p. 175-182, 2012.

COSTA JUNIOR, E. S.; BARBOSA, M. S. M.; SILVA, C. M. A.; SILVA, C. S.; KILL, L. H. P.; BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z. Vegetative propagation of *Rhaphiodon echinus* Schauer (Lamiaceae): effects of the period of cutting in rooting, cuttings arrangement and IBA concentrations for seedlings production. *Ornamental Horticulture*, v.24, n.3, p. 238-247, 2018.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. *Propagação de plantas frutíferas*. Brasília, DF: EMBRAPA, 2005. 133 p.

FANDINO, A. C. A.; KIM, H.; RADEMAKER, J. D.; LEE, J. Reprogramming of the cambium regulators during adventitious root development upon wounding of storage tap roots in radish (*Raphanus sativus* L.). *Biology Open*, v.8, n.3, p. 1 -7, 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, A. R.; SILVA, L. R.; CAMARGO, S. M. B.; MORAIS, L. A. S. Morphological and phytochemical characterization of *Lavandula dentata* L. cultivated in Paraíba do Sul, Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Brasiliensis*, v.5, n.1, p. 7-12, 2021.

MACHADO, M. P.; SANTOS, G. D.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L. A. Enraizamento de microestacas de *Lavandula angustifolia*. *Ciência Rural*, v.41, n.5, p. 767-772, 2011.

MASON, J. *Growing & Knowing Lavender*. Queensland, Australia: ACS Distance Education, 2018. 117 p.

NAVROSKI, M. C.; PEREIRA, M. O.; HESS, A. F.; SILVESTRE, R.; ÂNGELO, A. C.; FAZZINI, A. J.; ALVARENGA, A. A. Resgate e praopagação vegetativa de *Sequoia sempervirens*. *Revista Floresta*, v.45, n.2, p. 383-392, 2015.

PARKASH, V.; SINGH, H. *Lavandula angustifolia* L. (Lavender): An important aromatic medicinal shrub and its in vitro micro-propagation for conservation. *Journal of Agricultural Technology*, v.9, n.3, p. 691-702, 2013.

PAULUS, D; VALMORBIDA, R; PAULUS, E. 2016. Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de alecrim. *Horticultura Brasileira*, v.34, n.4, p. 520-528, 2016.

RAIJ, B. B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. Recomendacoes de adubacao e calagem para o estado de Sao Paulo. Boletim técnico no 100. 2º ed. Capinas: Instituto agronomico, 1997. p.285.

UPSON, T. The taxonomy of the genus *Lavandula* L. In: *Lavender: The Genus Lavandula*, London: Taylor & Francis, 2004. p. 2-30.

VIGNOLO, G. K.; FISCHER, D. L. O; ARAUJO, V. F.; KUNDE, R. J.; ANTUNES, L. E. C. Enraizamento de estacas lenhosas de três cultivares de mirtilheiro com diferentes concentrações de AIB. *Ciência Rural*, v.42, n.5, p.795-800, 2012.

### 3 ARTIGO 2

#### Estudo anatômico e propagação assexuada de genótipos de lavanda (*Lavandula latifolia* Medik.)<sup>1</sup>

Anatomical study and asexual propagation of lavender genotypes

(Elaborado de acordo com as normas da Revista Ciência Agronômica)

**RESUMO** - A lavanda é uma espécie aromática que cresce espontaneamente na região mediterrânea. Adquirir mudas de qualidade é fundamental, pois um sistema radicular com número e comprimento adequado das raízes garante sucesso na sobrevivência no campo. Diante do exposto, objetivou-se avaliar o enraizamento de genótipos de lavanda (*Lavandula latifolia* Medik.), utilizando diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB, tipos de imersão no fitorregulador e realização de estudo anatômico das estacas. O trabalho foi desenvolvido no “Centro de Investigación Agroforestal de Albaladejito”, Espanha. Foram desenvolvidos 2 experimentos em ambiente protegido, onde o primeiro contou com 3 genótipos (G621, G763 e G764) x 4 concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 3000 mg L<sup>-1</sup>) e o segundo com os mesmos genótipos x tipos de imersão (lenta e rápida). O delineamento experimental utilizado em ambos experimentos foi blocos casualizados, em esquema fatorial 3x4 (experimento 1) e 3x2 (experimento 2), contendo 3 repetições de 15 estacas e 4 repetições e 15 estacas respectivamente. Verificou-se que o AIB promoveu aumento de 51% no enraizamento do genótipo G621 e de 11% no G763, com exceção do genótipo G764 que teve uma diminuição de 31%. Para número de raízes houve significância apenas para concentrações de AIB e demonstrou diminuição em 54% no número destas com o aumento de AIB. Em relação à imersão, G621 apresentou maior comprimento de raiz na imersão rápida e G764 na imersão lenta. Recomenda-se uma concentração média de 1500 mg L<sup>-1</sup> de AIB para



os genótipos G621 e G763 e de 400 mg L<sup>-1</sup> para o G764. Não existem barreiras anatômicas à emissão das raízes adventícias.

**Palavras-chave:** Ácido indolbutírico. Estaquia. Anatomia caulinar

**ABSTRACT** - Lavender is an aromatic species that grows spontaneously in the Mediterranean region. Acquiring quality seedlings is essential, as a root system with an adequate number and length of roots ensures successful survival in the field. Given the above, the objective was to evaluate the rooting of lavender genotypes (*Lavender latifolia* Medik.), using different concentrations of indolebutyric acid (IBA, types of immersion in the plant regulator and carrying out an anatomical study of the cuttings. The work was developed at the "Centro de Investigación Agroforestal de Albaladejito", Spain. Two experiments were carried out in a protected environment, where the first had 3 genotypes (G621, G763 and G764) x 4 IBA concentrations (0, 1000, 2000, 3000 mg L<sup>-1</sup>) and the second with the same genotypes x types of immersion (slow and fast) The experimental design used in both experiments was randomized blocks, in a factorial scheme 3x4 (experiment 1) and 3x2 (experiment 2), containing 3 replications of 15 cuttings and 4 repetitions and 15 cuttings respectively. It was verified that the AIB promoted an increase of 51% in the rooting of the G621 genotype and of 11% in the G763, with the exception of the G764 genotype which had a decrease of 31%. es there was significance only for IBA concentrations and showed a 54% decrease in the number of these with the increase of IBA. In relation to immersion, G621 showed greater root length in fast immersion and G764 in slow immersion. An average concentration of 1500 mg L<sup>-1</sup> of IBA is recommended for genotypes G621 and G763 and 400 mg L<sup>-1</sup> for G764. There are no anatomical barriers to the emission of adventitious roots.

**Key words:** *Indolebutyric acid. Cutting. Stem anatomy*

## INTRODUÇÃO

Na Espanha, a família Lamiaceae é representada pelas espécies alecrim, tomilho, sálvia espanhola e lavanda. Estas têm sido exploradas em seus habitats naturais e seu cultivo comercial deve ser economicamente viável (ÁLVAREZ, 2006; SANTANA *et al.*, 2012).

Várias espécies do gênero *Lavandula* são reconhecidas como lavanda, sendo as mais comuns *Lavandula dentata* L., *L. angustifolia* Mill., *L. stoechas* L., *L. angustifolia* x *latifolia* e *L. latifolia* Medik. (CASTRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2014).

A *L. latifolia* Medik. é uma espécie aromática medicinal que cresce espontaneamente na região mediterrânea, em áreas com precipitação anual entre 350 e 600 mm, com solos calcários, pH entre 7,3-8,4 e relativamente pobres em matéria orgânica (HERRAIZ-PEÑALVER *et al.*, 2013). Seu cruzamento com *L. angustifolia* dá origem ao híbrido lavandim (*L. x intermedia* Emeric ex Loisel), muito cultivado e famoso por suas qualidades de óleo essencial próximas a da lavanda francesa (*L. angustifolia*) (BRAVO; MENEGUSSO, 2021).

Basear-se na coleta silvestre de partes da planta de lavanda traz limitações para produção comercial, devido a heterogeneidade da produção e da qualidade do produto obtido, além do impacto ambiental. Por isso, é importante pensar e planejar o cultivo, levando em consideração a implantação e as práticas culturais necessárias para a manutenção da cultura (CHRYSARGYRIS; PANAYIOTOU; TZORTZAKIS, 2015).

Para iniciar o planejamento do cultivo, a implantação deve contar com material de qualidade e homogêneo, podendo este ser obtido principalmente via assexuada pelo método de estaquia, visto que economicamente e agronomicamente é mais vantajoso em relação ao uso de propagação sexuada (sementes) (BONA; BIASI, 2010; SOUZA *et al.*, 2020).

Entre os fatores que podem afetar o enraizamento de estacas, têm-se os fatores internos e os fatores externos como, por exemplo, os fitorreguladores (NAVROSKI *et al.*, 2015). Seu

uso tem o propósito de induzir o processo rizogênico e uniformizar o enraizamento (HARTMANN *et al.*, 2017). Dentre estes fitorreguladores, destaca-se o ácido indolbutírico (AIB), considerada uma auxina fotoestável, de ação localizada, persistente, não tóxica, não degradado por ação biológica e pouco móvel (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Duas formas de aplicação do AIB podem ser citadas, dentre elas, diluída ou imersão lenta e a concentrada ou imersão rápida. A primeira corresponde a uma solução cuja concentração varia de 20 a 200 mg L<sup>-1</sup>, sendo colocada a base da estaca por um tempo maior de imersão na solução, geralmente 24 h e a segunda corresponde a concentração entre 200 e 10.000 mg L<sup>-1</sup> e devem permanecer em contato com a base da estaca por um intervalo de tempo menor, em torno de 5 s (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Outro fator que pode afetar o enraizamento é a ocorrência de barreiras que dificultem emergência das raízes recém-formadas, como fibras e esclereides formando anel contínuo ou em feixes bem desenvolvidos (ZOTTELE; AOYAMA, 2014). Dessa forma, a análise da estrutura anatômica das estacas com enraizamento induzido se faz importante.

Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho realizar estudo anatômico das estacas e avaliar o enraizamento de genótipos de lavanda, utilizando concentrações de ácido indolbutírico (AIB) e modos de aplicação deste fitorregulador.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos em estufa, no período de outubro a dezembro de 2019, no “Centro de Investigación Agroforestal de Albaladejito” (CIAF), situado a 6 km da cidade de Cuenca, província de Cuenca, Espanha (40°04’35,8” N; 2°07’54,3” O).

Os genótipos (G621, G763 e G764) de lavanda (*Lavandula latifolia* Medik.) utilizados foram oriundos do Banco de Germoplasma Vegetal de Cuenca, pertencente ao “Departamento

de Gestión y Conservación de Recursos Fitogenéticos”, localizado no CIAF. As lavandas mantidas no Banco de Germoplasma são originárias de sementes coletadas de plantas espontâneas, em diferentes regiões e províncias da Espanha e cultivadas em campo aberto. Além da conservação genética, as plantas são selecionadas com finalidade de alto rendimento e com qualidade de óleo essencial.

O solo onde as matrizes do banco de germoplasma estavam mantidas foi classificado, após análise físico-química, como franco-argiloso e com as seguintes características: pH 7,68; 144,05  $\mu\text{Sm cm}^{-1}$  de condutividade; 14,04% de calcário ativo; 41,12% de carbonatos; 1,31% de matéria orgânica oxidável; 0,097% de nitrogênio total; 19,1  $\text{mg kg}^{-1}$  de fósforo assimilável; 8 de relação carbono/nitrogênio e 0,36% de potássio.

A coleta de material vegetal ocorreu às 8 horas da manhã, com auxílio de uma tesoura de poda, sendo retirados os ramos de toda a planta de forma homogênea, cultivadas na mesma linha. Em seguida, os ramos foram levados ao Setor de Plantas Aromáticas, onde as estacas foram preparadas com 10 cm de comprimento, corte em bisel logo abaixo da gema e deixando 2/3 das folhas (Figura 1). Foram utilizadas estacas apicais no experimento 1 e basais no experimento 2. Para conservação, as estacas preparadas permaneceram por 15 horas em ambiente refrigerado a 6,4°C até implantação dos experimentos.

Como ambiente protegido utilizou-se estufa em arco coberta com filme plástico, a qual era dotada de sistema de controle de temperatura com acionamento de aquecimento no inverno para temperaturas menores que 5°C e de resfriamento (sistema PAD, painel-exaustor, baseia-se em forçar, por meio de exaustores, a passagem do ar externo à instalação através de um painel de material poroso umedecido com água) para temperaturas maiores que 25°C. Utilizaram-se bancadas de enraizamento não aquecidas elaboradas em ferro com medidas de 1,5 x 4m de comprimento, profundidade de 0,15m e com altura de 0,7 m em relação ao solo.

As bancadas foram preenchidas com 10 cm da mistura de substrato comercial Compo Sana Universal<sup>®</sup> + solo franco-argiloso, na proporção 1:1, v:v e perlita expandida Projar<sup>®</sup> (4 cm).

**Figura 1:** Estacas apicais de *Lavandula latifolia* genótipos A) G621, B) G763 e C) G764.



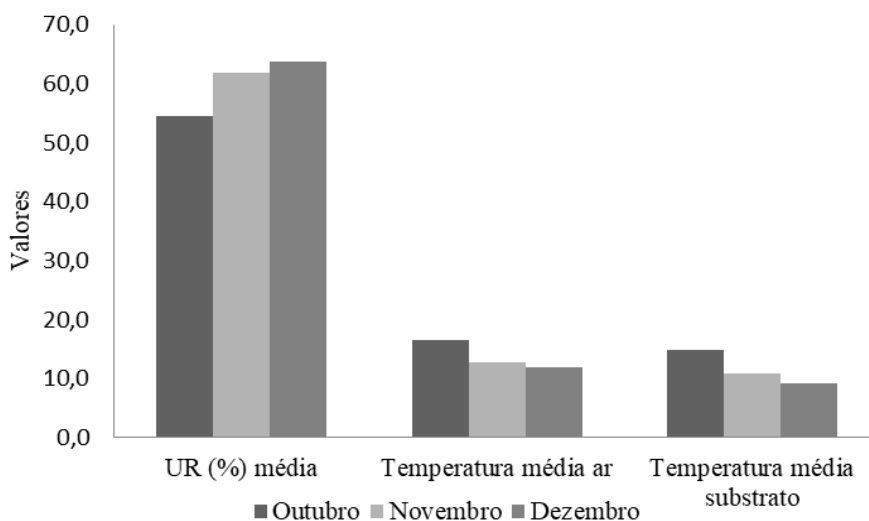
Após a análise físico-química da mistura de substrato comercial + solo, esta foi classificada como franco, apresentando: 10,49% de argila; 51,65% de areia; 37,86% de silte; pH = 7,36; 1020,5 uSm cm<sup>-1</sup> de condutividade; 7,61% de calcário ativo; 16,33% de carbonatos; 10,52% de matéria orgânica oxidável; 0,366% de nitrogênio total; 93,3 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo assimilável; 17 de relação carbono/nitrogênio e 0,32% de potássio.

A umidade relativa média do ar, temperatura média do ar e temperatura média da mistura de substrato foram medidas diariamente em dois horários, às 8h e às 13h e as médias disponibilizadas na Figura 2.

Utilizou-se para tais, termômetro digital de leitura direta (modelo temp5 PT100, XSinstruments<sup>®</sup>) e termohigrômetro portátil (XSinstruments<sup>®</sup>). A umidade da mistura do

substrato era coletada de 5 em 5 minutos automaticamente por um sensor de umidade edáfica (Data logger decagon devices Em-5b).

**Figura 2:** Dados de umidade relativa média do ar (%), temperatura média do ar (°C) e temperatura média da mistura de substrato (°C) para experimento com lavanda.



Foram realizados dois experimentos concomitantes com estaqueamento e um estudo anatômico do material enraizado. O delineamento experimental utilizado em ambos os experimentos foi blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 4 [3 genótipos de lavanda (G621, G763 e G764) x 4 concentrações de AIB (0, 1000, 2000, 3000 mg L<sup>-1</sup>)], contendo 3 repetições e 15 estacas por repetição (experimento 1) e 3 x 2 [3 genótipos de lavanda (G621, G763 e G764) x 2 tipos de imersão em solução de AIB (lenta ou rápida)], contendo 4 repetições e 15 estacas por repetição (experimento 2).

Para o primeiro experimento pesou-se o AIB em balança de precisão, com 3 casas decimais modelo FH6000 marca Anapesing<sup>®</sup>, a quantidade correspondente a cada tratamento, posteriormente diluída em 100 mL de álcool 96°, acrescida de 100 mL de água destilada. A base das estacas permaneceu por 10 s em contato com a solução final preparada e em seguida levadas a bancada de enraizamento.

Para o segundo experimento utilizou-se 2500 mg L<sup>-1</sup> de AIB na imersão rápida e 200 mg L<sup>-1</sup> na imersão lenta. Para o preparo das soluções, a diluição do AIB ocorreu da mesma forma que no primeiro experimento, sendo utilizado 200 ml de solução final (imersão rápida – 10 s) e 500ml (imersão lenta – 24 h). Na imersão lenta, a solução foi agitada por 24 h com agitador magnético (modelo MC-8, marca Bunsen), a fim de promover uma oxigenação constante. A disposição das estacas na bancada de enraizamento foi em espaçamento 5 x 5 cm, para ambos experimentos.

As estacas de ambos os experimentos permaneceram por 90 dias no leito de enraizamento. A irrigação com cinco microaspersores ocorreu três vezes ao dia (12:30 h; 15:30 h e 18:30 h), durante 12 dias, com duração de 1 min e volume de 0,0066 L s<sup>-1</sup> (400 mL min<sup>-1</sup>). A partir do 13º dia até o dia da avaliação (ao finalizar 90 dias), as irrigações ocorreram as 12:30 h e 15:30 h, com o mesmo número de microaspersores e volume de água.

Após este período, foram retiradas cuidadosamente, tendo o sistema radicular lavado em água corrente e seco em papel toalha para as futuras avaliações fitotécnicas: comprimento médio das raízes (cm) com uso de régua graduada, número de raízes e enraizamento (%). Os dados obtidos foram tabulados e submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e na sequência à análise de variância, com as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro, para os dados qualitativos e regressão para os dados quantitativos, utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2011).

No experimento 1, a análise anatômica qualitativa do caule com presença de raízes adventícias foi realizada a partir de 5 amostras de cada tratamento escolhidas ao acaso, realizado no Laboratório de Controle de Qualidade do CIAF (“Centro de Investigaciones Agrárias de Albaladejito”). Estas amostras foram retiradas na parte da manhã, com auxílio de uma tesoura de poda, sendo imediatamente levadas ao laboratório.

O material coletado foi acondicionado em embalagens de acrílico (capacidade de 10 mL e fechamento com tampa de pressão), identificadas e preenchidas com fixador FAA 70% (37% formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 70% na proporção de 1:1:18), fechadas e mantidas em local fresco e sem luminosidade. Após 48 h, o FAA 70% foi substituído por álcool 70% e mantido no mesmo local até o momento da montagem das lâminas (JOHANSEN, 1940).

As lâminas foram elaboradas no laboratório, onde de cada amostra composta foram selecionados 3 partes para representação e posterior montagem de lâmina semipermanente. A partir das amostras foram feitas secções anatômicas transversais à mão livre, apoiadas em bloco de poliestireno. Após a realização dos cortes e aplicação dos corantes nas amostras, procedeu-se a montagem das lâminas (KRAUS; ARDIUM, 1997). As secções foram submetidas a tríplice lavagem com água destiladas para dupla coloração com azul de alcian (1%) e fucsina básica (1%) (KRAUS et al., 1998) e montagem em meio semipermanente em glicerina 70%.

As imagens das lâminas contendo as amostras foram capturadas com auxílio de câmera digital Samsung® S9 acoplada ao microscópio modelo HM-LUX 3 marca Leitz®. As fotos foram selecionadas e arranjadas em formato de prancha com auxílio do programa Adobe Photoshop®, para melhor visualização.

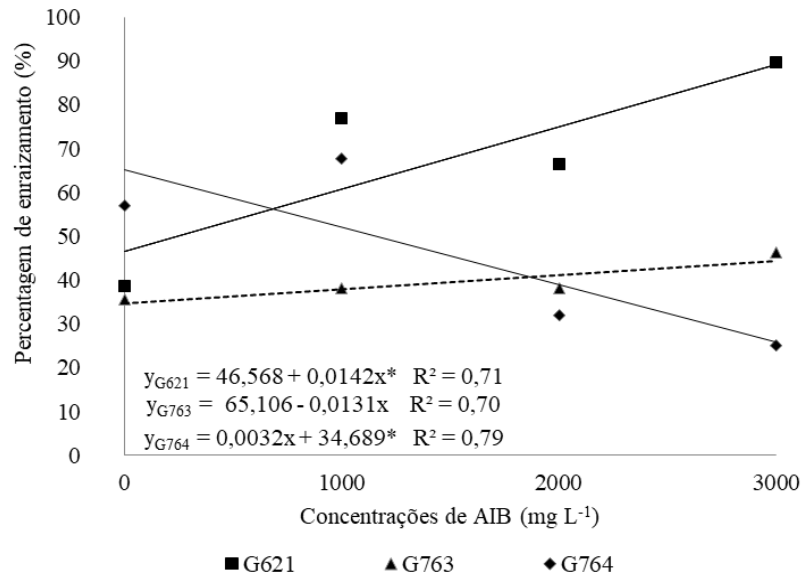
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimento 1

Para a percentagem de enraizamento (%) houve interação entre as fontes de variação concentração de AIB ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e genótipos ( $p < 0,05$ ). Na Figura 3 observam-se os dados obtidos.



**Figura 3:** Percentagem de enraizamento (%) de estacas de lavanda em função dos genótipos e concentrações de ácido indolbutírico (AIB).



Para G621, no desdobramento da interação significativa pode-se observar um aumento linear no enraizamento em relação ao aumento das concentrações do AIB, com melhor resultado utilizando 3000 mg L<sup>-1</sup>. Melhores resultados com o uso de AIB podem estar relacionados ao fato de a auxina estimular a síntese de etileno, favorecendo a emissão de raízes e por consequência o enraizamento das estacas. A aplicação de auxina pode regular a produção de etileno e é sugerido que o etileno induzido pela auxina possa ser responsável pela capacidade da auxina causar o enraizamento (HARTMANN et al., 2017)

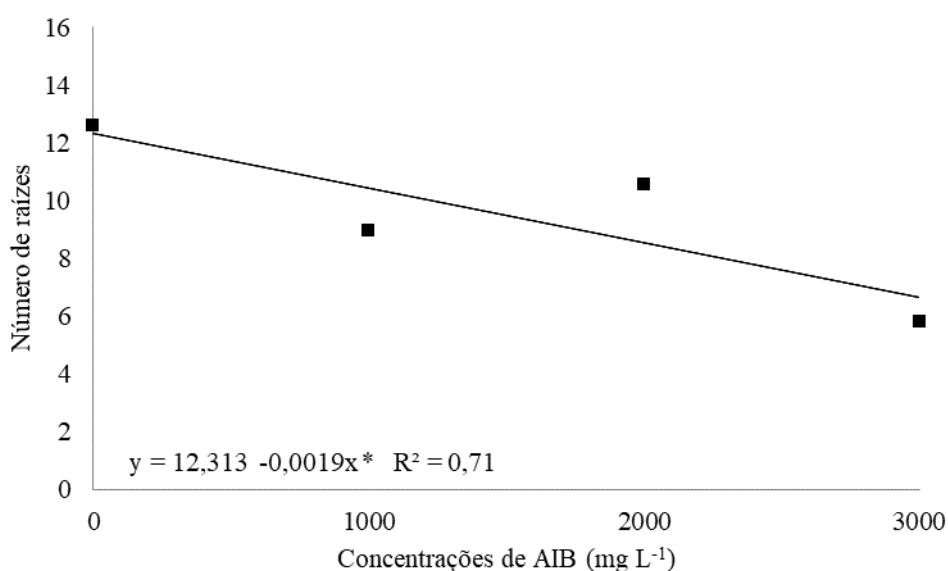
Paulus, Valmorbidia e Paulus (2016) em trabalho desenvolvido com outra espécie da família Lamiaceae, o alecrim (*Rosmarinus officinalis*), encontraram que o uso do AIB promoveu uma maior percentagem de enraizamento. Com a dose de 2500 mg L<sup>-1</sup> obteve-se o maior enraizamento enquanto que sem o uso de AIB o enraizamento apresentou o menor valor, 53%, quando comparada aos demais tratamentos.

O inverso foi verificado para o G764, com melhores resultados sem a presença do fitorregulador, devido a fitotoxidez do AIB, ou seja, a auxina exógena causou um desequilíbrio nas relações fitohormonais, levando a doses supra ótimas de auxina o que causaria uma fitotoxidez e um efeito contrário do esperado ao uso de AIB. Dados e justificativa semelhantes quanto a fitotoxidez foram expostos por Petri et al. (2012).

Diferentes respostas nos genótipos podem ser justificáveis também, pois segundo Bona et al. (2012) genótipos diferentes de uma mesma espécie (*L. angustifolia*) podem responder de formas diversas para aplicação de AIB.

A respeito do número de raízes, verificou-se significância para concentrações de AIB ( $p < 0,05$ ) (Figura 4) e os genótipos de lavanda ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1), separadamente.

**Figura 4:** Número de raízes em mudas de lavanda em função das concentrações de ácido indolbutírico (AIB). Dados transformados para raiz quadrada de  $Y+1.0$ .



Observa-se na Figura 4 que o número de raízes apresentou tendência a diminuir com o aumento da concentração de AIB. Para algumas espécies as auxinas estimulam a indução do

enraizamento, que é quando a auxina age como o sinal para iniciar a divisão celular e formação do novo meristema, porém, inibem as fases de iniciação e alongamento, apresentando dessa forma efeito negativo no desenvolvimento das raízes adventícias como ocorreu para lavanda.

O mesmo foi observado por Machado, Deschamps e Biasi (2013), em microestacas de *Lavandula angustifolia*, onde a ausência da auxina no meio de cultura resultou em maior número de raízes principais por microestacas.

O uso de fitorreguladores pode acelerar o metabolismo, aumentar o número de raízes que serão emitidas na estaca e uniformizar o sistema radicular. Na dinâmica das concentrações pode-se citar como exemplo que uma concentração equilibrada entre auxina e citocinina promove a indução de calo, enquanto uma alta proporção de auxina em relação à citocinina promove raízes, e de citocinina em relação a auxina induz brotos. No entanto, em altas concentrações de fitorreguladores podem ocorrer desequilíbrio ou mesmo uma fitotoxidez, que está sendo demonstrado neste caso em relação às altas concentrações de AIB utilizadas (COSTA JUNIOR et al., 2018; IKEUCHI; SUGIMOTO; IWASE, 2013; PEREIRA et al., 2015).

Os resultados obtidos para número de raízes em relação ao genótipo (Tabela 1) estão ligados ao potencial genético de cada genótipo, respondendo cada um de uma maneira ao enraizamento (CUNHA; MAIA; COELHO, 2012; MACHADO et al., 2011).

**Tabela 1:** Número de raízes em mudas de lavanda em função dos genótipos. Dados transformados para raiz quadrada de Y+1.0.

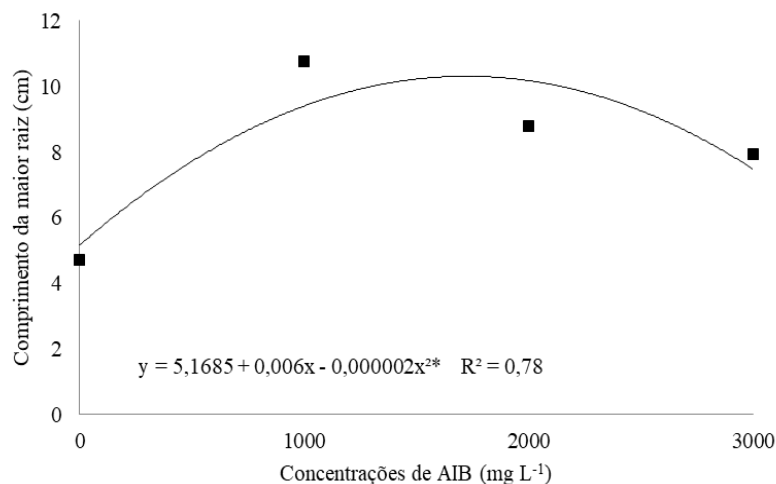
Genótipos de lavanda	Número de raízes
G621	12,55a*
G763	7,66 b
G764	9,20 ab
CV(%)	19,64

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

BONA et al. (2012), em estudo com diferentes genótipos de lavanda encontraram comportamentos diferentes entre eles em relação as doses de AIB e número de raízes, alegando que os genótipos apresentam diferentes potenciais genéticos e, por isso, respostas diferentes.

Comprimento da maior raiz foi significativo para concentrações de AIB ( $p < 0,05$ ). Na Figura 5 verifica-se que o uso de AIB aumentou o comprimento da raiz (cm), apresentando uma diminuição após o pico, mas não sendo inferior ao tratamento  $0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB.

**Figura 5:** Comprimento da maior raiz (cm) em mudas de lavanda em função das concentrações de ácido indolbutírico (AIB).



Machado, Deschamps e Biasi (2013) usando AIB em microestacas de *Lavandula angustifolia* Miller., verificaram uma redução do comprimento das raízes com o aumento das concentrações de AIB, sendo obtidos 8,8 cm na ausência da auxina e 4,9 cm na maior concentração utilizada ( $2,0 \mu\text{M}$  de AIB), ou seja, os comprimentos diminuíram de forma linear.

A resposta encontrada no trabalho acima citado é um pouco diferente daquele apresentado na Figura 5, onde observou-se um aumento e depois diminuição, comportamento

quadrático com ponto de máxima em  $1500 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB, sem o comprimento da maior raiz ser inferior a concentração  $0 \text{ mg L}^{-1}$ , no entanto demonstra que concentrações altas podem ter influência negativa.

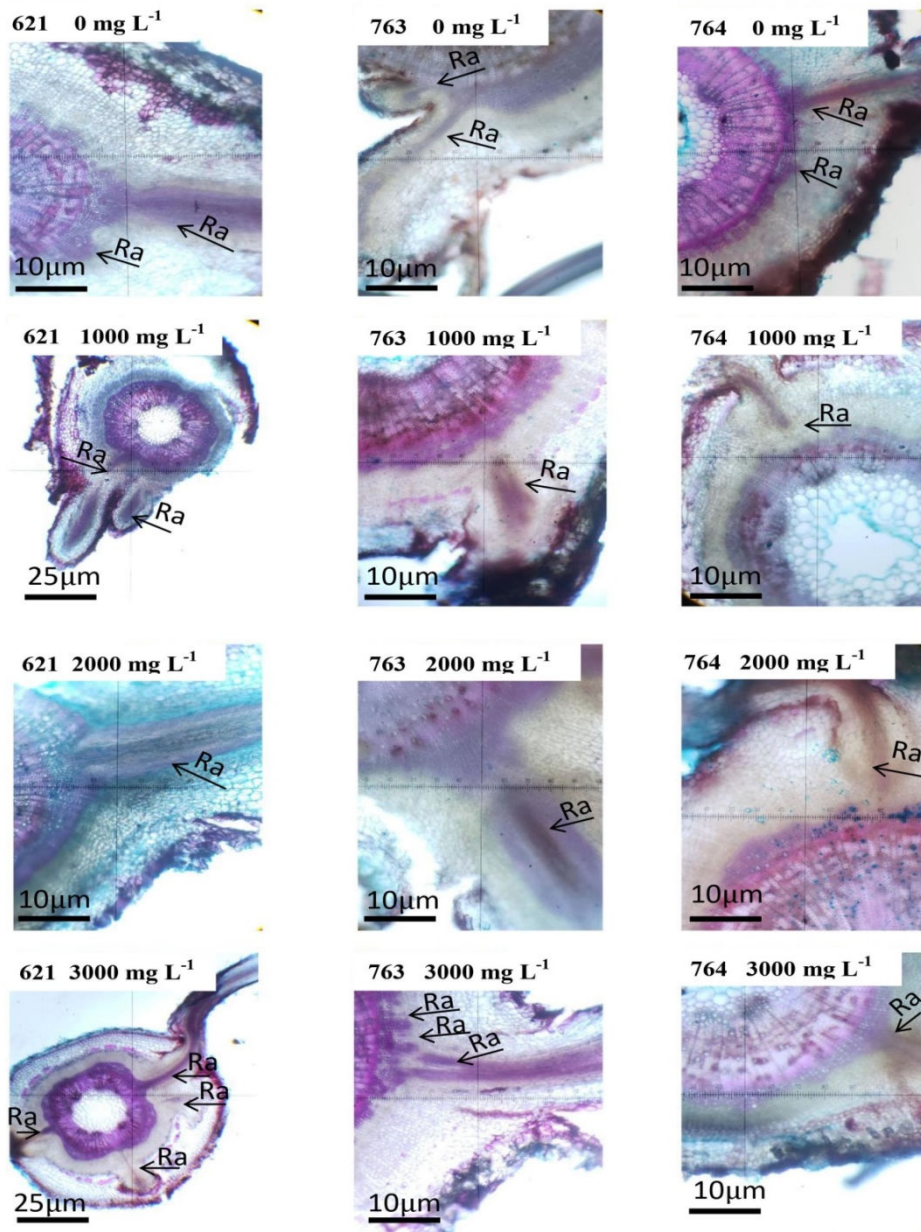
A auxina e o etileno estão associados com o enraizamento e a citocinina e giberelina com a inibição da formação de raízes. O crescimento radicular ocorre quando a divisão celular prevalece sobre a diferenciação. Este fato ocorre devido a uma maior concentração de auxinas que estão relacionadas à divisão celular, enquanto as citocininas promovem a diferenciação. (COSTA JUNIOR et al., 2018; GEISS; GUTIERREZ; BELLINI, 2009; MOUBAYIDIN et al., 2010). Esse equilíbrio entre os fitorreguladores ocorreu com a dose de  $1500 \text{ mg L}^{-1}$ , citado anteriormente como ponto de máxima, que correspondeu a 9,66 cm de comprimento da maior raiz.

No entanto, o processo de enraizamento requer quantidades diferenciais de auxina, dependendo da fase organogênica. No início, a fase de indução requer a presença de uma concentração de auxina relativamente elevada, em comparação com a fase de crescimento. Na indução, a auxina age como o sinal para a inicialização da divisão celular e formação do novo meristema. Após a formação do primórdio radicular, a concentração de auxina, inicialmente favorável à sua indução, torna-se inibitória ao alongamento da raiz. Assim, o nível de auxina adequado à indução é supra-ótimo para a fase seguinte de crescimento. O AIB, por ser mais estável e não se degradar tão facilmente gera concentrações supra-ótimas, inibindo o crescimento das raízes e tornando-se fitotóxico (KERBAUY, 2008).

De acordo com Vignolo et al. (2014) o maior comprimento de raiz pode ter relação com a concentração endógena mais elevada de auxinas, favorável ao maior desenvolvimento do sistema radicular. Levando em consideração o exposto, quando ocorre uma diminuição do comprimento da raiz com concentrações mais altas de auxina exógena, pode ser devido ao desequilíbrio proporcionado por essas concentrações.

Na Figura 6 encontram-se imagens das secções anatômicas dos caules realizados nos genótipos em estudo nas diferentes concentrações de AIB, nestes observa-se que as setas indicam a presença de raízes adventícias (Ra).

**Figura 6:** Corte histológico de caules com raízes de lavanda em função dos genótipos e das concentrações ácido indolbutírico (AIB). Ra = raiz adventícia).



Segundo a Tabela 1 e Figura 6 verificou-se significância para G621 com a formação média de 12,55 raízes por estaca. Nas Figuras 3 e 5 a melhor concentração de AIB ficou na faixa compreendida entre 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>.

Em algumas espécies o insucesso do enraizamento está ligado a presença de barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiculares bem como desenvolvimento de fibras e esclereides no floema primário (RODRIGUES et al., 2017). Nos genótipos analisados feixe de fibras formando um cilindro descontínuo podem ser observados, como por exemplo no caule do genótipo 621.

Sobre as raízes adventícias, no presente estudo tem-se uma organogênese direta, a partir do periciclo. As *Ra* podem ser induzidas, sejam por estresse e adaptação as mudanças ambientais, seja por fermento ou aplicação de hormônio para propagação vegetativa (GEISS; GUTIERREZ; BELLINI, 2009). Seu surgimento pode ocorrer de duas formas: via organogênese direta a partir de tipos de células como o câmbio, córtex, periciclo ou feixes vasculares ou via indireta, quando o processo é precedido pela formação de calo (LI *et al.*, 2009).

As auxinas induzem as células do periciclo e parênquima a se desdiferenciarem e iniciarem as divisões celulares iniciais (LI et al., 2009). No entanto, a concentração hormonal necessária é variável para cada espécie e, portanto, diferentes espécies e até mesmo genótipos da mesma espécie podem responder diferentemente a aplicação de concentrações e tipos de auxinas. Respostas diferenciadas se dão pelo fato de as raízes serem muito sensíveis a essas substâncias e qualquer acréscimo além do necessário pode tornar-se inibitório a formação de raízes adventícias (HARTMANN et al., 2017).

## **Experimento 2**

Para o segundo experimento, observou-se interação significativa para comprimento médio da maior raiz. Para o número de raízes observou-se significância apenas para os genótipos de lavanda e para estacas enraizadas observou-se significância para tipos de imersão de AIB e os genótipos separadamente.

Para comprimento médio da maior raiz (Tabela 2), houve interação entre os genótipos e o tipo de imersão utilizada ( $p < 0,05$ ). Observa-se, que entre os genótipos, o G621 foi o aquele que apresentou maior comprimento, diferindo estatisticamente dos demais, na imersão rápida, sendo 33,61% superior ao G763 e 36,78% superior ao G764. Na imersão lenta, o inverso ocorreu, onde o G764 apresentou maior comprimento, diferindo-se estatisticamente dos outros dois genótipos, sendo 31,86% superior ao G763 e 29,13% ao G621.

**Tabela 2:** Comprimento da maior raiz (cm) em mudas de lavanda em função do modo de aplicação de AIB e genótipos.

Genótipos de lavanda	Modo de aplicação do AIB	
	Rápida	Lenta
G621	14,79 aA*	9,78 bB
G763	9,82 bA	8,98 bA
G764	9,35 bB	13,18 aA
CV(%)	16,77	

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna e letra maiúscula na linha, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro

Dentro de cada genótipo, verifica-se que, para G621 a imersão rápida foi estatisticamente diferente da lenta, apresentando maior comprimento da maior raiz. No genótipo G763 esta não apresenta diferença estatística entre as duas formas de imersão. Para G764 a imersão lenta apresenta melhor desempenho, se mostrando, por exemplo, 32% a mais em relação ao genótipo G763 e estatisticamente diferente da imersão rápida.

A importância deste parâmetro está ligada ao fato da sobrevivência da muda no campo após o transplante em comparação àquelas plantas com sistema radicular com menores



comprimentos de raízes e também com o tempo menor necessário para se obter mudas com comprimento ideal de raiz.

Os resultados encontrados podem ser característicos dos genótipos, demonstrando que alguns tem tecidos com menor ou maior capacidade de absorção do AIB, sendo assim, necessitam concentrações mais altas de fitorregulador, ou seja, trabalhar com imersão rápida para que possa haver estímulo para desenvolvimento de raízes adventícias, enquanto outros uma concentração menor com uma exposição por maior tempo COSTA JUNIOR et al., 2018; ZACCHEO et al., 2013).

Na Tabela 3 verifica-se significância para o número de raízes e estacas enraizadas (%) nos genótipos de lavanda ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 3:** Número de raízes e estacas enraizadas (%) em mudas de lavanda, em função dos genótipos.

Genótipos de lavanda	Número de raízes	Estacas enraizadas (%)
G621	25,67 a*	68,33 a
G763	18,70 b	40,00 b
G764	14,84 b	54,13 ab
CV(%)	24,40	27,97

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Observa-se que, entre os genótipos, aquele que obteve maior número de raízes foi a G621, estatisticamente diferente dos demais genótipos. Apesar de estas plantas pertencerem a mesma família e espécie, são genótipos diferentes, podendo apresentar respostas diferentes para esta variável (BONA et al., 2012)

Quanto ao enraizamento (%), verificou-se que o genótipo G621 apresentou resultado superior, com média facilidade de enraizamento, levando em consideração dados de enraizamento de Bona et al. (2010) para *Lavandula dentata*, onde obtiveram enraizamento de 70 a 90%.

Na Tabela 4 encontram-se os dados de estacas enraizadas (%) relacionados ao tipo de imersão do AIB ( $p < 0,05$ ). De acordo com os resultados, a imersão rápida apresentou maior percentagem de estacas enraizadas.

**Tabela 4:** Estacas enraizadas de lavanda, em função do modo de aplicação do ácido indolbutírico (AIB).

Modo de aplicação do AIB	Estacas enraizadas (%)
Rápida	68,86 a
Lenta	39,40 b
CV(%)	27,97

\*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

O fato de a imersão lenta ter uma menor percentagem de enraizamento pode estar ligado também ao fato de o AIB ter ficado mais tempo em contato com a base da estaca, ter sido mais absorvido e como é um tipo de auxina mais estável e não se degradar tão facilmente gera concentrações maiores do que as necessárias ao longo das fases do processo de enraizamento, as quais requerem quantidades diferentes de auxina como já citado anteriormente (KERBAUY, 2008).

Considerando os dados obtidos percebe-se, por exemplo, no enraizamento, a influência dos genótipos e que o uso de AIB promove benefícios para obtenção de mudas de lavanda por meio da imersão rápida. Novos estudos são necessários para investigar a aplicação destas metodologias em outras espécies de lavanda, bem como uma definição mais específica de como aplicar em cada genótipo.

## CONCLUSÕES

1. Recomenda-se uma concentração média de 1500 mg L<sup>-1</sup> de AIB para os genótipos G621 e G763. Para o G764, uma concentração de 400 mg L<sup>-1</sup> deste fitorregulador.

2. Apesar da presença dos feixes de fibras, não há presença de barreiras anatômicas à emergência das raízes adventícias.

3. A imersão rápida foi favorável para o G621 e a lenta para o genótipo G764.

4. G621 é considerado com média facilidade de enraizamento e o G763 de baixa facilidade.

### AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de doutorado à primeira autora.

Ao Banco de Germoplasma Vegetal de Cuenca (Cuenca, Espanha), pelo material vegetal cedido e ao Setor de “Desarrollo Rural” pelo espaço e equipamentos cedidos, bem como toda a equipe do Centro de Investigaciones de Albaladejito (CIAF) (Cuenca, Cuenca, Espanha).

### REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ, A. F. Las plantas aromáticas y medicinales PAM, un potencial con gran necesidad de reorientación. **Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros**, v. 1, n. 209, p. 177-214, 2006.

BONA, C. M.; BIASI, L. A. Influence of leaf retention on cutting propagation of *Lavandula dentata* L. **Revista Ceres**, v. 57, n. 4, p. 526-529, 2010.

BONA, C. M. *et al.* Adventitious rooting of auxin-treated *Lavandula dentata* cuttings. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1210-1213, 2010.

BONA, C. M. *et al.* Indução de enraizamento em diferentes acessos de *Lavandula angustifolia* por meio de aplicação de auxina. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 175-182, 2012.

- BRAVO, E. M.; MENEGUSSO, F. J. Estudio de distintas variedades de lavandín y estrategias de fertilización. **Revista Vida Rural**, v.28, n. 4, p. 20-26, 2021.
- CASTRO-VÁZQUEZ, L. *et al.* Floral origin markers for authenticating Lavandin honey (*Lavandula angustifolia* x *latifolia*). Discrimination from Lavender honey (*Lavandula latifolia*). **Food Control**, v. 37, [s.n.], p. 362–370, 2014.
- 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, [s.n.], p. 577-586, 2015.
- COSTA JUNIOR, E. S. *et al.* Vegetative propagation of *Rhaphiodon echinus* Schauer (Lamiaceae): effects of the period of cutting in rooting, cuttings arrangement and IBA concentrations for seedlings production. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 238-247, 2018.
- CUNHA, C. S. M.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. F. B. Estaquia de *Croton zehntneri* Pax et Hoffm. com diferentes concentrações de ácido indol butírico. **Ciência Rural**, v. 42, n. 4, p. 621-626, 2012.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPel., 2005. 178 p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GEISS, G.; GUTIERREZ, L.; BELLINI, C. Adventitious root formation: new insights and perspectives. **Annual Plants Reviews**, v. 37, [s.n.], p. 127-156, 2009.
- HARTMANN H. T. *et al.* **Plant propagation: principles and practices**. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2017. 230p.

- HERRAIZ-PENÁLVER D. *et al.* Chemical characterization of *Lavandula latifolia* Medik. essential oil from Spanish wild populations. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 46, [s.n.], p.59-68, 2013.
- IKEUCHI, M.; SUGIMOTO, K.; IWASE, A. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. **The Plant Cell**, v. 25, [s.n.], p. 3159-3173, 2013.
- JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: Mcgraw-Hill Book, 1940. 523 p.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008. 453 p.
- KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR. 1997.
- LI, S. *et al.* Mediators, Genes and Signaling in Adventitious Rooting. **The Botanical Review** v. 75, [s.n.], p.230-247, 2009.
- MACHADO, M. P.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L. A. Application of IBA on *in vitro* and *ex vitro* rooting microcutting of *Lavandula angustifolia* Miller. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 153-161, 2013.
- MACHADO, M. P. *et al.* Enraizamento de microestacas de *Lavandula angustifolia*. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, p. 767-772, 2011.
- MOUBAYIDIN, L. *et al.* Report the rate of cell differentiation controls the *Arabidopsis* root meristem growth phase. **Current Biology**, v. 20, n. 12, p. 1138-1143, 2010.
- NAVROSKI, M. C. *et al.* Resgate e propagação vegetativa de *Sequoia sempervirens*. **Revista Floresta**, v. 45, n. 2, p. 383-392, 2015.
- PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; PAULUS, E. Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de alecrim. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 520-528, 2016.
- PEREIRA, M. O. Enraizamento de estacas de *Tibouchina moricandiana* var. *vinacea* em função da forma de aplicação e concentrações de AIB. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 3, p. 210-216, 2015.

PRETI, E. A. *et al.* Estaquia de Resedá-Nacional (*Physocalymma scaberrimum* Pohl.) em diferentes substratos e concentrações de AIB. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 2, p. 377-383, 2012.

RODRIGUES, J. P. *et al.* Enraizamento e anatomia de estacas caulinares de *Justicia brandegeana* wassh. & l.b. sm. (Acanthaceae) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, v. 4, n. 1, p. 45-56, 2017.

SANTANA, O. *et al.* Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España). **Revista Grasas y Aceites**, v. 63, n. 2, p. 214-222, 2012.

SILVA A. *et al.* Enraizamento de estacas caulinares de ixora. **Ornamental Horticulture**, v. 21, n. 2, p. 201-208, 2015.

SOUZA, J. L. C. *et al.* Estaquia em frutíferas do Cerrado. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p.15531-15544, 2020.

VIGNOLO, G. K. *et al.* Presença de folhas no enraizamento de estacas de amoreira-preta. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 467-472, 2014.

ZACCHEO, P. V. C. *et al.* Tamanho de recipientes e tempo de formação de mudas no desenvolvimento e produção de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 603-607, 2013.

ZOTTELE, L.; AOYAMA, E. M. Morphology, anatomy and rooting of stem cuttings of *Justicia wasshauseniana*. **Natureza on line**, v. 12, n. 4, p. 179-184, 2014.

#### 4 ARTIGO 3

##### Composição química e atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Lavandula* sp.

(Elaborado de acordo com as normas da Revista Scientia Horticulturae)

Resumo: As espécies de lavanda contêm metabólitos secundários dos quais os óleos essenciais são as biomoléculas mais apreciadas e seu aroma é devido principalmente à ocorrência de terpenóides de baixo peso molecular, sintetizados e acumulados nas partes aéreas, principalmente nas inflorescências. Com base nisto objetivou-se caracterizar quimicamente o óleo essencial de partes vegetais distintas provenientes de espécies diferentes de plantas do gênero *Lavandula* cultivadas no Oeste do Paraná. Foram coletadas amostras de plantas matrizes: amostra A: flor de *Lavandula dentata*, Amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia*, Amostra D: folha de *L. dentata*. As flores e folhas secas (100 g) foram fragmentadas em 3 L de água destilada, e os óleos essenciais (OE) extraídos pelo processo de hidrodestilação por três horas, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. Foram avaliados os índices físico-químicos: rendimento (%), densidade ( $\text{g mL}^{-1}$ ), índice de refração, composição química do OE, componentes principais e atividade antioxidante. Foi detectado maior rendimento no cultivo da amostra D (1,34%), seguido da amostra A (1,12%), e a amostra C (0,38%). Devido à baixa quantidade de óleo obtido da amostra B, não foi possível determinar o rendimento, densidade e índice de refração. Houve conformidade na composição química entre as amostras A, C e D, tendo como classe majoritária os monoterpênicos oxigenados (81,30; 80,74 e 86,56%) e os compostos majoritários eucaliptol (31,68; 35,54 e 36,36%); fenchona (11,58; 12,83 e 13,35%); L-camphor (18,66; 17,41 e 8,78%), respectivamente. Entretanto, estas três amostras diferiram da amostra B que apresentou como classe majoritária os sesquiterpênicos oxigenados (59,13%), tendo como

compostos majoritários o óxido de cariofileno (34,86%), espatulenol (17,65%) e precoceno I (9,79%). Os resultados do presente estudo indicaram que houve diferença no potencial antioxidante dos óleos essenciais das amostras A, C e D de *Lavandula* sp., em função da metodologia empregada, destacando atividade moderada pelo sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, para as três espécies avaliadas.

Palavras-chave: Lavanda, Monoterpenos oxigenados, Eucaliptol, Fenchona, L-camphor

Abstract: Lavender species contain secondary metabolites of which essential oils are the most appreciated biomolecules and their aroma is mainly due to the occurrence of low molecular weight terpenoids, synthesized and accumulated in the aerial parts, mainly in the inflorescences. Based on this, the objective was to chemically characterize the essential oil of different plant parts from different species of plants of the *Lavandula* genus cultivated in western Paraná. Samples of mother plants were collected: sample A: *Lavandula dentata* flower, sample B: *L. canariensis* flower, sample C: *L. latifolia* leaf, sample D: *L. dentata* leaf. The dried flowers and leaves (100 g) were fragmented in 3 L of distilled water, and the essential oils (EO) extracted by the hydrodistillation process for three hours, using a modified Clevenger apparatus. The physicochemical indices were evaluated: yield (%), density (g mL<sup>-1</sup>), refractive index, chemical composition of EO, main components (APC) and antioxidant activity. A higher yield was detected in the cultivation of sample D (1.34%), followed by sample A (1.12%), and sample C (0.38%). Due to the low amount of oil obtained from sample B, it was not possible to determine the yield, density and refractive index. There was compliance in the chemical composition between samples A, C and D, with the majority class being oxygenated monoterpenes (81.30; 80.74 and 86.56%) and the major compounds eucalyptol (31.68; 35.54 and 36.36%); fenchone (11.58; 12.83 and 13.35%); L-camphor (18.66; 17.41 and 8.78%), respectively. However, these three samples differed from sample



B, which presented oxygenated sesquiterpenes as the majority class (59.13%), with the major compounds being caryophyllene oxide (34.86%), spathulenol (17.65%) and precocious I (9.79%). The results of the present study indicated that there was a difference in the antioxidant potential of essential oils from samples A, C and D of *Lavandula* sp., depending on the methodology used, highlighting moderate activity by the  $\beta$ -carotene/linoleic acid co-oxidation system, for the three species evaluated.

Key-words: Lavender, Analysis, Secondary metabolites, Yield.

## 1. INTRODUÇÃO

A família Lamiaceae é composta por 180 diferentes gêneros e mais de 3500 espécies. Dentre os gêneros que compõe esta família, a *Lavandula* tem importância econômica e medicinal. As espécies tem comportamento arbustivo, sendo a maioria originária de países do Mediterrâneo, Oriente Médio, Índia, Norte da África, Ilhas Canárias e Cabo Verde, sendo as mais comuns são *Lavandula dentata* L., *L. angustifolia* Mill., *L. stoechas* L., *L. angustifolia* x *latifolia* e *L. latifolia* Medik (Castro-Vázquez et al., 2014; Mason 2018; Upson, 2004).

Em 2012, foi realizado um estudo com objetivo de encontrar as condições ideais de cultivo comercial de lavanda, bem como caracterizar o óleo essencial extraído dessas plantas, que obteve como resultados a presença dos compostos nas seguintes concentrações: linalol (37,25 - 46,88%), acetato de linalila (10,09 - 12,24%), 1,8-Cineol e cis-ocimeno (7,63 - 10,64%) e o acetato de lavandulila (6,49 - 6,98%). Apresentando compostos importantes para o uso em aromaterapia (Machado et al., 2012).

Constituintes do óleo essencial de uma mesma espécie de lavanda podem variar consideravelmente dependendo da forma de cultivo e do método de extração, e essa variação poderá determinar o valor de mercado e as possíveis aplicações do produto (Cavanagh et al., 2002). Deste modo diversas pesquisas visam desvendar a atividade farmacológica de produtos

naturais, pois existe um grande interesse em seu uso, na indústria farmacêutica e alimentícia (Bakkali et al., 2008).

O aroma da lavanda é devido principalmente à ocorrência de terpenóides de baixo peso molecular, sintetizados e acumulados nas partes aéreas, principalmente nas inflorescências. As espécies de *Lavandula* contem metabólitos secundários dos quais os óleos essenciais são as biomoléculas mais apreciadas, tendo estes ganhado ao longo do tempo importância na aromaterapia e nas indústrias farmacêuticas e cosméticas. Outros compostos com bioatividade presentes são as cumarinas, flavonoides e esteróis (Hassanpouraghdam et al., 2011).

A lavanda apresenta efeitos neurológicos benéficos no alívio dos sintomas de estresse e depressão, efeitos antiespasmódico, analgésico, pesticida, antimicrobiano e um elevado potencial antioxidante do sistema imunológico, incluindo superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase, além de diminuir a peroxidação de lipídios, tornando-se desta forma, um excelente sequestrador de radicais livres (Cavanagh et al., 2002; Machado et al., 2020).

Os agentes antioxidantes são definidos, segundo Halliwell et al. (1995), como substâncias que mesmo em baixas concentrações previnem ou retardam as oxidações de substratos. A forma de atuação destes agentes varia entre dois mecanismos, sendo que o primeiro a ser citado, envolve a inibição da formação de radicais livres e o segundo, atuante na eliminação de radicais no processo de propagação através da doação de átomos, gerando um interrompimento da reação em cascata (Barbosa et al., 2010).

Baseado no aspecto químico e biológico da lavanda, objetivou-se com o presente estudo realizar a caracterização química do óleo essencial de folhas e flores provenientes de espécies diferentes de plantas do gênero *Lavandula* cultivadas no Oeste do Paraná.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Implantação da Cultura

As plantas matrizes utilizadas foram adquiridas de produtor de plantas ornamentais no município de Gramado/RS, sendo das espécies *Lavandula dentata*, *L. latifolia* e *L. canariensis*. Estas se diferenciam pela morfologia, como as folhas e flores e também pelas características do óleo essencial.

Uma exsicata foi depositada no Herbário UNOP da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* Cascavel, voucher n° 10.799, identificando a espécie *Lavandula* cf. *canariensis* Mill., outra sob o voucher n° 10.801 identificando a espécie *L. dentata* L. e sob o voucher n° 10.802 identificando a espécie *L. cf. latifolia* Medik.

As mudas foram levadas para a Estação de Cultivo Protegido e Controle Biológico “Professor Doutor Mário Cesar Lopes”, pertencente a Estação Experimental de Horticultura e Cultivo Protegido da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon (PR), sob coordenadas geográficas de latitude 24° 33’ 22’’ S e longitude 54° 03’ 24’’ W, e altitude aproximada de 400 m. Ocorreu o transplante em julho de 2018 para sacos de polietileno, as mudas foram mantidas apoiadas no solo e aclimatizadas em ambiente coberto (telado) com malha que proporcionava 50% sombreamento por 90 dias, após esse período foram transplantadas para a área experimental.

A área experimental está situada na Estação Experimental “Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa”, Linha Guará, município de Marechal Cândido Rondon (PR) e foi previamente preparada para o plantio das mudas de lavanda. Foi realizada uma gradagem e posterior marcação e abertura de covas.

## 2.2 Análise de solo

O solo foi coletado na camada de 0 - 20 cm de profundidade em diferentes pontos resultando em uma amostra composta. A análise do solo foi realizada no laboratório de química ambiental e instrumental da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR

Na Tabela 1 encontra-se o resultado da análise química do solo da área de cultivo das plantas matrizes. Com base nesta, optou-se por não realizar adubação de implantação, apenas de cobertura. Essa decisão baseada na análise de solo foi fundamentada na recomendação para plantas ornamentais arbustivas e herbáceas (Raij et al., 1997), visto que não há uma recomendação específica para espécies de lavanda e levando em consideração que as plantas do gênero *Lavandula* são menos exigentes quanto a adubação, optou-se por não realizar na implantação

Tabela 1. Análise química do solo da área utilizada para cultivo das matrizes. Unioeste, *Campus* Marechal C. Rondon, PR.

P	MO	pH <sub>CaCl<sub>2</sub></sub>	H+Al	Al <sup>3+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	SB	CTC	V	Al
mg	g dm <sup>-3</sup>	0,01 mol				cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>				%	
dm <sup>-3</sup>		L <sup>-1</sup>									
78,41	26,66	6,44	2,42	0	0,64	4,79	4,07	9,50	11,90	80	0

## 2.3 Tratos culturais

Foi realizada fertilização apenas com uréia aos 45 dias após o transplântio, aplicando 40 g por planta. Após o plantio das mudas foram realizados tratos culturais como capina manual para eliminar plantas daninhas, controle visual de pragas e doenças, sendo realizado semanalmente, e aplicação do inseticida de princípio ativo Teflubenzurom (Nomolt 150) para

lagartas. A irrigação ocorreu diariamente, por sistema de irrigação tipo aspersão, acionado durante 30 min e uma vez ao dia.

#### 2.4 Índice pluviométrico, temperatura e umidade relativa

Os dados foram coletados na estação meteorológica de observação de superfície automática de Marechal Candido Rondon-PR, código A 820, localizada na Uniãoeste, no período de março de 2018 a dezembro de 2020 e estão dispostos nas Figuras 1, 2 e 3.

Figura 1: A. Dados de temperatura média do ar ( $^{\circ}\text{C}$ ) e de umidade relativa média do ar (UR%) e B. Dados de precipitação média (mm), para experimento com lavanda no ano de 2018

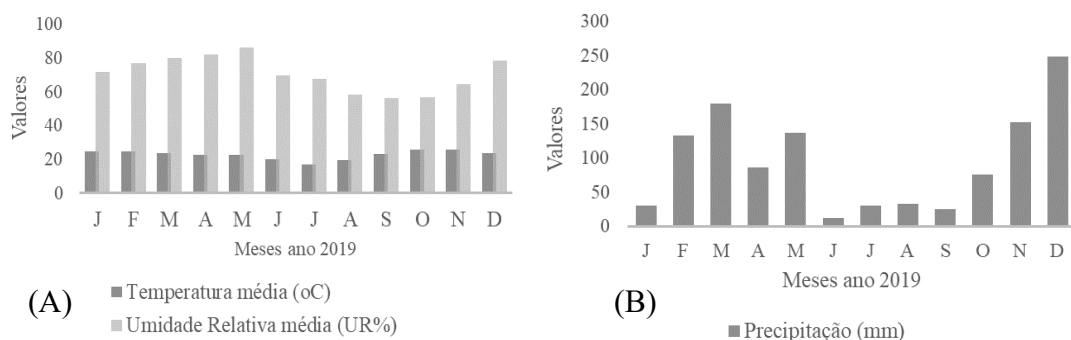


Figura 2: (A) Dados de temperatura média do ar ( $^{\circ}\text{C}$ ) e de umidade relativa média do ar (UR%) e (B) Dados de precipitação média (mm), para experimento com lavanda no ano de 2019.

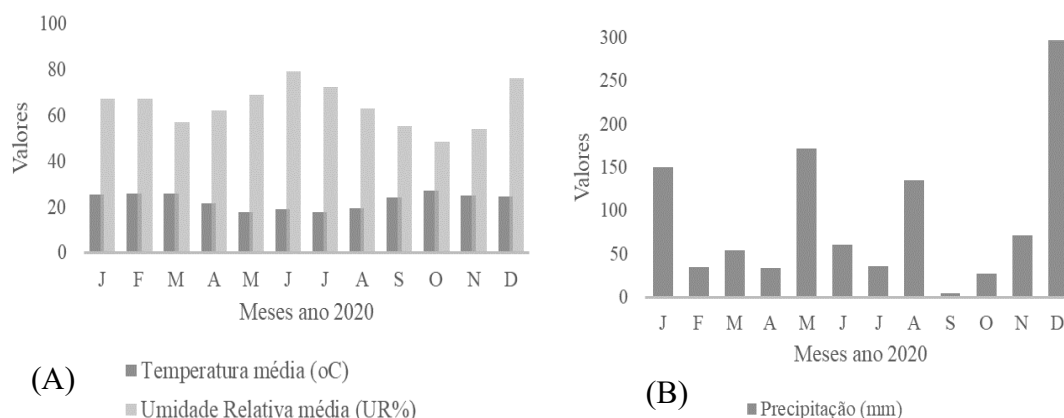


Figura 3: (A) Dados de temperatura média do ar (°C) e de umidade relativa média do ar (UR%) e (B) Dados de precipitação média (mm), para experimento com lavanda no ano de 2020.

#### 2.4 Extração do óleo essencial das flores de lavanda

Foram coletadas amostras das espécies em estudos e nomeadas da seguinte maneira: amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

Essas amostras foram coletas com auxílio de tesoura de poda no início do dia, 7 h da manhã e secas em esteira à temperatura ambiente. Este material foi levado ao Laboratório de Química de Produtos Naturais da UNIPAR (Universidade Paranaense), *Campus* Umuarama (PR). As flores secas (100 g) foram fragmentadas em 3 L de água destilada, e os óleos essenciais (OE) extraídos pelo processo de hidrodestilação por 3 h, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. Os óleos essenciais foram removidos com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, secos com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), mantido sob refrigeração a 4 °C até completa evaporação do solvente.

#### 2.5 Determinação dos índices físico-químicos

##### 2.5.1 Rendimento (%)

O rendimento do óleo essencial foi determinado através da razão da massa das flores secas (g) pela massa do óleo essencial obtido (g), expresso em percentagem (%) (Farmacopeia Brasileira, 2010).

#### 2.5.2 Densidade ( $\text{g mL}^{-1}$ )

A densidade absoluta do óleo essencial foi determinada em capilares graduados ( $\mu\text{L}$ ) e calculada a partir da massa (g) pelo volume (ml) a  $20^\circ\text{C}$  (Farmacopeia Brasileira, 2010).

#### 2.5.3 Índice de Refração

O índice de refração foi determinado em um refratômetro Abbe (modelo RL3) calibrado com água destilada (índice de refração 1,3330) a  $20^\circ\text{C}$  (Farmacopeia Brasileira, 2010).

#### 2.5.4 Análise da composição química do óleo essencial de lavanda

Análise da composição química foi realizada por um cromatógrafo gasoso (Agilent 7890 B) acoplado ao espectrômetro de massa (Agilent 5977 A) equipado com uma coluna capilar Agilent HP-5MS UI (30m x 0,250mm x 0,25 $\mu\text{m}$ ), utilizando as seguintes condições: temperatura do injetor de  $250^\circ\text{C}$ , volume de injeção 2  $\mu\text{L}$  no modo split e razão de fluxo 1:20, temperatura inicial da coluna em  $50^\circ\text{C}$  por 1 min, após aquecimento de  $5^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $180^\circ\text{C}$ , permanecendo por 1 min, seguido de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $260^\circ\text{C}$ , permanecendo por 1 min e finalizando com aquecimento de  $40^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $260^\circ\text{C}$ , por 1 min. O fluxo de gás de arraste (Hélio) foi fixado em  $1 \text{ ml min}^{-1}$ . As temperaturas de linha de transferência, e fonte de ionização e quadrupolo foram de 280, 230 e  $150^\circ\text{C}$ , respectivamente. Os espectros de massas foram obtidos em um intervalo de 40-550 (m/z) fornecida através de modo varredura com o tempo permanência de solvente de 3 min. Os compostos foram identificados com base

na comparação dos seus índices de retenção (IR) obtido a partir de uma série de n-alcenos(C8-C40) (Lai et al., 2004). Além disso, os espectros de massas foram comparados com os espectros obtidos a partir da biblioteca de espectros Wiley 275L e de acordo com a literatura (Adams, 2017).

#### 2.5.5 Análise dos componentes principais

Foi realizada a análise exploratória multivariada, determinando a análise de componentes principais, que permitiu a avaliação em conjunto dos compostos químicos majoritários e das classes químicas de todos os compostos presentes nos OE das folhas, botões florais e ramos. O resultado da análise foi apresentado em forma gráfica (Biplot), auxiliando na caracterização de grupos das variáveis analisadas (Moita Neto & Moita, 1998). Para cada amostra do OE obtido das folhas, botões florais e ramos, os compostos químicos majoritários foram identificados e suas respectivas classes químicas, bem como a quantidade (% de área) discriminados. Esses dados foram transformados em variáveis latentes ortogonais denominadas componentes principais, que são combinações lineares das variáveis originais criadas com os autovalores da matriz de covariância dos dados (Hair, 2005). O critério de Kaiser foi utilizado para eleger os componentes principais, sendo que um autovalor preserva informação relevante quando é superior à unidade (Ferré, 1995; Camacho et al., 2010). Essa análise foi realizada de duas formas: a primeira contendo apenas dados referentes aos compostos majoritários identificados nos óleos essenciais das folhas, botões florais e ramos; a segunda, os dados referentes às classes químicas às quais pertencem estes compostos. Ambas as análises foram realizadas pelo programa Statistica 13 (Statsoft, 2018).

#### 2.5.6 Atividade antioxidante



#### 2.5.6.1 Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Para determinar a capacidade do sequestro de radicais livres de DPPH, foi utilizado a metodologia descrita por (Rufino et al., 2007). Uma alíquota de 10 $\mu$ L das diferentes concentrações das amostras A, B, C e D nas diferentes concentrações (1.0; 0.7; 0.5 e 0.2 mg ml<sup>-1</sup>), com 290  $\mu$ L de solução metanólica de DPPH (60  $\mu$ M), preparada no momento da atividade. Para o controle negativo foi utilizado 10 $\mu$ L de metanol na solução de DPPH (60  $\mu$ M). A mistura foi mantida no escuro a temperatura ambiente por 30 minutos. A redução da absorvância foi medida em 515 nm, em um aparelho SpectraMax Plus<sup>384</sup> Microplate Reader. A capacidade antioxidante total dos extratos e frações foi calculada utilizando uma solução padrão de quercetina (60  $\mu$ M), como referência de 100%. A partir da correlação entre absorvância versus concentração da amostra antioxidante, foi determinada a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres (EC<sub>50</sub>).

#### 2.5.6.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)

Este método foi avaliado conforme descrito por (Rufino et al., 2006a). Para preparar o reagente FRAP foram combinados 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução aquosa de 2,4,6-Tris (2-piridil)-striaizina (TPTZ - 10 mM), 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM) e 3 mL de água destilada. A solução reagente foi composta por 10  $\mu$ L das amostras A, B, C e D em diferentes concentrações (1.0; 0.7; 0.5 e 0.2 mg ml<sup>-1</sup>), 290  $\mu$ L do reagente FRAP em cada poço da microplaca. A mistura foi colocada no aparelho Spectra Max Plus<sup>384</sup> Microplate Reader e mantida a 37°C por 30 min. A Absorvância foi lida em 595 nm. Usando uma curva padrão de sulfato ferroso (0 – 2000  $\mu$ M) foi calculada a percentagem de atividade antioxidante. A atividade antioxidante foi expressa em  $\mu$ M sulfato ferroso mg<sup>-1</sup> da amostra.

### 2.5.6.3 Determinação do teor de fenóis totais

Este método foi avaliado segundo Swain e Hills (1959) com modificações (Sousa de Sá et al., 2012). Para preparar a solução de Folin-Ciocalteu (10%) e a solução de carbonato de sódio (7,5%), utilizaram como veículo água Miliq. As amostras A, B, C e D foram diluídas em metanol na concentração de  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ). A solução reagente foi composta por  $155 \mu\text{L}$  da solução de Folin-Ciocalteu,  $125 \mu\text{L}$  de solução de Carbonato de sódio seguido de  $20 \mu\text{L}$  da amostra diluída ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) em cada poço da microplaca. A mistura foi deixada em repouso na ausência de luz por 60 min e após, a leitura foi realizada no aparelho SpectraMax Plus<sup>384</sup> Microplate Reader a  $760 \text{ nM}$ , em triplicata.

A curva de calibração foi obtida fazendo-se uso de sete diluições de ácido gálico ( $0-100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). A equação da curva de calibração foi obtida através de regressão linear [( $A = 0,0196C - 0,031$ ) com  $R^2 = 0,9997$ ], onde  $A$  representa a absorvância medida e  $C$  a concentração de equivalentes de ácido gálico. Os resultados foram expressos como  $\mu\text{g}$  de equivalente de ácido gálico (EAG) por miligrama de amostra.

### 2.5.6.4 Determinação da atividade antioxidante pelo sistema de co-oxidação $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

A capacidade antioxidante das amostras A, B, C e D foi avaliada segundo (Rufino et al., 2006b). A reação pode ser monitorada por meio de espectrofotometria, perda da coloração do  $\beta$ -caroteno à  $470 \text{ nm}$ . Em um becker protegido da luz (envolto por papel alumínio) foi adicionado  $20 \mu\text{L}$  de ácido linoleico,  $265 \mu\text{L}$  de Tween 40,  $25 \mu\text{L}$  da solução  $\beta$ -caroteno ( $20 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e  $0,5 \text{ mL}$  de clorofórmio. O solvente foi removido com auxílio de um secador. Em seguida, a mistura foi dissolvida em  $20 \text{ mL}$  de água destilada e oxigenada (por oxigênio, durante 30 min) sob agitação vigorosa para formar uma emulsão. A emulsão teve a absorvância ajustada para 0,7 a  $470 \text{ nm}$ .

A atividade antioxidante das amostras foi determinada pela mistura de 280  $\mu\text{L}$  de emulsão com 20  $\mu\text{L}$  de amostras em diferentes concentrações (1.0; 0.7; 0.5 e 0.2  $\text{mg mL}^{-1}$ ) plotadas em microplacas de 96 poços de fundo chato. As amostras colocadas no aparelho SpectraMax Plus<sup>384</sup> Microplate Reader, sendo mantida a 40°C, durante 120 min, com leituras realizadas a cada 5 min, e a absorvância mensurada a 470  $\text{nm}$ .

Uma solução de trolox (0,2  $\text{mg mL}^{-1}$ ) foi utilizada como padrão-referência. Os resultados foram expressos como porcentagem da inibição da oxidação, seguindo a equação:  $RA = A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}$ , onde  $RA$  é redução da absorvância e  $A$  representa a absorvância medida. A redução da absorvância do sistema antioxidante foi considerada como 100% de oxidação.

Com a equação  $\% \text{ de oxidação} = [(Redução A)_{\text{amostra}} \times 100] / (Redução A)_{\text{sistema}}$  foi calculada a porcentagem de oxidação correlacionada com a absorvância da amostra dividindo com a absorvância do sistema. Com esse resultado utilizou-se a equação  $\% \text{ inibição da oxidação} = 100 - (\% \text{ de oxidação})$ .

### 3. Resultados

Na Tabela 2 encontram-se os índices físico-químicos dos óleos essenciais obtidos das amostras. Observa-se que para a amostra B não se teve produção de óleo suficiente.

Foi detectado maior rendimento no cultivo da amostra D (1,34%), seguido da amostra A (1,12%), e a amostra C (0,38%). Observa-se que A e D são da mesma espécie, mas de partes diferentes da planta e não apresentaram rendimento muito diferentes. Devido à baixa quantidade de óleo obtido da amostra B, não foi possível determinar o rendimento, densidade e índice de refração.

Tabela 2: Índices físico-químicos dos óleos essenciais de lavanda

Amostras	Rendimento (%)	Densidade (g mL <sup>-1</sup> )	Índice de Refração
A	1,12 <sup>B</sup> ± 0,00 (1,08; 1,16)	0,89 <sup>A</sup> ± 0,05 (0,78; 0,99)	1,47 <sup>B</sup> ± 0,00
B	*	*	*
C	0,38 <sup>C</sup> ± 0,05 (0,34; 0,42)	0,88 <sup>A</sup> ± 0,07 (0,77; 0,98)	1,47 <sup>A</sup> ± 0,00
D	1,34 <sup>A</sup> ± 0,01 (1,30; 1,38)	0,85 <sup>A</sup> ± 0,10 (0,74; 0,96)	1,46 <sup>C</sup> ± 0,00

\*Material insuficiente para realizar os testes. Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

Os resultados da identificação química das amostras A, B, C e D encontram-se discriminados na Tabela 3 e Figuras 4 e 5.

Tabela 3: Composição química dos óleos essenciais de *Lavandula* sp.

Pico	TR	Composto	RI calculado	Áreas Relativa (%)				Métodos de Identificação
				A	B	C	D	
1	6111	$\alpha$ -pinene	937	1,48	-	1,85	1,68	a, b, c
2	6468	camphene	952	0,79	-	0,92	0,85	a, b, c
3	7105	sabinene	976	-	-	0,11	-	a, b, c
4	7189	$\beta$ -pinene	979	2,23	-	2,10	2,00	a, b, c
5	7538	2,3-dehydro-1,8-cineole	992	0,18	-	0,33	0,33	a, b, c
6	8794	eucalyptol	1040	31,68	6,21	35,54	36,36	a, b, c
7	9406	$\gamma$ -terpinene	1062	0,14	-	0,15	-	a, b, c
8	9842	n.i	1077	0,34	-	0,64	0,63	a, b, c
9	10202	fenchone	1089	11,58	2,21	12,83	13,35	a, b, c
10	10690	linanol	1106	1,20	-	1,42	1,04	a, b, c
11	10993	n.i	1118	0,73	-	4,58	0,60	a, b, c
12	11147	camphenol, 6-	1128	0,89	-	0,80	0,79	a, b, c
13	11315	exo fenchol	1123	4,13	-	0,60	4,75	a, b, c
14	11729	L-pinocarveol	1145	0,39	-	0,57	0,41	a, b, c
15	11785	cis-verbenol	1147	-	-	-	9,79	a, b, c
16	11993	L-camphor	1154	18,66	2,57	17,41	8,70	a, b, c
17	12364	isoborneol	1167	1,15	-	1,10	0,97	a, b, c
18	12506	pinocarvone	1172	0,67	-	0,74	0,77	a, b, c

19	12510	endo-borneol	1172	2,42	-	2,30	1,50	a, b, c
20	12548	terpinen-4-ol	1173	0,64	-	0,64	0,66	a, b, c
21	12730	$\alpha$ -terpineol	1180	0,23	-	-	1,13	a, b, c
22	12802	dihydrocarveol	1182	-	-	0,16	0,63	a, b, c
23	13043	cuminol	1190	0,59	-	0,37	0,82	a, b, c
24	13224	p-cymen-8-ol	1190	1,41	-	1,29	0,50	a, b, c
25	13362	myrtenal	1198	2,16	-	2,09	1,33	a, b, c
26	13665	(-)- myrtenol	1200		-	-	0,83	a, b, c
27	13974	verbenone	1212	0,48	-	0,58	0,60	a, b, c
28	14293	cis-carveol	1224	0,82	-	0,72	0,77	a, b, c
29	14509	carveol	1236	0,18	-	-	-	a, b, c
30	14511	(-)- carvone	1244	0,65	-	0,61	0,53	a, b, c
31	14888	Cuminal	1244	0,8	-	0,49	-	a, b, c
32	15446	piperitone	1258	0,25	-	-	-	a, b, c
33	15447	n.i	1278	0,30	-	-	-	a, b, c
34	15934	$\alpha$ -bergamotene	1412	0,37	-	0,17	-	a, b, c
35	16120	caryophyllene	1428	0,21	2,00	0,19	-	a, b, c
36	19240	precocene I	1431		9,79	-	-	a, b, c
37	19624	gama elemene	1438		t	-	0,97	a, b, c
38	20320	aroma dendrene	1440		3,42	0,18	-	a, b, c
39	21162	alfa-himachalene			2,01	0,38	-	a, b, c
40	21424	L-calamenene			-	-	0,20	a, b, c
41	21426	$\alpha$ -selinene	1493	1,33	-	1,04	0,36	a, b, c
42	21427	$\beta$ -bisabolene	1510	0,42	-	0,20	-	a, b, c
43	21785	ledene oxide -(II)	1526	0,16	-	0,50	-	a, b, c
44	21786	(-)-Spathulenol	1526	0,3	17,65	0,15	0,19	a, b, c
45	22294	isolongifolene	1548	0,25	-	-	-	a, b, c
46	23257	caryophyllene oxide	1588	2,58	34,86	2,2	2,18	a, b, c
47	24812	$\beta$ -eudesmol	1657	1,75	-	1,93	1,69	a, b, c
48	24872	$\alpha$ -bisabolol oxide b	1660	0,66	-	-	0,47	a, b, c
49	24996	n.i	1665	-	-	0,33	-	a, b, c
50	25257	isoaromadendrene epoxide	1677	0,53	4,32	0,43	0,77	a, b, c
51	25493	apiol	1687	-	2,92	-	-	a, b, c
52	25500	$\alpha$ -bisabolol	1687	0,86	-	0,69	0,55	a, b, c
53	25612	aromadendrene oxide-(2	1692	0,71	-	-	-	a, b, c
54	26438	longipinocarvone	1730	0,56	-	0,34	-	a, b, c
55	26997	calarene epoxide	1756	0,32	-	-	-	a, b, c
56	28955	trans-z- $\alpha$ -bisabolene epoxide	1849	0,17	2,30	-	-	a, b, c
57	29428	farnesyl acetone	1872	-	2,81	-	-	a, b, c
58	29639	n.i	1882	0,14	-	-	-	a, b, c
59	32482	phytol	1961	0,09	1,32		-	a, b, c
60	36054	n.i	2420	-	-	0,10	-	a, b, c
61	36063	linolenic acid,ethyl ester	2458	-	0,85	-	-	a, b, c
62	36412	n.i	2582	0,11	-	-	-	a, b, c
63	37365	n.i	2599		-	0,10	-	a, b, c
64	37373	ethyl isoallocholate	2669	0,24	0,66	-	-	a, b, c

65	37993	heptacosane	2702	-	1,57	-	-	a, b, c
66	38193	oleic acid,3-(octadecyloxy)propyl ester	2757	-	0,94	-	-	a, b, c
67	38258	n.i	2778	-	1,4	-	-	a, b, c
68	38342	n.i	2721	0,70	-	-	-	a, b, c
69	38606	lupeol acetate	2769	0,26	-	-	-	a, b, c
Total Identificado				97,57	98,41	94,12	98,47	
		Monoterpenos hidrocarbonetos		4,5	0	4,98	4,53	
		Monoterpenos oxigenados		81,3	10,99	80,74	86,56	
		Sesquiterpenos hidrocarbonetos		2,33	17,22	2,16	1,53	
		Sesquiterpenos oxigenados		8,85	59,13	6,24	5,85	
		Fenilpropanoides			2,92			
		Diterpenos		0,09	1,32			
		Outros		0,5	6,83			
		não identificados		2,32	1,4	5,75	1,23	

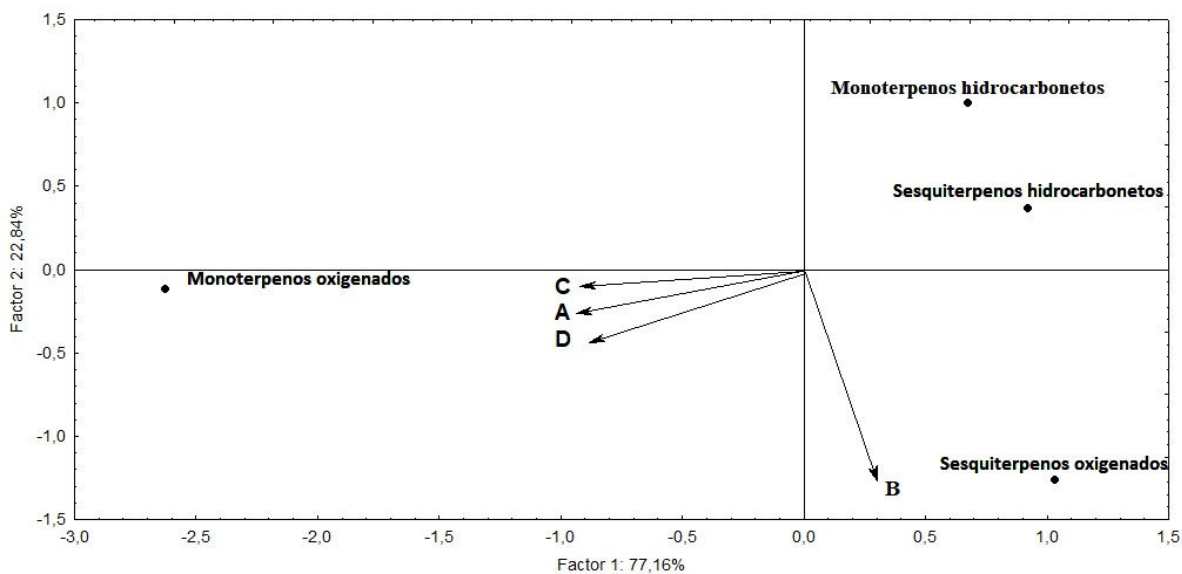
<sup>a</sup>Compostos listados de acordo com a ordem de eluição na coluna HP-5ms; <sup>b</sup>índice de retenção (RI) calculado utilizando uma série homóloga de *n*-alcanos C<sub>9</sub> a C<sub>30</sub> em uma coluna capilar (HP-5ms); <sup>c</sup>identificação com base na comparação com o espectro de massa da biblioteca Wiles 275L; Área relativa (%): porcentagem da área ocupada pelos compostos no cromatograma. t = traços. (-) = composto ausente na amostra. TR: tempo de retenção. Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

Os resultados indicaram que houve conformidade na composição química entre as amostras A, C e D, tendo como classe majoritária os monoterpenos oxigenados (81,30; 80,74 e 86,56%) e os compostos majoritários eucaliptol (31,68; 35,54 e 36,36%); fenchona (11,58; 12,83 e 13,35%); L-camphor (18,66; 17,41 e 8,78%), respectivamente (Tabela 3 e Figuras 4 e 5). Entretanto, estas três amostras diferiram da amostra B que apresentou como classe majoritária os sesquiterpenos oxigenados (59,13%) tendo como compostos majoritários o óxido de cariofileno (34,86%), espatulenol (17,65%) precoceno I (9,79%) (Tabela 3 e Figuras 4 e 5).

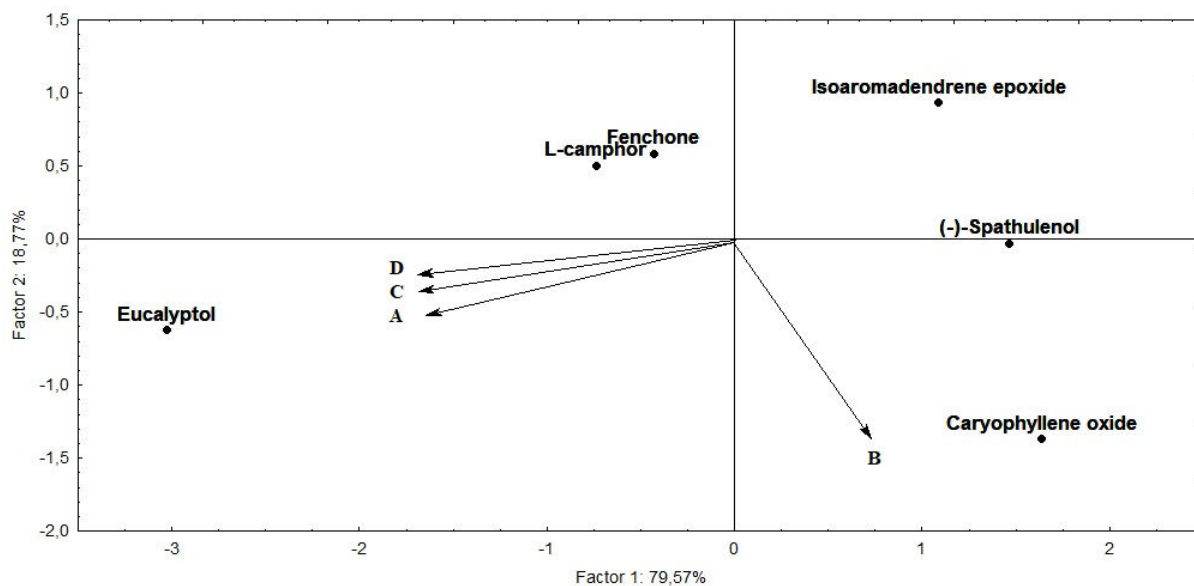
Importante ressaltar que as amostras A e D que são da mesma espécie, mas de partes diferentes da planta, apresentaram classe química e compostos majoritários iguais (Figuras 4 e

5), mas, apesar disso, existem diferenças entre alguns componentes, seja na quantidade ou não presença e/ou ausência em alguma das partes vegetais.

Destacam-se na amostra B dois compostos: apiol e precoceno I. De acordo com Petropoulos et al. (2008), o apiol é um fenilpropanoide e esta classe está presente em situações de estresse, principalmente estresse hídrico.



**Figura 4:** Biplot com representação da projeção das classes químicas do óleo essencial das amostras obtido por CG/EM. Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.



**Figura 5:** Biplot com representação da projeção dos compostos majoritários do óleo essencial das amostras obtido por CG/EM. Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

Os resultados da atividade antioxidante encontram-se discriminados nas Tabelas 4, 5 e Figura 6. A atividade antioxidante pelo método DPPH resultou em IC<sub>50</sub> de 10,21 a 12,28 mg mL<sup>-1</sup>, sendo estes valores inferiores ao padrão quercetina (0,01 mg mL<sup>-1</sup>). Em relação ao método FRAP, os valores foram de 0,05 a 0,06 μM sulfato ferroso mg<sup>-1</sup> amostra, estando inferiores ao padrão Trolox (9,18 μM sulfato ferroso mg<sup>-1</sup> amostra).

Os teores de fenóis totais variaram de 2,55 a 8,42 μg de ácido gálico mg<sup>-1</sup> de amostra, indicando baixo teor de fenóis totais nos óleos das amostras analisadas. Em relação ao método sistema de co-oxidação β-caroteno/ácido linoleico, os resultados estão apresentados na Tabela 4. Na concentração de 1,0 mg mL<sup>-1</sup> os valores da inibição da oxidação ficaram entre 58,21 a 63,64%.



**Tabela 4.** Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), pelo poder de redução do Ferro (FRAP) e determinação dos fenóis totais dos óleos essenciais de *Lavandula sp.*

Amostras	DPPH	FRAP	FENOIS TOTAIS
	IC <sub>50</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	(μM sulfato ferroso/mg de amostra)	(μg de ácido gálico/mg de amostra)
A	12.28 <sup>c</sup> ± 0.64	0.05 <sup>b</sup> ± 0.01	8.42 <sup>a</sup> ± 0.36
C	10.21 <sup>b</sup> ± 0.73	0.06 <sup>b</sup> ± 0.01	4.68 <sup>b</sup> ± 0.60
D	10.77 <sup>b</sup> ± 0.11	0.05 <sup>b</sup> ± 0.01	2.55 <sup>c</sup> ± 0.24
Quercetina	0.010 <sup>a</sup> ± 0.001	-	-
Trolox	-	9.18 <sup>a</sup> ± 0.83	-

Os valores são a média ± desvio padrão do experimento realizado em triplicata. Letras diferentes minúsculas na coluna, indicam haver diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste de Duncan ( $P \leq 0.05$ ). IC<sub>50</sub>: concentração dos óleos essenciais que inibem 50% do radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil), controles positivos para DPPH: quercetina (0.010 mg mL<sup>-1</sup>), FRAP: poder antioxidante de redução do ferro, controles positivos para FRAP: Trolox (9.18 mg mL<sup>-1</sup>). Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

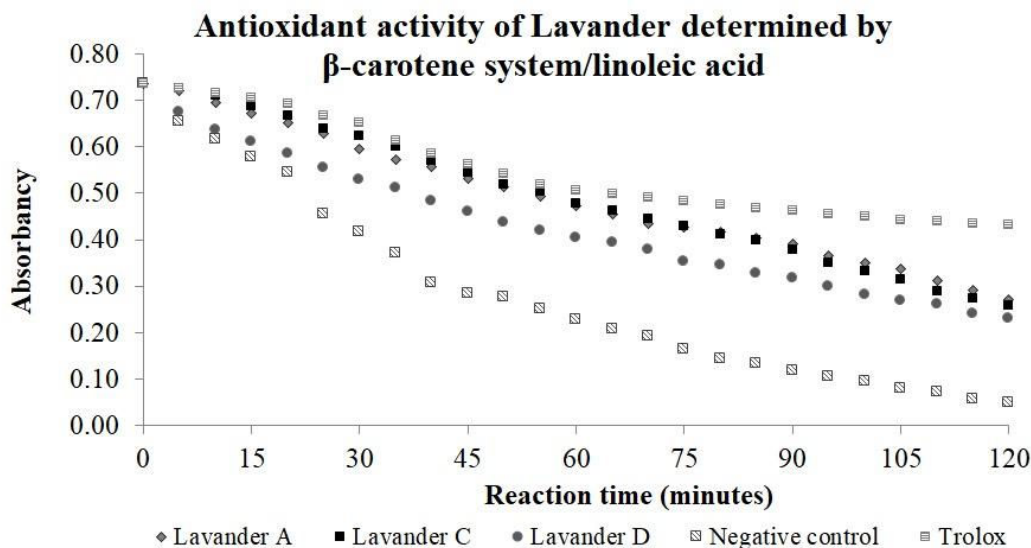
A Tabela 5 representa a atividade antioxidante das quatro espécies de *Lavandula* sp. pelo sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

**Tabela 5.** Percentual de inibição da oxidação pelo sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico dos óleos essenciais de *Lavandula* sp.

Amostras	Concentrações (mg mL <sup>-1</sup> )			
	1,00	0,75	0,50	0,25
A	63,64 <sup>aA</sup> ± 1,15	55,98 <sup>aB</sup> ± 2,60	49,51 <sup>aC</sup> ± 2,31	47,85 <sup>aC</sup> ± 0,89
C	61,19 <sup>aA</sup> ± 0,78	54,36 <sup>aB</sup> ± 2,21	46,88 <sup>aC</sup> ± 2,61	41,77 <sup>bC</sup> ± 2,35
D	58,21 <sup>bA</sup> ± 1,35	50,80 <sup>aB</sup> ± 2,50	46,39 <sup>aB</sup> ± 2,30	38,31 <sup>bC</sup> ± 2,50

Os valores são a média ± desvio padrão do experimento realizado em triplicata. Letras diferentes minúsculas em coluna, e maiúsculas em linha indicam haver diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste de Duncan ( $P \leq 0.05$ ). Controle positivo: trolox ( $76.33 \pm 2.54$  mg mL<sup>-1</sup> na concentração de 0.2 mg mL<sup>-1</sup>). Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

A Figura 6 representa a ação dos óleos essenciais de *Lavandula* sp., pelo sistema de branqueamento de  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico ao longo de 120 min.



**Figura 6.** Absorvância a 470 nm ao longo do tempo de reação (120 min.), pelo sistema de co-oxidação de  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico dos óleos essenciais de *Lavandula* sp. ( $1.00 \text{ mg mL}^{-1}$ ); controle positivo = trolox; controle negativo = reação sem antioxidante. Amostra A: flor de *Lavandula dentata*, amostra B: flor de *L. canariensis*, amostra C: folha de *L. latifolia* e amostra D: folha de *L. dentata*.

### 3.1 DISCUSSÃO

#### 3.2 Índices físico-químicos dos óleos essenciais de lavanda

Estes dados deixam visível a dificuldade no desenvolvimento da espécie B devido a menor quantidade de material disponível, quando comparado às demais espécies.

#### 3.3 Composição química dos óleos essenciais

Observando-se a Tabela 3, verifica-se que entre a amostra A e D houve diferença na composição química, seja na ausência em uma das amostras e presença na outra amostra ou na quantidade, mesmo tendo grupo químico e compostos majoritários iguais.

Destacam-se na amostra B dois compostos que devem ser discutidos: apiol e precoceno I. De acordo com Petropoulos et al. (2008), o apiol é um fenilpropanóide e esta classe está presente em situações de estresse, principalmente estresse hídrico. Quanto maior a falta de água, maior será a quantidade de fenilpropanóides produzida pela planta.

A provável explicação para a presença destes dois compostos somente na amostra B está no fato da *L. canariensis* ser originária das ilhas canárias, com temperaturas amenas (20 a 24°C) o ano todo e média de precipitação entre 100 e 600 mm, dependendo da ilha. Ao deparar-se com temperaturas elevadas encontradas na nossa região, bem como uma oscilação de temperaturas durante o ano, e índice pluviométrico superior ao de sua origem (Figuras 1, 2 e 3). Desta forma, a espécie B teve que se adaptar rapidamente, e em condições de estresse, a planta desvia sua rota metabólica para a síntese de compostos que visem protegê-la das agressões externas (Morais, 2009).

O precoceno I se mostrou presente apenas na amostra B. Este composto é um cromeno que, segundo Abdelkader et al. (2011), apresenta alto potencial inseticida. Ele está presente em predominância, assim como o cariofileno (também presente em grande quantidade na amostra B), por exemplo, no óleo essencial de mentrasto (*Ageratum conyzoides*), que apresenta propriedades fungicidas e bactericidas, sendo recomendado também como inseticida fitoterápico não fitotóxico contra a contaminação por besouro castanho (*Tribolium castaneum*) (Jaya et al., 2012; Kouame et al., 2018).

Ainda na amostra B, há um componente expressivo, o Spathulenol. Este apresenta 17,65 % de área relativa, enquanto nas demais amostras se apresentou em valores inferiores a 1%. Estudos de Nascimento et al. (2018) demonstram que esta substância, obtido no óleo

essencial de *Psidium guineense* Sw. no estudo em questão, é eficaz contra linhagem de células de câncer de ovário e mostra atividade antimicobacteriana moderada. Um outro componente, o endo-borneol, está presente nas amostras A e C em maior quantidade que na amostra D e ausente na amostra B. Este está associado a canfora. Borneol também está presente no óleo essencial de sálvia e alecrim pode ser atribuída atividade antibacteriana a este composto (Porte; Godoy, 2001).

### 3.4 Atividade antioxidante

Os resultados do presente estudo indicaram que houve diferença no potencial antioxidante dos óleos essenciais das amostras A, C e D de *Lavandula* sp., em função da metodologia empregada. Maior atividade antioxidante foi verificada pelo sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (Tabela 5, Figura 6), para as três amostras testadas e baixa atividade para aos métodos DPPH, FRAP e teores de fenóis totais (FT) (Tabela 4).

A diferença do potencial antioxidante em função do método utilizado pode estar relacionada com a natureza lipofílica dos óleos essenciais e a especificidade dos métodos antioxidantes utilizados. O sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico apresenta especificidade para amostras lipofílicas (Rufino et al., 2010; Miguel, 2010), sendo desta forma o método que proporcionou maior potencial antioxidante nas amostras testadas.

O percentual de inibição da oxidação do ácido linoleico dos óleos essenciais das espécies A, C e D de *Lavandula* sp. foram de 63,64 %, 61,19 % e 58,21 %, respectivamente na concentração de 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, não havendo diferença significativa entre as três amostras. O percentual das três espécies analisadas é considerado moderado segundo Rufino et al. (2010) que classificaram como alto quando o percentual de inibição de oxidação for maior que 70%, moderado quando estiver entre 40 e 70% e baixa quando o percentual de inibição da oxidação for menor que 40%. Outro ponto importante pode ser observado na Figura 3, em que as

espécies A e C tiveram o mesmo percentual de inibição da oxidação que o trolox até 60 minutos, indicando a estabilidade do óleo destas duas espécies no meio reacional.

A baixa capacidade dos óleos essenciais em regenerar o radical DPPH pode ser explicada pelo fato dos mesmos serem pouco solúveis nas condições do experimento, visto ser este um protocolo com maior especificidade para compostos hidrofílicos, como a quercetina (Andrade et al., 2012), justificando seu elevado desempenho em sequestrar os radicais DPPH [DPPH° para DPPH-H] (Andrade et al., 2012; Kim et al., 2017). Para o método DPPH, pôde-se observar que os óleos essenciais das três espécies não apresentaram habilidade em capturar radicais estáveis DPPH, quando comparados à quercetina (Tabela 1).

Outro protocolo utilizado foi o FRAP que mede o grau de  $Fe^{2+}$  residual gerado a partir da redução de  $Fe^{3+}$  avaliando a capacidade de redução do metal pela substância antioxidante. Este método apresenta elevada correlação com moléculas fenólicas (Rufino et al., 2006b); e foi originalmente desenvolvido como uma alternativa para determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos isolados (Benzie; Strain, 1996).

Em nosso estudo também foi avaliado o teor de fenóis totais nos óleos essenciais das três amostras analisadas. A forma como estes compostos são quantificados baseia-se no fato dos compostos fenólicos serem capazes de interceptar a cadeia de oxidação de radicais livres através da doação de hidrogênio de suas hidroxilas fenólicas (Silva et al., 2016), por reações de oxidação-redução entre os compostos fenólicos e íons metálicos (Silva et al., 2010). Os resultados indicaram baixos teores de fenóis totais nos óleos essenciais das três espécies de *Lavandula sp.* Este resultado pode ser justificado pela especificidade do método, visto ser um protocolo aplicável a determinação de compostos fenólicos hidrofílicos (Margraf et al., 2015).

#### 4. CONCLUSÕES

No óleo essencial das flores e folhas de *Lavandula dentata* e folhas de *L. latifolia* encontram-se monoterpenos oxigenados, destacando o eucaliptol como composto majoritário. Estas espécies mostraram potencial antioxidante moderado pelo sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Nas flores e *Lavandula canariensis* foram encontrados os sesquiterpenos oxigenados, com destaque para o caryophyllene oxide.

#### FINANCIAMENTO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

#### AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa da primeira autora. Ao Herbário UNOP Unioeste, *Campus* Cascavel/PR, pela identificação das espécies.

À equipe do Laboratório de Química de Produtos Naturais da UNIPAR (Universidade Paranaense), *Campus* Umuarama/PR, pela extração e análise química dos óleos essenciais e a UNICesumar pela identificação química.

#### REFERÊNCIAS

Abdelkader, M. S. A.; Lockwood, G. B. Volatile oils from the plant and hairy root cultures of *Ageratum conyzoides* L. **Natural Product Research**, [s.l.], v. 25, n. 9, p.909-917, 2011.

Andrade, M. A., Cardoso, MG., Batista LR., Mallet ACT., SMS Machado. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p.399-408, 2012.

Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils - a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

Barbosa, K.B.F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista Nutr.**, v.4, p.629-643, 2010.

Camacho, J.; Picó, J.; Ferrer, A. Data understanding with PCA: structural and variance information plots. **Chemometrics Intelligent Laboratory. System**, v. 100, n. 1, p. 48-56, 2010.

Cavanagh, H. M. A; Wilkinson, J. M. Biological activities of lavender essential oil. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 4, p. 301-308, 2002.

Ferré, L. Selection of components in principal component analysis: a comparison of methods. **Computational Statistics & Data Analysis**, v.19, n. 6 p. 669-682, 1995.

Hassanpouraghdam, M. B., Hassani A., Vojodi L., Hajisamadi, B., Rostami, A. Essential oil constituents of *Lavandula officinalis* Chaix from Northwest Iran. **Chemija**, v. 22, n. 3, p.167-171, 2011.



Hair, J. F.; Anderson, R. E.; Tatham, R. L.; Black, W.; Hair, J. **Análise Multivariada de Dados**. 3th ed. Bookman, Porto Alegre, 2005.

Jaya; Singh, P.; Prakash, B.; Dubey, N. K. Insecticidal activity of *Ageratum conyzoides* L., *Coleus aromaticus* Benth. and *Hyptis suaveolens* (L.) poit essential oils as fumigant against storage grain insect *Tribolium castaneum* Herbst. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2210-2215, 2012.

Kim, J. H.; Jang, H. J.; Cho, W. Y.; Yeon, S. J.; Lee, C. H. *In vitro* antioxidant actions of sulfur-containing amino acids. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n.1, p. 1678-1684, 2018.

Kouame, B. K. F.; Toure, D.; Kablan, L.; Bedi, G.; Tea, I.; Robins, R.; Chalchat, J. C.; Tonzibo, F. Chemical constituents and antibacterial activity of essential oils from flowers and stems of *Ageratum conyzoides* from Ivory Coast. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 2, p. 160-168, 2018.

Machado, A. C. H. R.; Spíndola, D. G.; Silva, V. R. L.; Oliveira, C. R. Efeitos anti-idade dos óleos essenciais de lavanda, alecrim e melaleuca em fibroblastos dérmicos humanos. **Revista Científica de Estética e Cosmetologia**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2020.

Machado, M.P.; Ciotta, M. N.; Deschamps, C.; Zanette, F.; Cocco, L. C.; Biasi, L. A.; Propagação *in vitro* e caracterização química do óleo essencial de *Lavandula angustifolia* cultivada no Sul do Brasil. **Revista Ciência Rural**, n.43, v.2, 2013.

Margraf, T.; Karnopp, A. R.; Rosso, N.D.; Granato, D. Comparison between Folin-Ciocalteu, and Prussion Blue, assays to estimate the total phenolic content of juices and teas using 96-Well Microplates. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 11, p. 2397-403, 2015.

Mason, J. **Growing & Knowing Lavender**. Queensland, Australia: ACS Distance Education, 2018. 117 p.

Miguel, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9252-9287, 2010.

Moita Neto, J. M.; Moita, G. C. An introduction analysis exploratory multivariate data. **Química Nova**, v. 21, p. 467-469, 1998.

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

Nascimento, K. F.; Moreira, F. M. F.; Santos, J. A.; Kassuva, C. A. L.; Croda, J. H. R.; Cardoso, C. A. L.; Vieira, M. C.; Ruiz, A. L. T. G.; Foglio, M. A.; Carvalho, J. E.; Formagio, A. S. N. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, n. 10, p. 351-358, 2018.

Petropoulos, S. A.; Daferera, D., Polissiou, M.G.; Passam, H.C. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. **Scientia Horticulturae**, v. 115, n. 4, p. 393-397, 2008.

Porte, A.; Godoy, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 19, n. 2, p. 193-210, 2001.

Raij, B. B.; Cantarella, H.; Quaggio, J. A.; Furlani, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Boletim Técnico nº 100. 2a. ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. p. 285.

Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: EMBRAPA. 2006a, 4 p.

Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Filho, J. M.; Moreira, A. V. B. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas no Sistema B-caroteno/ácido linoléico. Fortaleza: EMBRAPA, 2006b, 4 p.

Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: EMBRAPA, 2007, 4 p.

Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Pérez Jiménez, J., Saura-Calixto, F., Mancini-Filho, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

Silva, M. L. C., Costa, R. S., Santana, A. S., Koblitz, M. G. B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n. 3, p. 669-682, 2010.

Silva, J. B.; Costa, K. M. F. M.; Coelho, W. A. C.; Paiva, K. A. R.; Costa, G. A. V.; Salatino, A., Freitas, C. I. A.; Batista, J. S. Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 874-880, 2016.

Sousa de Sá, P. G.; Guimarães, A. L.; Oliveira, A. P.; Siqueira Filho, J. A.; Fontana, A. P.; Damasceno, P. K. F.; Branco, C. R. C.; Branco, A.; Almeida, J. R. G. S. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada**, v. 33, n. 4, p.561-566, 2012.

Swain, T.; Hills, W. E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 63-68, 1959.

Upson, T. The taxonomy of the genus *Lavandula* L. In: **Lavender: the Genus *Lavandula***, London: Taylor & Francis, 2004. p. 2-30.

## **CONCLUSOES GERAIS**

Existem diferenças entre espécies e genótipos de lavandas quanto a enraizamento, porém não é visualizado barreiras anatômicas para as espécies em estudo.

O óleo essencial também apresenta características diferentes entre as espécies estudadas, sendo que a amostra B (*Lavandula canariensis*) apresentou propriedades químicas interessantes, que podem ser exploradas comercialmente.