

## PROLINA E ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA CULTIVADO EM DIFERENTES ÉPOCAS E LUMINOSIDADES

R. S. da Costa<sup>1</sup>, M. da S. de S. Ribeiro<sup>2</sup>, E. C. Marques<sup>3</sup>, A. V. Amorim<sup>4</sup>,  
C. F. de Lacerda<sup>5</sup>, L. K. B. de Oliveira<sup>6</sup>

**RESUMO:** Mudanças fisiológicas nos vegetais podem ocorrer em função de estresses, principalmente o luminoso. Neste contexto, objetivou-se com o presente trabalho, avaliar os teores de prolina e o rendimento de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides*) nas condições edafoclimáticas do Maciço de Baturité, Ceará. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com parcelas subsubdivididas, sendo as parcelas definidas pelas duas estações do ano, seca (agosto a novembro de 2013) e chuvosa (fevereiro a maio de 2014), as subparcelas formadas pelas condições de luminosidade, telado 50% (casa de vegetação) e pleno sol e as subsubparcelas referentes as quatro épocas de avaliação (0, 40, 80 e 120 dias após o transplante), com cinco repetições. A irrigação foi realizada com o uso do sistema “Bubbler”, o qual é recomendado para a agricultura familiar. No período seco, a irrigação foi realizada a cada dois dias, mantendo-se o solo na capacidade de campo. Já no período chuvoso, a irrigação foi realizada apenas de forma suplementar. As variáveis avaliadas foram os teores de prolina e o rendimento do óleo essencial. Para os teores de prolina livre, pode-se observar que no período seco estes foram superiores em comparação aos do período chuvoso, isso pode estar associado a maior disponibilidade de água neste período. Para o rendimento do óleo essencial observou-se que as plantas submetidas a maiores luminosidades (pleno sol), durante o período seco, apresentaram um rendimento maior de óleo que as que estavam em ambiente protegido. Já no período chuvoso os resultados mostram similaridade entre os ambientes de cultivo, tanto em termos de biomassa foliar quanto em termos de rendimento de óleo essencial. A planta de alecrim-pimenta é sensível à variação de temperatura, pois essa causa alterações tanto nos teores de prolina quanto no rendimento do óleo essencial.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Lippia origanoides*, sazonalidade, soluto orgânico

<sup>1</sup> Estudante de Graduação, Instituto de Desenvolvimento Rural (IDR), Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), CEP: 62790-000, Redenção – Ceará. Fone (85) 992593389. E-mail: rafaelstangodacosta@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Doutoranda, Departamento de Engenharia Agrícola (DNA), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza – Ceará. Email: sauderibeiro@hotmail.com.

<sup>3</sup> Professor Doutor, Departamento de Ciências Ambientais e Tecnológicas (DCAT), Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró – Rio Grande do Norte. Email: bioelton12@yahoo.com.br.

<sup>4</sup> Professora Doutora, IDR, Unilab, Redenção – Ceará. Email: aiialamorim@unilab.edu.br.

<sup>5</sup> Professor Doutor, DNA, UFC, Fortaleza – Ceará. Email: claudivan\_@hotmail.com.

<sup>6</sup> Estudante de Graduação, IDR, Unilab, Redenção – Ceará. Email: leticia.kbo7@gmail.com.

## **PROLINE AND ESSENTIAL OIL ALECRIM PIMENTA CULTIVATED IN DIFFERENT SEASONS AND LUMINOSITIES**

**ABSTRACT:** Physiological changes of vegetables may occur in stress function, especially bright. In this context, aimed to of the present study was to evaluate the proline levels and the essential oil yield of alecrim pimenta (*Lippia origanoides*) at conditions of Maciço Baturité, Ceará state, Brazil. The design was completely randomized with split plots and, the plots defined by two seasons of year, dry (from August to November, 2013) and rainy (from February to May, 2014), the subplots formed by light conditions, shaded 50% (greenhouse) and unshaded (full sun) evaluated at four times (0, 40, 80 and 120 days after transplanting), with five repetitions. Irrigation was performed using the "Bubbler" system, which is recommended for family farming. In the dry period, the irrigation was performed every two days, maintaining the soil in the field capacity. And in the rainy season, irrigation was only performed in a supplementary way. The variables evaluated were proline levels and the yield of essential oil. For the free proline levels, it can be observed that in the dry period these were superior in comparison to the rainy season, this may be associated with a higher availability of water in this period. For the essential oil yield, it was observed that the plants submitted to greater luminosities (full sun), during the dry period, presented a greater yield of oil than those that were in a protected environment. In the rainy season the results show similarity between the cultivation environments, both in terms of leaf biomass and in terms of essential oil yield. The plant of alecrim pimenta is sensitive to temperature variation because this causes changes so much in the proline levels how much the yield of the essential oil.

**KEYWORDS:** *Lippia origanoides*, seasonality, organic solute

### **INTRODUÇÃO**

Quando algumas espécies de plantas são expostas a condições adversas como déficit hídrico, restrição luminosa, entre outros fatores, podem ocorrer alterações metabólicas, como por exemplo, a conversão do amido em carboidratos solúveis, tais como sacarose, glicose, frutose, visando o equilíbrio osmótico da célula (RABELO et al., 2013). Outros exemplos são o acúmulo de prolina, um aminoácido que contribui para o processo de osmorregulação e alterações no rendimento do óleo essencial (REIS et al., 2010).

O ajuste osmótico é uma das principais respostas das plantas ao estresse hídrico e está correlacionado ao grau de tolerância. Neste mecanismo, ocorre a biossíntese e o acúmulo de solutos compatíveis, como o aminoácido prolina, no vacúolo ou no citosol, com função osmoprotetora, o que mantém o equilíbrio hídrico e preserva a integridade celular de proteínas, enzimas e membranas, para a continuidade das atividades vitais, e constitui uma das estratégias adaptativas dos vegetais aos múltiplos efeitos causados pelos estresses (ABDUL JALEEL et al., 2007).

No que diz respeito ao efeito da luminosidade no metabolismo de plantas medicinais, pouco se sabe sobre a adaptabilidade desses vegetais a essas condições. Sabe-se que produtos naturais e ervas da medicina popular têm sido usados há séculos por várias culturas em todo o mundo, e entre as plantas medicinais, destaca-se o alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth), planta pertencente à família Verbenaceae, aromática, nativa da América Central e norte da América do Sul (VICUÑA et al., 2010). É utilizada para tratar dor de estômago, flatulência, asma, indigestões e tuberculose, além de ser agente antiespasmódico e ter efeito expectorante em infecções pulmonares e brônquicas (STASHENKO et al., 2010).

Em virtude do exposto, bem como pela escassez de trabalhos sobre a *Lippia origanoides* sob condições adversas, objetivou-se com o presente trabalho, avaliar o teor de prolina e o rendimento do óleo essencial em plantas de alecrim pimenta em duas condições de luminosidade e períodos de avaliação (seco e chuvoso) nas condições edafoclimáticas do Maciço de Baturité, Ceará.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em duas fases, a primeira durante a estação seca de 2013 (agosto a novembro) e a segunda durante a estação chuvosa de 2014 (fevereiro a maio), em uma área da fazenda experimental da Universidade Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), localizada no Sítio Piroás, município de Redenção, no Maciço de Baturité, a uma latitude de 04°14'53"S, longitude de 38°45'10"W e altitude média variando de 240 a 340 m.

De acordo com Köppen (1923), o clima do local é classificado como Aw', ou seja, tropical chuvoso, muito quente, com predomínio de chuvas nas estações do verão e outono. Os dados de precipitação durante o período experimental estão descritos na tabela 1.

O experimento foi conduzido seguindo um delineamento inteiramente casualizados com parcelas subdivididas, sendo as parcelas definidas pelas duas estações (seca e chuvosa), as

subparcelas formadas pelas condições de luminosidade (TEL50 e PLSOL), e as subsubparcelas pelas quatro épocas de avaliação (0, 40, 80 e 120 DAT). Foram utilizadas cinco repetições, sendo cada repetição representada por um vaso de 20 litros contendo uma planta.

Os dados de temperatura, umidade e luminosidade nas duas condições foram determinados com o auxílio de dataloggers (HOBO U12 Temperature/Relative Humidity/Light/External, Modelo: U12-012), onde foram dispostos um dentro da casa telada e outro no ambiente a pleno sol, e os dados eram armazenados sempre a cada seis horas. Ao fim de cada avaliação, esses dados eram descarregados para que fosse possível calcular os valores máximos, mínimos e médios das variáveis citadas acima, e podem ser observados na tabela 2.

Antes de utilizar o solo, demarcou-se uma área onde foi feita uma coleta através de cinco amostras simples, retiradas entre as camadas de 0,0 a 0,20 m, as quais foram homogeneizadas para formação de uma amostra composta, e enviada ao Laboratório de Química e Fertilidade do solo da Universidade Federal do Ceará para determinação dos principais atributos químicos que podem ser observados na tabela 3. Esse solo foi utilizado para preencher os vasos de 20 L, onde posteriormente as mudas foram colocadas.

As mudas de alecrim-pimenta (*Lippia organoides*) foram produzidas no Horto de plantas medicinais Professor Francisco José de Abreu Matos da Universidade Federal do Ceará (UFC) a partir de estacas utilizando ramos herbáceos apicais com aproximadamente 15 cm de comprimento, tendo como substrato para o enraizamento uma mistura de areia e esterco bovino (2:1), e após o enraizamento, foram transplantadas para vasos de plástico com capacidade para 20 litros, onde permaneceram durante 10 dias em telado com 50% de luminosidade para a aclimação. Logo após esse período, metade das mudas (sessenta), foram levadas para fora do telado, onde ficaram submetidas a sol pleno, enquanto que a outra parte permaneceu dentro do telado.

A irrigação foi realizada a cada dois dias, no período seco, mantendo-se o solo na capacidade de campo, sendo que a aplicação da água foi realizada com o uso do sistema de irrigação “Bubbler”, o qual é recomendado para a agricultura familiar. No período chuvoso, a irrigação foi feita apenas de forma suplementar, quando não ocorriam precipitações.

As avaliações foram feitas aos 120 DAT, onde folhas foram coletadas e colocadas em papel alumínio para posterior liofilização. Os extratos para a determinação dos teores de prolina foram obtidos de acordo com o método de Bates, Waldren e Teare (1973), com pequenas modificações. Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL do extrato, 1mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial, e agitados vigorosamente em agitador de tubos de ensaio. Posteriormente, colocou-se os tubos em banho-maria por 1h, a 100 °C. Após 1h, a reação foi

interrompida e os tubos foram resfriados em banho de gelo. Adicionou-se 2 mL de tolueno, fechou-se os tubos e os mesmos foram agitados novamente em agitador de tubos de ensaio. A fase menos densa (cromóforo) foi aspirada com uma pipeta de Pasteur. E a leitura foi feita em espectrofotômetro à 520nm, tendo como “branco” um tubo de ensaio contendo apenas tolueno.

Já o óleo essencial foi obtido por hidrodestilação da borra do café à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, em aparelho tipo *Clevenger* modificado. Para tanto, foram utilizados 130 g do material, acondicionados em balões de vidro de 2000 mL, juntamente com 1500 mL de água destilada, sobre manta aquecedora e acoplada a aparelho do tipo *Clevenger* para a hidrodestilação do óleo. Após um período ininterrupto de 2 horas de destilação, foi anotado o volume de óleo essencial obtido em cada parcela.

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o programa “ASSISTAT 7.5 BETA”. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, quando os fatores forem natureza qualitativa, ou realizou-se uma análise de regressão, quando os fatores forem quantitativos. Foi feita uma análise comparativa das respostas das plantas nos experimentos dos períodos seco e chuvoso.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os teores de prolina livre, foi observado que os mesmos foram influenciados significativamente pelos pelo período (A), mas não sofreu influência pelo efeito da luminosidade (B). Com relação ao efeito conjunto, verificou-se que a interação dupla foi significativa a 1% de probabilidade (Tabela 4).

Observa-se de um modo geral, que para o período seco, os teores de prolina livre foram maiores em comparação aos do período chuvoso (Figura 1). Para o primeiro período (seco), as folhas das plantas que foram submetidas a pleno sol apresentaram maiores valores que as submetidas à ambiente telado (Figura 1A). Em contrapartida, as folhas submetidas a telado no período chuvoso (Figura 1B), apresentaram maiores teores de prolina. Esses valores podem ser associados ao período de cultivo que pode ter influenciado uma maior disponibilidade de água ou não pelas precipitações, principalmente no período chuvoso, bem como o ambiente a pleno sol pode ter influenciado um maior déficit de água no período seco, influenciando assim o aumento da prolina nessa época e nessa condição de cultivo.

No período chuvoso, as precipitações podem ter aumentado a quantidade de água disponível, fazendo assim com que as plantas tivessem uma melhor condição para

desenvolvimento, não necessitando aumentar o teor de prolina livre em suas folhas. Sabe-se ainda que o teor de prolina é influenciado com a temperatura (calor), podendo o sombreamento ter causado a alteração nessas concentrações do aminoácido nas plantas de acordo com a radiação em que as plantas estavam submetidas.

Matsumoto et al. (2000), trabalhando com efeitos do sombreamento de grevilhas em cafezais, observaram que os maiores teores de prolina encontrado em plantas de café, foram nas que estavam a uma maior exposição solar, bem como maior déficit hídrico que as que permaneceram com maiores níveis de sombreamento, concordando com os resultados encontrados no presente trabalho no período seco.

Já para o rendimento do óleo essencial observou-se que o ambiente de cultivo influenciou na quantificação do mesmo, de modo que as plantas submetidas a maiores luminosidades (pleno sol), durante o período seco, apresentaram um rendimento maior de óleo que as que estavam em ambiente telado. É importante ressaltar que a produção de folhas foi ligeiramente superior nas plantas sob telado aos 120 DAT, o que pode compensar parcialmente essa diferença. Os resultados observados no período chuvoso mostram similaridade entre os ambientes de cultivo em termos de rendimento de óleo essencial (Tabela 5).

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Souza et al., (2007) que trabalhando com a influência do sombreamento na produção de fitomassa e óleo essencial em alecrim-pimenta verificaram que as plantas submetidas a luz plena apresentaram maiores rendimentos que as que estavam submetidas ao sombreamento progressivo com tela tipo sombrite (75%, 50% e 25%), foram obtidos 0,48 mL/g para as plantas a sol pleno e 0,27 mL/g, 0,21 mL/g e 0,03 mL/g para as luminosidades 25, 50 e 75% respectivamente. Confirmando também dados de Melo et al. (2011).

Trabalhando com produção de folhas, óleo essencial e anatomia foliar quantitativa de *Lippia alba* em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita, Ventrella (2000) verificou que luminosidade intensa durante o desenvolvimento de folhas de *L. alba* possibilitaria uma atividade fotossintética mais eficiente, indicada por maiores produções de biomassa e de óleo essencial, para essa variedade de *Lippia* foram obtidos 0,35, 0,20, 0,20 e 0,17mL/Kg para as luminosidades de 0, 30, 50 e 70% respectivamente.

## CONCLUSÕES

Os teores de prolina se mostraram superiores no período seco, quando as plantas foram cultivadas em pleno sol.

O ambiente de cultivo influenciou na quantificação do óleo essencial, de modo que as plantas submetidas a maiores luminosidades (pleno sol), durante o período seco, apresentaram maior rendimento de óleo que as que estavam em ambiente telado.

A planta de alecrim-pimenta é sensível à variação de temperatura, pois essa causa alterações tanto nos teores de prolina quanto no rendimento do óleo essencial.

### **AGRADECIMENTOS**

À Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab) e a Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo o apoio e disponibilização do espaço para pesquisa, aos docentes e discentes envolvidos na mesma, por incentivar e repassar seus conhecimentos e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), bem como a CAPES pelo financiamento da bolsa de pesquisa.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANNEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulations, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 59, n. 2, p. 150-157, 2007.

MATSUMOTO, S. N.; FARIA, G. O.; VIANA, A. E. S.; PINTO, P. Efeitos do sombreamento de grevilhas em cafezais no sudoeste da Bahia, Brasil. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas- MG. Anais... Poços de Caldas- MG. 2000, p. 1010-1014.

MELO, M. T. P.; CARVALHO JÚNIOR, W. G. O.; SOUZA, M. F.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) em diferentes espaçamentos de plantio. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.13, n.2, p.230-234, 2011.

RABELO, R.G., VITÓRIA, A.P., SILVA, M.V.A., CRUZ, R.A., PINHO, E.I.B., RODRIGUES, D.R., FREITAS, A.V., CUNHA, M. Structural and ecophysiological adaptations to Forest gaps. *Trees*, v.27, n.1, p. 259-272, 2013.

REIS ES; PINTO JEBP; BERTOLUCCI SKV; CORREA RM; PAULA JR; ANDRADE ST; FERRI PH. Seasonal variation in essential oils of *Lychnophora pinaster* Mart. Journal of Essential Oil Research, v. 22, n. 2, p. 147-149. 2010.

SOUZA, M. F.; GOMES, P. A.; SOUZA JUNIOR, I. T.; FONSECA, M. M.; SIQUEIRA, C. S.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Influência do sombreamento na produção de fitomassa e óleo essencial em alecrim-pimenta (*lippia sidoides* cham.). Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 108-110, 2007.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R.; RUÍZ, C. A.; ARIAS, G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. J. Sep. Sci. v. 33, p. 93-103, 2010.

VICUÑA, G. C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical composition of the *Lippia organoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. Fitoterapia, v. 81, p. 343–349, 2010.

**Tabela 1.** Média mensal da pluviometria registrada para a macrorregião do Maciço de Baturité, no município de Redenção – CE.

	PERÍODO SECO (2013)		
	Normal (mm)	Observada (mm)	Desvio (%)
AGOSTO	12,9	1,5	-88,6
SETEMBRO	4,6	1,0	-77,7
OUTUBRO	3,8	3,3	-12,7
NOVEMBRO	5,2	13,6	164,1

	PERÍODO CHUVOSO (2014)		
	Normal (mm)	Observada (mm)	Desvio (%)
FEVEREIRO	166,4	123,5	-25,8
MARÇO	251,8	346,1	37,5
ABRIL	261,4	219,6	-16,0
MAIO	168,0	109,6	-34,8

FUNCEME 2014.

**Tabela 2.** Valores médios de temperatura máxima (T. Máx.), mínima (T. Mín.) e média (T. Méd.), umidade relativa do ar máxima (UR. Máx.), mínima (UR. Mín.) e média (UR. Méd.) e luminosidade máxima (Lum. Máx.), mínima (Lum. Mín.) e média (Lum. Méd.), durante o período experimental no Maciço de Baturité, CE. 2014.

	Período Seco		Período Chuvoso	
	Telado	Pleno Sol	Telado	Pleno sol
T. Máx.	36,56 °C	39,54 °C	34,0 °C	37,8 °C
T. Mín.	23,67 °C	23,71 °C	21,1 °C	20,7 °C
T. Méd.	30,11 °C	31,62 °C	27,55 °C	29,2 °C
UR. Máx.	94,50 %	91,46 %	98,44%	99,04%
UR. Mín.	25,55%	20,04 %	40,45%	49,49%
UR. Méd.	60,02%	55,75 %	69,44%	74,26%
Lum. Max.	11.372,3 Lux	32.201,2 Lux	5.364,9 Lux	24.427,8 Lux
Lum. Mín.	11,8 Lux	11,8 Lux	11,8 Lux	11,8 Lux
Lum. Méd.	5.692,0 Lux	16.106,5 Lux	2.688,3 Lux	12.219,8 Lux



**Tabela 3.** Atributos químicos do solo, na camada de 0 a 0,20 m de profundidade, da área experimental.

	N (g Kg <sup>-1</sup> )	Ca	Mg	Na	K	H+Al	Al	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	(Cmolc Kg <sup>-1</sup> )								(mg Kg <sup>-1</sup> )			
Época Seca	0,90	3,40	1,40	0,10	0,32	1,98	0,10	5,2	6,7	0,6	2,1	9,7
Época Chuvosa	0,71	4,50	1,70	1,60	0,21	0,17	0,00	8,0	11,2	0,6	2,4	20,4

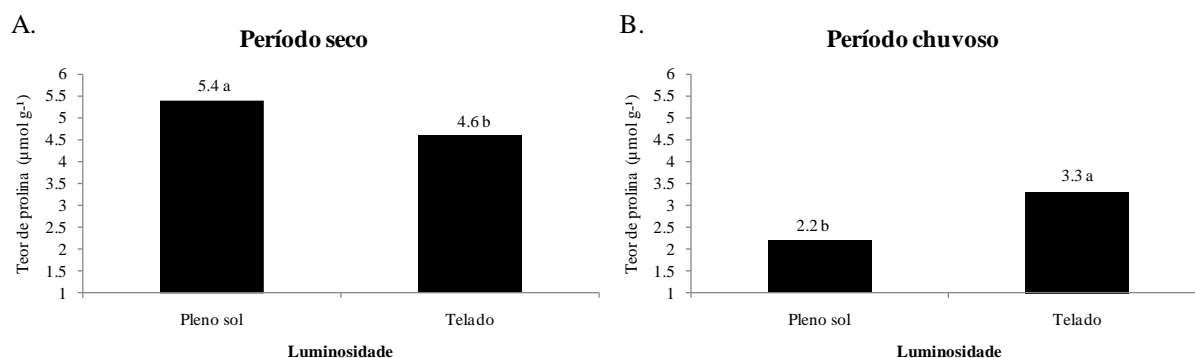
**Tabela 4.** Valores sumarizado da análise de variância para teores de prolina livre em plantas de alecrim pimenta (*Lippia origanoides*) submetidas a dois períodos (seco e chuvoso) e duas condições de luminosidade (telado 50% e pleno sol), cultivadas no Maciço de Baturité, CE, 2014.

Fonte de Variação	GL	QM
Período (A)	1	25.36**
Luminosidade (B)	1	0.06 <sup>ns</sup>
Interação (A) x (B)	1	5.00**
CV (%)		15.78

\*\* , \* e <sup>ns</sup> - significativo a 1% e a 5% de probabilidade e não significativo pelo teste F, respectivamente. CV - coeficiente de variação em porcentagem.

**Tabela 5.** Rendimento do óleo essencial de plantas de alecrim pimenta (*Lippia origanoides*) submetidas a dois períodos (seco e chuvoso) e duas condições de luminosidades (telado 50% e pleno sol), cultivadas no Maciço de Baturité, CE, 2014.

Período Seco (2013)		Período Chuvoso (2014)	
Telado	Pleno Sol	Telado	Pleno Sol
(mL/g)		(mL/g)	
1,51	2,02	1,46	1,52

**Figura 1.** Teores médios de prolina livre de plantas de alecrim pimenta (*Lippia origanoides*) submetida a dois períodos: seco (A) e chuvoso (B), em duas condições de luminosidade (telado e pleno sol), cultivadas no Maciço de Baturité, CE, 2014.