

**ADUBAÇÃO ORGÂNICA, INTENSIDADE E  
QUALIDADE DE LUZ NO CRESCIMENTO DE  
PLANTAS, CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E  
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.)**

**RICARDO MONTEIRO CORRÊA**

**2008**

**RICARDO MONTEIRO CORRÊA**

**ADUBAÇÃO ORGÂNICA, INTENSIDADE E QUALIDADE DE LUZ NO  
CRESCIMENTO DE PLANTAS, CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E  
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO  
(*Origanum vulgare* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de  
Lavras como parte das exigências do Programa  
de Pós-Graduação em Agronomia, área de  
concentração Fitotecnia, para obtenção do título  
de “Doutor”.

**Orientador**  
**José Eduardo Brasil Pereira Pinto**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**  
**2008**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Corrêa, Ricardo Monteiro

Adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz no crescimento de plantas, características anatômicas e composição química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) / Ricardo Monteiro Corrêa. – Lavras: UFLA, 2008.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.  
Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.  
Bibliografia.

1. *Origanum vulgare*. 2. Adubação orgânica. 3. Qualidade de luz. 4. Planta condimentar. 5. Óleos essenciais. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD – 633.88387041

**RICARDO MONTEIRO CORRÊA**

**ADUBAÇÃO ORGÂNICA, INTENSIDADE E QUALIDADE DE LUZ NO  
CRESCIMENTO DE PLANTAS, CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS E  
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO  
(*Origanum vulgare* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

**Aprovada em 07 de março de 2008.**

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro – DBI/UFLA – Lavras-MG

Prof. Dr. João Almir de Oliveira – DAG/UFLA - Lavras-MG

Prof. Dra. Ana Valéria de Souza – UEL – Londrina-PR

Prof. Dr. Eduardo Alves – DFP/UFLA - Lavras-MG

**Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto  
UFLA  
(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida maravilhosa que me concedeu. Deus esteve sempre presente em meus caminhos dando-me forças para superar todas as dificuldades que tive ao longo de toda esta jornada para concluir meus estudos e principalmente este curso de doutorado.

A minha esposa Érika Soares Reis que sempre esteve ao meu lado, pelo carinho, paciência, apoio nos momentos difíceis e acima de tudo pela valiosa ajuda nos experimentos experimentais. Sem sua ajuda não teria concluído esta tese no tempo previsto.

Aos tios que sempre me apoiaram desde a morte de meus pais, minha eterna gratidão...

Aos colegas e amigos que sempre souberam de meu histórico de dificuldades e onde quer que eu os encontre sempre me dizem palavras de persistência e admiração...Minha gratidão à vocês.

A Universidade Federal de Lavras pela oportunidade de estar aqui concluindo mais um grau acadêmico. A UFLA sempre foi e será a minha casa.

Ao Departamento de Fitotecnia que me acolheu desde a graduação e possibilitou a condução das pesquisas ao longo do curso.

Ao laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais pelo suporte em todo o período de curso.

Ao professor orientador e grande amigo José Eduardo Brasil Pereira Pinto, pelos ensinamentos, paciência, grande amizade, confiança e por ter me orientado desde a graduação até o doutorado. Meus sinceros agradecimentos....Espero sempre continuar como parceiro neste laboratório. ..

Aos laboratórios de Fisiologia Vegetal e Microscopia Eletrônica da UFLA pela disponibilidade de análises.

Ao professor Evaristo Mauro de Castro pela disponibilidade de participação na banca de defesa e pelos valiosos ensinamentos.

Ao professor João Almir de Oliveira pela amizade e disponibilidade de participar da defesa deste trabalho.

A prof<sup>a</sup> Ana Valéria de Souza, grande amiga, pela disponibilidade da participação nesta banca examinadora.

Ao prof. Eduardo Alves, pela amizade, orientação nos estudos das amostras de microscopia eletrônica e disponibilidade de participação na banca de defesa.

A prof. Suzan Kelly V. Bertolucci, pela amizade e ajuda em muitos momentos na etapa de graduação e pós-graduação.

A prof. e amiga Hilda Souza Bruzi pelas aulas valiosas de inglês que muito me ajudaram na pós-graduação e pela grande amizade.

Aos técnicos Evaldo Arantes, Luiz Gonzaga, Wantuil, Claret e Eloísa (microscopia eletrônica) pela grande amizade, paciência, ajuda e adorável convívio que tivemos durante este tempo.

Ao funcionário Leandro (Dico) que sempre esteve disposto nas atividades de campo seja na implantação dos experimentos e na avaliação dos experimentos.

Aos bons amigos que fiz no Doutorado, João de Cássia (CEPLAC) e Larissa Corrêa do Bonfim Costa (UESB) pela excelente amizade, troca de experiências e acima de tudo “companherismo”. Nunca esquecerei de vocês...

Aos meus companheiros de laboratório: Larissa Corrêa do Bonfim Costa, Jorge Henrique Chagas, Priscila Botrel, Roseane Rodrigues, Luciana Domiciano, Ana Luíza, Lucélia, Louise Ferreira Rosal, Fúlvia Santos, Renata da Silva Brant, Flávia Dionísio Pereira, Juliana de Fátima Sales e Fabiano Guimarães Silva pelo convívio e troca de experiências.

Aos colegas de disciplinas em especial: Ronaldo Libâneo, João Massaroto, Raírys Nogueira, Luciano Donizete, Hermínio Rocha e Nilmar Arbex pelo convívio e trocas de experiências.

Às bolsistas Caroline Mariane Moreira, Cynthia Reis Barbosa e Cynthia de Oliveira pelas valiosas colaborações nos experimentos de campo e anatomia com microscopia de luz e eletrônica.

Ao colega Tales Antônio Amaral pela valiosa ajuda nas análises de clorofila e carotenóides.

Ao Colegiado do Curso de Fitotecnia representado pelos professores Moacir Pasqual, Édila Von Pinho, Samuel P. Carvalho e José D. Ramos, onde fui representante dos alunos de pós-graduação, obrigado pela oportunidade e confiança que depositaram em mim.

As secretárias da pós-graduação Marli e Neuzi pela amizade e cooperação nas atividades.

Ao prof. Wagner Ottoni (UFV) pelas sugestões no curso de doutorado e pela amizade.

Ao prof. Pedro Miguel Guerra (UFSC) pela disponibilidade de orientação no treinamento que fiz em seu laboratório na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

A Polisack na pessoa do Eng. Agrônomo Cícero pela doação das telas coloridas.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que conviveram comigo neste curso de doutorado que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste título.

## **MENSAGEM**

Talvez pensemos que 100% de confiança seja igual à presunção. A arrogância, porém, é insegurança, e não excesso de confiança. Jesus nunca foi arrogante com pessoa alguma.

**Laurie Beth Jones (In: Jesus, o maior líder que já existiu).**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu pai Walter Alves Corrêa (*in memoriam*) que sempre dizia que eu seria “*um Doutor*”, à minha mãe Romilda Monteiro Corrêa (*in memoriam*) e minha esposa Érika Soares Reis que é um dos grandes alicerces na minha vida.

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	i
GENERAL ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	3
2.1 Origem da espécie, caracterização botânica, aspectos de cultivo e mercado de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> L.) .....	3
2.2 Os óleos essenciais.....	4
2.3 Adubação no crescimento e desenvolvimento de plantas .....	6
2.4 Qualidade e intensidade de luz no crescimento e desenvolvimento de plantas .....	8
3 Referências Bibliográficas .....	12
4 ARTIGO I .....	18
Adubação orgânica no desenvolvimento de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> L.) em cultivo protegido. ....	18
Resumo .....	18
Abstract.....	19
Introdução .....	20
Material e Métodos .....	21
Resultados e Discussão.....	24
Conclusões .....	33
Referências Bibliográficas .....	33

5 ARTIGO II.....	38
Características anatômicas foliares de plantas de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> L.) submetidas a diferentes fontes e níveis de adubação orgânica .....	38
Resumo .....	38
Introdução .....	40
Material e Métodos .....	41
Resultados e Discussão.....	43
Conclusão .....	50
Referências Bibliográficas .....	50
6 ARTIGO III .....	53
Resumo .....	53
Abstract.....	54
Introdução .....	55
Material e Métodos .....	56
Conclusão .....	68
Referências Bibliográficas .....	68
7 ARTIGO IV .....	72
Modificações fisiológicas e anatômicas de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> L.) cultivado sob diferentes tipos de telas coloridas .....	72
Resumo .....	72
Abstract.....	73
Introdução .....	74
Material e Métodos .....	76

Resultados e Discussão .....	78
Conclusão .....	86
Referências Bibliográficas .....	86
8 ARTIGO V .....	90
Avaliação da malha termorefletora no crescimento, teor, rendimento e qualidade de óleo essencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> L.).....	90
Resumo .....	90
Abstract.....	91
Introdução .....	92
Material e Métodos .....	93
Resultados e Discussão .....	96
Conclusão .....	105
Referências Bibliográficas .....	105
9 ARTIGO VI .....	109
Características anatômicas e fisiológicas de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) sob telas termorefletoras .....	109
Resumo .....	109
Abstract.....	110
Introdução .....	111
Material e Métodos .....	112
Resultados e Discussão .....	114
Conclusões .....	124
Referências Bibliográficas .....	124

Considerações Finais .....	128
Anexo.....	129

## RESUMO GERAL

CORRÊA, Ricardo Monteiro. **Adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz no crescimento de plantas, características anatômicas e composição química do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.)**. 2008. 132 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.<sup>1</sup>

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma planta condimentar e medicinal da família Lamiaceae utilizada mundialmente na culinária, indústria de alimentos, fitoterápico e como agente inseticida e bactericida. Este trabalho objetivou estudar tipos e níveis de adubação orgânica, qualidade e quantidade de luz no crescimento de plantas, parâmetros fisioanatômicos e qualidade de óleo essencial de orégano sob cultivo protegido. Foram conduzidos 3 experimentos sendo o primeiro visando avaliar o efeito dos esterco bovino e avícola nas dosagens de 0; 3,0; 6,0; 9,0; 12,0 kg m<sup>2</sup> para esterco bovino e 0; 1,5; 3,0; 4,5 e 6 kg m<sup>2</sup> para esterco avícola. O segundo experimento visou estudar as telas coloridas preta, vermelha e azul e compará-las entre si e com o ambiente pleno sol (testemunha). No terceiro experimento visou-se estudar o efeito da quantidade de luz (irradiância) através do uso de malhas termorefletoras e compará-las ao ambiente pleno sol (testemunha). Observou-se que a adubação orgânica proporcionou efeitos positivos na biomassa seca de plantas de orégano, nas variáveis de crescimento AF (área foliar), AFE (área foliar específica), RPF (razão de peso foliar), RAF (razão de área foliar), R/PA (razão raiz/parte aérea), parâmetros anatômicos, teor e rendimento de óleo essencial. Os compostos hidrato de *trans*-sabineno e timol foram os compostos majoritários. No segundo experimento observou-se que as telas coloridas proporcionaram alterações no crescimento de plantas, rendimento e qualidade de óleo essencial de orégano. As telas coloridas não influenciaram a biomassa seca total e área foliar, porém o ambiente pleno sol reduziu significativamente estas variáveis. Os teores de clorofila, densidade de estômatos e espessura de tecidos foram influenciados pelo ambiente, porém o teor de carotenóides não foi regulado pela qualidade de luz. No terceiro experimento observou-se que maior nível de irradiância (pleno sol) proporcionou maior produção de biomassa seca total, biomassa seca de raiz e biomassa seca de inflorescência. Maior teor e rendimento de óleo essencial foram obtidos de folhas de plantas cultivadas em ambiente de maior irradiância (60% e pleno sol). Apenas a síntese do terpinen-4-ol é influenciada pela

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA (Orientador), Dr. Pedro Henrique Ferri – UFG (Co-orientador).

irradiância. Níveis crescentes de luz não afetaram o teor de clorofila total, porém os níveis de carotenóides foram regulados pela intensidade luminosa.

### GENERAL ABSTRACT

CORRÊA, Ricardo Monteiro. **Organic manure, intensity and quality of light in plants growth, anatomic characteristics and chemical composition of essential oil in wild marjoran (*Origanum vulgare* L.)**. 2008. 132 p. Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.<sup>1</sup>

Wild marjoran (*Origanum vulgare* L.) (Lamiaceae) is a spices and medicinal plant very used in culinary art, food industry, phytotherapeutic, insecticide and bactericide agent. This work aimed to study sources and doses of organic manure, quality and quantity of light in growth plants, physiologic and anatomic characteristics and essential oil quality of wild marjoran cultivated in culture protected. It was carried out 3 (three) experiments: the first trial was aiming to study the organic manure in levels 0.0; 3.0; 6.0; 9.0 and 12.0 kg m<sup>2</sup> for cattle and 0.0; 1.5; 3.0; 4.5 e 6.0 kg m<sup>2</sup> for chicken. The second trial aimed to study the color shade black, red and blue chromatinet and to compare with full sunlight (control). The third trial aimed to study the effect of light quantity (irradiance) through the thermal screens and to compare with full sunlight (control). It was observed significant effect of organic manure in dry biomass plants, in growth characteristics as AF (foliar area), SFA (specific foliar area), RFW (ratio of foliar weight), RFA (ratio of foliar area), R/AP (ratio root/aerial part), chlorophyll content, anatomic characteristics, content and yield of essential oil. The *trans*-sabinene hydrate and thymol were majority compounds. In second trial was observed significant effect of the color shade nets in growth plants, yield and quality of wild marjoran essential oil. The color shade nets were not influenced total dry biomass and foliar area, but the full sunlight decreases these variables. The chlorophyll content, stomata density and tissue thickness were influenced by environment, but the carotenoids content was not regulated by light quality. In third experiment was observed that full sunlight increased total, root and inflorescence dry biomass. High content and yield essential oil were obtained from plants leaves under 60% and full sunlight. Only the terpinen-4-ol compound was influenced by irradiance. Crescent irradiance levels were not regulated the total chlorophyll content, but the carotenoids levels

---

<sup>1</sup> Guidance Committee: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA (Major Professor)

was influenced by irradiance. The anatomic characteristic also was influenced by irradiance.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma planta condimentar e medicinal apreciada na culinária em diversos países do mundo. Sua utilização na culinária, panificação, pizzas, diversas massas dentre outras fazem deste condimento um dos mais cultivados pelos países europeus, Estados Unidos, oriente médio e também o Brasil. Dados de Kokkinis (1996) mostram que o Brasil é um dos maiores importadores de orégano chileno da América Latina. No entanto, o Brasil com sua vasta extensão territorial poderia se tornar auto-suficiente na produção de orégano. Porém, as pesquisas brasileiras com orégano têm-se mostrado voltadas para a utilização de princípios ativos no controle de fungos e bactérias do que na parte de cultivo e produção de biomassa.

Diversos fatores influem na elaboração de princípios ativos e condicionam o aproveitamento medicinal e aromático das plantas pelo homem. Como o ambiente influencia diretamente a expressão dos genes, que por sua vez comandam o metabolismo secundário, a produção dos princípios ativos e biomassa pode ser regulada ou não, de acordo com as condições climáticas, edáficas, nutricionais, ataque de pragas, variáveis estas decisivas para o sucesso de um cultivo (Montanari Jr., 1998). Neste sentido, o manejo fitotécnico como adubação (orgânica e/ou mineral), luz (intensidade e qualidade) entre outros podem alterar significativamente o crescimento de plantas maximizando a produção de biomassa e óleo essencial.

Os níveis de adubação recomendados para plantas aromáticas e medicinais têm ainda poucos estudos visto que não foram encontrados livros mencionando níveis corretos de adubação em função de cada planta medicinal e aromática. Algumas literaturas como a Recomendação de calagem e adubação para Minas Gerais (5º aproximação) e o Boletim 100 do IAC relatam algumas considerações sobre adubação de plantas aromáticas e medicinais.

Especificamente com orégano, poucas informações no Brasil foram encontradas visando estabelecer uma adubação correta para esta espécie. A recomendação geral é a aplicação de 3 a 5 kg m<sup>-2</sup> de esterco orgânico; no entanto o que muitos dos artigos evidenciam é que esta margem não é válida para todas as plantas condimentares e medicinais, necessitando de estudos específicos com cada espécie.

Outras tecnologias agrônômicas que estão sendo muito utilizadas hoje, no cultivo de plantas olerícolas, medicinais e até mesmo frutíferas são as malhas coloridas e as malhas térmicas que alteram o espectro de luz incidente e o microclima no interior do cultivo respectivamente. Várias pesquisas têm mostrado o efeito significativo das telas coloridas em filtrar a luz solar incidente, de acordo com cada cor da tela usada, e alterar os níveis de fotossíntese das plantas fazendo com que haja maior produção de biomassa e qualificação das substâncias produzidas pelo metabolismo secundário das plantas. Especificamente com orégano não foram relatados estudos utilizando as malhas coloridas. Já as malhas termoconversoras por terem a capacidade de reflexão da luz manipulam a irradiância incidida sobre o cultivo fazendo com que as características de crescimento e produção sejam também alteradas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar as adubações com esterco bovino e avícola, bem como as malhas coloridas Chromatinet<sup>®</sup> e as malhas termoconversoras Aluminet<sup>®</sup> no crescimento de plantas, caracteres fisiológicos e anatômicos, teor de clorofila e carotenóides, teor, rendimento e qualidade do óleo essencial de orégano cultivado em ambiente protegido.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Origem da espécie, caracterização botânica, aspectos de cultivo e mercado de orégano (*Origanum vulgare* L.)

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma espécie condimentar perene pertencente à família Lamiaceae muito utilizada na culinária, panificação e flavorizante de alimentos. A espécie é originária da região mediterrânea da Europa, Norte da África e Oriente Médio. A espécie foi aclimatada na América do Norte e nas regiões áridas da América do Sul (Chile e Argentina).

É uma erva rizomatosa, baixa e rasteira que no florescimento ergue seus ramos, podendo alcançar até 0,60m de altura, embora, em geral, não passe de 0,25m a 0,40m. Os ramos são longos, prostrados, quadrangulares e pubescentes, pardo-esverdeados, que se enraízam em contato com o solo. As folhas são pequenas, inteiras, opostas, curto-pecioladas, com base alargada e ápice grosso-acuminado, dando ao limbo uma forma quase cordiforme ou ovalada. Sua face ventral é de cor verde-escura, e a dorsal verde-clara e pubescente. (Castro & Ramos 2003).

A propagação desta espécie pode ser feita por meio de sementes ou através do enraizamento de estacas apicais. O espaçamento no campo varia de 25 a 30 cm entre plantas por 30 a 50 cm entre linhas. A colheita é realizada geralmente de 3 a 5 meses pós-plantio cortando-se os caules de 5 a 10 cm do solo. Dependendo do manejo pode-se realizar até 3 cortes por ano.

Medicinalmente o orégano é utilizado para fins aromático, analgésico, bactericida, antifúngico, diurético leve e digestivo (Martins et al., 1998).

Os principais princípios ativos são: óleos essenciais (timol, carvacrol, terpineol), monoterpenos e sesquiterpenos, ácidos fenólicos, flavonóides, taninos, princípios amargos.

O Brasil é um país com vasta extensão territorial, porém mesmo assim importa grande quantidade de orégano de outros países como Chile, Peru, Turquia, Grécia e Israel.

O Brasil, os Estados Unidos e países da União Européia são tidos como grandes importadores dessa erva (Figura 1). O preço do orégano situa-se ao redor de US\$ 2,79/kg de folhas secas inteiras (FAIRTRADE LABELLING ORGANIZATIONS INTERNACIONAL - FARTRADE, 2006).

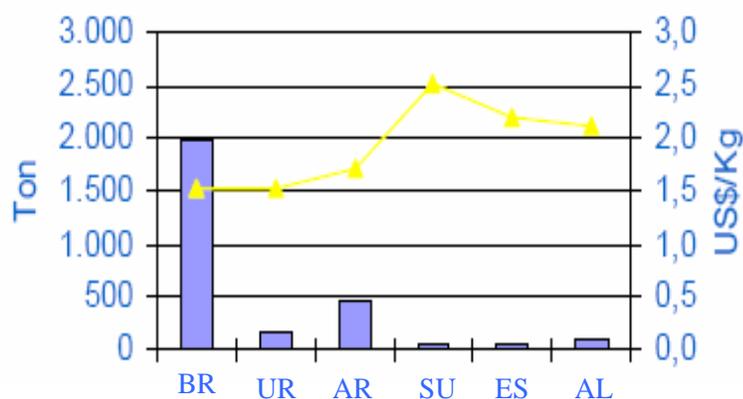


Figura 1: Principais países importadores de orégano chileno. Fonte: Kokkinis (1996). BR- Brasil; UR – Uruguai; AR – Argentina; SU – Suécia; ES – Espanha; AL – Alemanha.

## 2.2 Os Óleos essenciais

Os óleos voláteis ou essenciais são definidos pela Organização Internacional de Padrões (ISO) como sendo os produtos obtidos de partes de plantas por destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por esmagamento dos pericarpos dos frutos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas a temperatura ambiente. Sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se, assim dos

óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas obtidas de sementes (Simões, 1999).

As plantas aromáticas, através de diferentes rotas metabólicas, sintetizam grupos de princípios ativos. Entre estes grupos estão os óleos essenciais que se encontram em diferentes partes das plantas, principalmente nas folhas, flores, raízes, e estruturas especializadas, como nos tricomas glandulares e nas bolsas secretoras. A maioria dos óleos essenciais possui aroma agradável, e as suas propriedades são variadas: antivirótica, antiespasmódica, analgésica, bactericida, cicatrizante, expectorante, relaxante, vermífuga, entre outras (Castro & Ramos, 2003).

É importante ressaltar que o cultivo de plantas aromáticas, medicinais e condimentares deve estar dentro de uma visão agroecológica para que as plantas produzidas sejam ricas em seus princípios ativos e não contaminadas por agrotóxicos (Castro & Ramos, 2003).

O óleo essencial de orégano representa uma percentagem de 0,15 a 0,40% na planta verde no Brasil. Possui sabor levemente picante sendo o mesmo de cor amarelo-limão e aroma intenso (Castro & Ramos, 2003). De acordo com Werker (1985) a qualidade do óleo essencial de orégano é representada pela mistura dos compostos cimeno, carvacrol, linalol, cimol, terpeno, timol, terpineno, cineol, mirceno, sabineno, tujona, terpineol, cariofileno, germacreno, espatulenol, eucaliptol, bornilacetato, bisaboleno, cadineno, entre outros muitos componentes.

O ácido caféico, ácido protocatecúico, ácido cumarínico, ácido rosmarínico, quercetina têm sido identificados em análise dos componentes fenólicos do extrato aquoso e metanólico de orégano (Chun et al., 2004).

Os compostos presentes no óleo essencial da espécie em estudo são tidos como inibidores da proliferação de microrganismos como fungos e bactérias sendo muito pesquisados e utilizados na indústria de alimentos, como podem

ser evidenciados em muitos trabalhos tais como Marino et al. (2001), Skandamis et al. (2002), Nostro et al. (2004) e Souza et al. (2005).

A composição química de produtos de origem vegetal, como óleos essenciais e extratos, dependem de vários fatores de ordens climáticas, sazonais, geográficas e edáficas bem como do período de colheita do vegetal, e da técnica de obtenção do produto derivado.

### **2.3 Adubação no crescimento e desenvolvimento de plantas**

Como as demais plantas cultivadas, cada espécie de planta medicinal e aromática tem sua exigência quanto ao tipo de solo e adubação. A verdadeira erva-cidreira ou melissa (*Melissa officinales* L.) vegeta espontaneamente em qualquer tipo de solo, porém prefere os locais próximos a bosques, riachos e rios. A *Ruta graveolens* L. (arruda) prefere solos pobres e pedregosos (Von Hertwig, 1991). A *Salvia officinales* L. (sálvia) prefere solos leves, ricos em matéria orgânica e bem drenados. No entanto, a *Sonchus oleraceus* L. adapta-se a diversos tipos de solos, preferindo locais com luz plena.

Em contrapartida, espécies de *Plantago* sp. (tanchagem), desenvolvem-se bem em solos úmidos, sob luz plena. Porém a espécie *Bauhinia forficata* (pata de vaca), desenvolve-se em vários tipos de solos, mas não tolera terrenos encharcados. Uma variedade de aipo (*Apuim graveolens* L.), da qual se utilizam as raízes e folhas para uso aromático e medicinal, só vegeta em solos alagados e salgados, próximas de oceanos, até uma altitude máxima de 1000 m. Esta variedade de aipo, considerada nativa, exige certo teor de cloro e de sódio no solo. O *Coriandrum sativum* (coentro) se torna mais aromático em solos férteis ou fertilizados.

Pelo exposto anteriormente, não se pode generalizar os tipos de solos para as plantas medicinais, e sim, conhecer a exigência de solo pertinente a cada

espécie em relação aos aspectos químicos, físicos e biológicos (Martins et al., 1998).

As plantas medicinais e aromáticas como as demais plantas necessitam de suprimento adequado tanto de macro quanto micronutrientes para seu completo ciclo de vida. Porém todos os nutrientes desempenham funções vitais nas plantas, dos quais, dois são provenientes do ar ou da água, e existem em grande quantidade no meio ambiente. São o carbono e o hidrogênio e, a rigor não são considerados nutrientes. Os demais provêm do solo. Os nutrientes apresentam funções vitais como: a) nitrogênio – crescimento da planta; b) fósforo – floração e frutificação; c) potássio – crescimento das raízes e resistência a doenças; d) cálcio – crescimento das raízes e fecundação; e) magnésio – composição da clorofila e ativador de enzimas; f) enxofre – síntese de clorofila, absorção de gás carbônico; g) boro – desenvolvimento de raízes, frutos e sementes; h) cloro - Quebra da molécula de água na fotossíntese; i) cobre - Respiração, síntese de clorofila dentre outros nutrientes.

Os estudos com adubação em plantas aromáticas e medicinais são amplos e na maioria das vezes visam estudar produtividades e outros poucos trabalhos relacionam a adubação com teores de clorofila, qualificação de óleos essenciais, dentre outros parâmetros.

Os esterco bovinos e avícolas são utilizados no cultivo de plantas medicinais e aromáticas, pois fazem parte da agricultura agroecológica. São geralmente fertilizantes orgânicos utilizados devido a sua disponibilidade, elevados teores de nutrientes que possuem, disponibilidade lenta no solo além de permitir a elevação do teor de matéria orgânica do solo e melhoria da qualidade físico química do solo.

Várias são as pesquisas com adubação orgânica tais como os trabalhos de Vieira et al. (1999, 2002), Santos & Inneco (2004) e Carvalho et al. (2005).

Especificamente com orégano poucos estudos foram encontrados relacionando a adubação com a produção e nenhum trabalho encontrado relacionando a adubação com teores de clorofila, aspectos anatômicos e fisiológicos.

#### **2.4 Qualidade e intensidade de luz no crescimento e desenvolvimento de plantas**

Os vegetais utilizam sinalizadores para promoverem determinados padrões de crescimento e esses sinalizadores respondem à qualidade de luz (Almeida & Mondstock, 2001), crescendo sob uma região limitada no espectro visível e exibindo morfologia e fisiologia determinadas pelas variações ocorridas neste espectro (Eskins & Beremand, 1990).

Assim como todos os fatores que influenciam o desenvolvimento e o crescimento de uma planta, a resposta à qualidade de luz também depende da espécie em estudo (Schuerger et al., 1997; Antonopolou et al., 2004). A qualidade espectral afeta estruturalmente a anatomia das folhas, parecendo exercer maiores efeitos durante a expansão foliar, exibindo alto grau de plasticidade tanto anatômico como fisiológico para mudanças na qualidade espectral da luz (Sims & Pearcy, 1992; Saebo et al., 1995 e Schubeger et al., 1997).

A dependência das plantas à luz é um processo complexo que envolve a ação combinada de fotorreceptores que controlam estágios variados no desenvolvimento (Oren Shamir et al., 2001; Shahak et al., 2004). São conhecidas três classes de fotorreceptores consideradas principais: criptocromos e fototropinas, que absorvem luz nas regiões do azul e ultravioleta e os fitocromos, que absorvem luz nas regiões do vermelho e vermelho distante (Kagawua et al., 1992; Frankhauser & Chori, 1997; Saitou et al., 2004; Niemi et

al., 2005). Os mecanismos pelos quais tais fotorreceptores regulam as respostas são, ainda, desconhecidos na sua maioria (Taiz & Zeiger, 2004).

A luz vermelha tem influência no desenvolvimento das plantas, pelas alterações nas razões vermelho/vermelho distante (V:VD) absorvidas por formas interconvertíveis do fitocromo. Variações nas razões V:VD estimulam respostas ao alongamento do caule, florescimento e alterações na condutância estomática (Smith, 1992; Schuerger et al., 1997) e promovem, também, redução da espessura foliar sob condições de sombreamento (Kasperbauer & Peasler, 1973; Schuerger et al., 1997).

Porém, essa redução na espessura foliar pode ser resultado da diminuição na radiação azul (Pushnick et al., 1987). Alguns autores têm sugerido que o fitocromo regula o transporte de reguladores de crescimento, entre eles as auxinas (Tian & Reed, 2001; Niemi et al., 2005;). Outros autores afirmam que o alongamento da parte aérea e dominância apical, respostas estas comuns à luz vermelha, seja um processo mediado pelo fitocromo por meio do controle de enzimas. A auxina pode ser conservada em culturas iluminadas com luz vermelha, mas pode também ser degradada em culturas mantidas sob luz azul.

Dale (1988) relata que o fitocromo pode estar envolvido no controle de genes ligados à fotossíntese, codificando a síntese de clorofilas *a* e *b*, pequenas subunidades da rubisco, entre outros aparatos fotossintéticos.

Outro importante grupo de fotorreceptores para o desenvolvimento das plantas são os que absorvem na região do azul. Inúmeras respostas têm sido descritas em plantas, sendo elas: taxa de inibição no crescimento do hipocótilo, fototropismo e indução de expressão gênica (Motersen & Stromme, 1987; Frankhauser e Chory, 1997; Silva & Debergh, 1997). Além dessas respostas, a luz azul é importante em processos de síntese de pigmentos, enzimas, desenvolvimento de cloroplastídeos, abertura e fechamento estomático, ativação

do ritmo circadiano da fotossíntese e de muitos outros processos fotomorfogênicos (Pushnick et al., 1987; Schuerger et al., 1997 Eckert & Koldenhoff, 2001).

Plantas cultivadas sob luz azul podem resultar em altas taxas de brotações laterais, devido à quebra da dominância apical causada pela degradação de auxinas nessa faixa do espectro (Chee & Pool, 1989; Silva & Debergh, 1997).

Pesquisas de Braga (2006) com o uso de telas coloridas vermelha 50%, preta 50% e azul 50%, no cultivo de plantas de crisântemo (*Dendratherma glandiflora* cv. Rage) oriundas de cultura de tecidos evidenciou que as telas coloridas não provocaram alterações anatômicas e fisiológicas nos tecidos desta espécie.

O fabricante das telas Chromatinet (Polysac Plastic Industries<sup>®</sup>) afirma que a malha ChromatiNet Vermelha tem a finalidade de alterar o espectro da luz, reduzindo as ondas azuis, verdes e amarelas e acrescentando as ondas na faixa espectral do vermelho e vermelho-distante. A malha azul chromatinet muda o espectro da luz, reduzindo as ondas na faixa do vermelho e vermelho distante e acrescentando as ondas azuis. Já a tela preta é considerada neutra, ou seja, apenas reduz a irradiância e não altera o espectro de luz.

Há de salientar que pela lei de Wien que determinado tipo de radiação tem mais energia quanto menor for seu comprimento de onda e como a malha vermelha transmite menos ondas de maior energia, na faixa de UV, azul e verde, e mais ondas de baixa energia, na faixa do vermelho e vermelho -distante, na verdade o fluxo de fótons fotossintéticos pode ser até maior no caso da malha vermelha para a mesma quantidade em Watts (Leite et al., 2005).

Assim, malhas de cor azul transmitem maior energia que as malhas de cor vermelha. Este mesmo autor estudou o efeito de malhas coloridas no crescimento e florescimento da orquídea *Phalaenopsis* sp. Foi observado que

maior massa fresca e seca de folhas nas variedades cultivadas sob malha azul, onde este fato foi atribuído a qualidade da luz transmitida; Leite et al. (2005) afirma que algumas plantas mantêm os estômatos abertos sob malha azul mesmo em condições não ideais. A luz azul entumesce a célula guarda do estômato mantendo o ostíolo aberto, ou seja, a luz azul mantém os estômatos abertos, onde com os estômatos abertos, maior quantidade de CO<sub>2</sub> pode ser carboxilado aumentando a eficiência da fotossíntese.

Existem relatos também de que a qualidade de luz influi na biossíntese de clorofila, onde Tsnoyama et al. (2002) afirma que a luz azul influencia a biossíntese de clorofila e outros pigmentos através da regulação da expressão de determinados genes. Leite (2005) relata que o maior vigor foliar de plantas de *Phalaenopsis sp.* foi obtido em plantas cultivadas sob malha azul em relação as malhas vermelha e preta. No entanto, foi observado por este mesmo autor que a precocidade do florescimento foi encontrada em plantas cultivadas sob malha vermelha.

Em contrapartida, Leite (2004) observou que em plantas de alface cultivadas sob malha azul foi prejudicial ao cultivo tornando-se pior que a testemunha, a campo aberto. Em contrapartida a malha termorefletora Aluminet e a malha de transmissão no vermelho mais vermelho distante incrementaram a produtividade no verão. No inverno, época que falta luz, estas duas malhas não diminuía a produtividade.

Pesquisas de Costa et al. (2007) mostraram efeito estimulante da malha vermelha em crescimento de raízes de orquídea *Cattleya loddigesii* onde estes autores observaram que as raízes desta espécie cultivadas em condições *in vitro* sob malha vermelha tiveram maior comprimento.

Em relação às telas termorefletoras várias pesquisas também mostram o efeito de redução da temperatura no interior dos cultivos proporcionando ganhos de produtividade. Medina & Machado (2006) relatam que usando Aluminet

houve um incremento de fotossíntese que propiciou cerca de 26% a 40% de precocidade na formação de mudas citrícolas. Se for adequadamente manejado, o Aluminet pode dar ganhos de mais de 40% de precocidade. Leite (2004) relata que por ser de Alumínio, as telas termorefletoras Aluminet refletem as ondas de calor fazendo com que a temperatura abaixe de 10 a 20%. Por diminuir a temperatura, a umidade relativa sobe automaticamente fazendo com que os requerimentos de irrigações e de nebulizações diminuam. Além disso, por ter fios retorcidos fornece, em média, 15% de luz difusa ao ambiente.

Neste sentido observa-se que as pesquisas com qualidade e intensidade de luz são muito variadas em relação ao objetivo da pesquisa, quer seja produção de biomassa, indução floral, qualidade de princípios ativos, produção de mudas dentre outros. As diferentes telas coloridas e termo-refletoras proporcionam diferentes respostas conforme o genótipo, sazonalidade e tipo de órgão vegetal explorado.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. O afilhamento da aveia afetado pela qualidade de luz em plantas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 31, n. 3, p. 393-400, jun./set. 2001.

ANTONOPOLOU, C.; DIMASSI, K.; THERIOS, I.; CHATZISSAVVIDIS, C. The influence of radiation quality on the *in vitro* rooting and nutrient concentrations of peach rootstock. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 48, n. 4, p. 549-553, 2004.

BRAGA, F. T. **Ambiente de cultivo na propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev cv. Rage): características anatômicas e fisiológicas.** 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P. M.; SOUSA, J. S. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 234-240, ago./set. 2005.

CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. **Descrição botânica, cultivo e uso de *Origanum majorana* L., manjerona e de *Origanum vulgare* L., orégano (LAMIACEAE)**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 15 p. (Circular Técnica, 22).

CHEE, R.; POOL, R.M. Morphogenetic responses to propate trimmi ng, spectral irradiance, and photoperiod of grapevine shoots recultured *in vitro*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 114, n. 2, p. 350-354, Feb.1989.

CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antio xidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, Dalian, China, v. 16, n.3, p. 2-7, Fev. 2004.

COSTA, F. C.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, D. N; CASTRO, E. M.; PASQUAL, M. Sacarose e qualidade de luz na propagação *in vitro* de plântulas de orquídea. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 16., 2007, Goiânia, GO. **Anais...** Goiana, GO: UFG, 2007. 34 p.

DALE, J. E. The control of leaf expansion. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.39, p.267-295, Jun. 1988.

ECKERT, M.; KALDENHOFF, R. Light -induced stomatal movement of selected *Arabidopsis thaliana* mutants. **Journal of Experimental Botany**, Cambridge, v. 51, n. 349, p.1435-1442, Aug. 2001.

ESKINS, K.; BEREMAND, P. D. Light -quality irradiance-level control of lightharvesting complex of photosystem 2 in maize mesophyll cells. Evidence for a low fluence rate threshold in blue -light reduction of mRNA and protein. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 78, n. 3, p. 435-440, Sept. 1990.

FAIRTRADE LABELLING ORGANIZATIONS INTERNATIONAL - FAIRTRADE. **Fairtrade Standards Herbs and Spices Small Farmers' Organisations**. USA, 2006. 344 p.

FRANKHAUSER, C.; CHORY, J. Light control of plant development. **Annual Review Cellular Development and Biology**, Palo Alto, v. 13, p. 203-229. 1997.

HERTWIG von , L. F. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem, comercialização. 2.ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.

KAGAWA, T. S.; SAKAI, T.; SUETSUGU, N.; OIKAWA, K.; ISHIGURO, S.; KATO, T.; TABATA, S.; OKADA, K.; WADA, M. *Arabidopsis* NPL1: a phototropin homologue controlling the chloroplast high-light avoidance response. **Science**, Washington, v. 291, n. 5511, p. 2128-2141, Jan. 1992.

KASPERBAUER, M. J.; PEASLER, D. E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that received end-of-day red or far-red light during development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 5, p. 440-442, June 1973.

KOKKINI, S. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In: INTERNACIONAL WORKSHOP ON OREGANO, 1., 1996, Bari, Itália, 1996. **Proceedings...** Bari, Itália: IPGRI, 1996. 175 p.

LEITE, C. A.; ITO, R. M.; GERALD, T. C.; FAGNANI, M. A. **Manejo do espectro de luz através de malhas coloridas visando o controle do crescimento e florescimento de *Phalaenopsis***. 2005. Disponível em: <[www.polisack.com.br](http://www.polisack.com.br)>. Acesso em: 02 jan. 2007.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. **International Journal of Food Microbiology**, Japan, v. 67, n.5, p. 187-195, 2001.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1998. 220 p.

MEDINA, C.; MACHADO, E. C. **Uma nova luz para o futuro dos pomares**. Campinas: IAC, 2006. 4 p. (Boletim Citrus).

MONTANARI JÚNIOR., I.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P. Influência da fertilização NPK na biomassa e no teor de alcalóides de *Atropa belladonna* Linn. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 71, set. 1998.

MORTENSEN, L. M.; STROMME, E. Effects of light quality on some greenhouse crops. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 33, n. 1/2, p. 27-36, Aug. 1987.

NIEMI, K.; JULKUNEN, T. R. ; TEGELBERG, R.; HAGGMAN, H. Light sources with different spectra affect root and mycorrhiza formation in Scot pine *in vitro*. **Tree Physiology**, Victoria, v. 25, n. 1, p.123-128, Aug. 2005.

NOSTRO, A.; BLANCO, A. R.; CANTELLI, M. A.; VICENZO, E.; FLAMINI, G.; MORELLI, I. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, Europe, v. 230, p. 191-195, Jan. 2004.

OREN-SHAMIR, O. M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; LEVI, A. N.; RATNER, K.; OVADIA, R.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Horticultural Science Biotechnology**, United Kingdom, v. 76, n.56, p. 353-36, Jan. 2001.

PUSHNICK, J. C.; GALEGRI, R. C.; SMOTHANE, E. V. Influences of ultra-violet (UV)-blue light radiation on the growth of cotton. II. Photosynthesis, leaf anatomy, and iron reduction. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 10, n. 17, p. 2283-2297, May 1987.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. **Plan Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 177-185, Jan. 1995.

SAITOU, T.; HASHIDUME, A.; TOKUTOMI, S.; KAMADA, H. Reduction of phytochrome level and light-induced formation of adventitious shoots by

introduction of antisense genes for phytochrome A in horseradish hairy roots. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 76, n. 1, p. 45-51, May 2004.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v. 22, n. 2, p. 182-185, abr./jun. 2004.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, 1997.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E.; GAL, E.; GAELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, p. 143-161, May 2004.

SKANDAMIS, P.; TSIGARIDA, E.; NYCHAS, G. J. E. The effect of oregano essential oil on survival /death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5°C under aerobic, VP/MAP conditions. **Food Microbiology**, Greece, v. 19, n.1, p. 97-103, Feb. 2002.

SILVA, M. H.; DEBERGH, P. C. The effect of light quality on the morphogenesis of *in vitro* cultures of *Azorella vidalii* (Wats.) Feer. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 51, n. 3, p. 187-193, June 1997.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 1999. 821 p.

SIMS, D. A.; PEARCY, R. W. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia macrorrhiza* (Araceae) to a transfer from low to high light. **American Journal of Botany**, Columbus, v.79, n. 4, p. 449-455, May 1992.

SMITH, H. Light quality, photoperception, and plant strategy. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p. 481-518, Sept. 1992.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M. ; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; FILHO, J. M. B. Orégano (*origanum vulgare* L., lamiaceae): uma especiaria

como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 132, p. 40-45, out. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TIAN, Q.; REED, J. W. Molecular links between light and auxin signaling pathways. **Journal of Plant Growth and Regulation**, London, v. 20, n. 1, p.274-280, Dec. 2001.

TSUNOYAMA, Y.; MORIKAWA, K. SHIINA, T.; TOYOSHIMA, Y. Blue light specific and differential expression of plastid sigma factor, Sig5 in *Arabidopsis thaliana*. **Febs letter**, Netherlands, v. 516, n.10, p. 225-228, Mar. 2002.

VIEIRA, M. C.; HEREDITA, Z. N. A.; NÉSTOR. A.; RAMOS, M. B. M. Crescimento e produção de capítulos de (*Calendula officinalis* L.), em função de cama de aviário semi-decomposta e de fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 1, n. 2, p. 45-52, set./nov.1999.

VIEIRA, M. C.; HEREDITA Z. N. A.; NÉSTOR. A.; RAMOS, M. B. M. Produção de biomassa de *Mentha xvillosa* em função de cama-de-aviário semidecompostas e épocas de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, SP, v. 4, n. 2, p. 25-29, abr./jun. 2002.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. **Annals of Botany**, Austrália, v. 55, n.6, p. 793-801, Jan. 1985.

## 4 ARTIGO I

### **Adubação orgânica no desenvolvimento de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido.**

Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais exceto as citações (NBR 10520) e as referências bibliográficas (NBR 6023)

### **RESUMO**

Objetivou-se nesta pesquisa avaliar os efeitos de diferentes dosagens dos adubos orgânicos bovino e avícola no crescimento de plantas, teor, rendimento e qualidade do óleo essencial de orégano cultivado em cultivo protegido. Foram conduzidos 2 experimentos separadamente sendo um com esterco bovino e o outro com esterco avícola. Plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) foram cultivadas em vasos de 10 L submetidas aos seguintes tratamentos: Experimento I: Esterco bovino: 1) Solo sem adubação (controle); 2) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 3) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 4) solo + 9,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 5) solo + 12,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; Experimento II – Esterco avícola: 1) solo sem adubação (Testemunha); 2) solo + 1,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 3) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 4) solo + 4,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola e 5) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola. Ambos os experimentos foram conduzidos em delineamento blocos ao acaso com 4 repetições e a parcela experimental composta de 4 vasos. Foi observado que as doses de adubos bovino e avícola influenciaram positivamente no crescimento das plantas, bem como no rendimento e composição química do óleo essencial de orégano.

---

Orientador: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

**Palavras-chave:** *Origanum vulgare* L., planta condimentar, fertilização orgânica, plasticultura.

### ABSTRACT

**Organic manure on plant development in content and quality of essential oil of wild marjoran (*Origanum vulgare* L.) in protecting culture.**

This study was carried out to evaluate the effect cattle and chicken organic manure doses in the development, chlorophyll, essential oil content and chemical composition in *Origanum vulgare* cultivated in green house. For this two assays had been carried out separately being one with cattle manure and other with chicken manure. Plants of wild marjoran were cultivated in 10 L pots with the following treatments: Trial I: Cattle manure: 1) Soil without fertilization (control); 2) Soil + 3.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; 3) Soil + 6.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; 4) Soil + 9.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; 5) Soil + 12.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; Trial II: Chicken manure: 1) Soil without fertilization (Control); 2) Soil + 1.5 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure; 3) Soil + 3.0 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure; 4) Soil + 4.5 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure and 5) Soil + 6.0 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure. Both trials were carried out in randomized blocks with 4 repetitions and 4 pots per experimental parcel. It was observed that the levels of manure organic influenced significantly the development of plants, as well as content and yield of wild marjoran essential oil yield and chemical composition.

**Key-words:** *Origanum vulgare* L., condimentar plant, organic manure, plasticulture.

---

Major Professor: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## INTRODUÇÃO

*Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) conhecido popularmente como orégano é um dos condimentos mais utilizados na culinária brasileira no preparo de carnes, ovos, peixes, panificação e frutos do mar. Além disso, o óleo essencial de orégano também é utilizado na perfumaria (Castro et al., 2003), bem como na indústria de alimentos visando controlar microorganismos causadores de deterioração e/ou causadores de doenças veiculadas por alimentos (Souza et al., 2005).

Mesmo sendo um condimento de grande aceitação no mercado interno, o Brasil importa orégano de outros países como Chile e países do mediterrâneo. Assim, as pesquisas têm sido intensificadas nos últimos anos visando maximizar o processo produtivo de orégano visando reduzir o volume importado.

A produção de biomassa e metabólitos secundários nas plantas medicinais, aromáticas e condimentares depende de algumas variáveis tais como a genética, o clima, as condições edáficas e o manejo fitotécnico (Martins et al., 1998). Dentre os insumos que maximizam a produção das culturas, a adubação é uma das práticas culturais responsáveis pela elevação da produtividade e qualidade dos produtos obtidos. As plantas medicinais e aromáticas como qualquer outra cultura dependem de um suprimento adequado nutrientes para boas produtividades agrícolas. Neste sentido, a adubação orgânica é uma fonte de nutrientes para as plantas que além de permitir um suprimento adequado de macro e micronutrientes contribui para a melhoria da qualidade física, química e biológica do solo.

Em várias espécies de plantas a adubação orgânica tem-se mostrado eficiente na produção de biomassa e outros órgãos de interesse econômico. Pesquisas de Damatto Júnior et al. (2005) evidenciaram que para o maracujá-doce cultivado com 5 kg/planta de esterco bovino foi obtida uma maior

produção por planta e qualidade (teor de sólidos solúveis) em relação as menores dosagens deste composto. Tecchio et al. (2005) observaram efeito positivo do esterco bovino no crescimento de raízes de maracujá-doce, evidenciando que houve melhor distribuição das raízes em profundidade (20 cm) em relação ao tratamento químico com sulfato de amônia.

Em *Calendula officinalis*, a aplicação de 6 kg m<sup>-2</sup> de composto orgânico, na presença de cobertura morta, proporcionou maior produção de matéria fresca e número de capítulos (Santos et al., 2001). A adubação orgânica com esterco avícola maximizou o rendimento de óleo essencial de *Lippia alba* em relação ao solo sem adubação e solo com adubação química (Souza et al., 2002). Vários outros trabalhos têm mostrado que a aplicação de fertilizantes orgânicos aumenta a biomassa e teores de princípios ativos como pode ser evidenciado nas pesquisas com *Lippia alba* Mill. (Ming, 1994), *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Ueda & Ming, 1998), *Achillea millefolium* L. (Scheffer, 1998), *Plantago major* L. (Blanco, 1998), *Mentha x villosa* Huds. (Cruz, 1999) e *Mentha arvensis* var. *piperascens* Holmes (Matos, 2000).

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes fontes e dosagens de fertilizante orgânico no crescimento de plantas, teor, rendimento e qualidade de óleo essencial de orégano cultivado em vasos em condições de cultivo protegido.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Mediciniais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) situada nas coordenadas geográficas 21° 14' S e 45° 00 W, a 918 m de altitude. A exsicata de orégano está depositada no herbário ESAL sob registro nº 22.156.

Mudas de *Origanum vulgare* L. foram obtidas a partir de estacas apicais provenientes de plantas matrizes do horto medicinal da UFLA enraizadas em bandejas de polipropileno expandido de 128 células.

Após cerca de 20 dias as mudas estavam aptas ao plantio e foram transplantadas para vasos de plásticos de 10 L contendo os compostos orgânicos que foram dividido em dois experimentos. Os tratamentos foram: Experimento I – Esterco bovino: 1) Solo sem adubação (Testemunha); 2) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 3) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 4) solo + 9,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 5) solo + 12,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; Experimento II – Esterco avícola: 1) solo sem adubação (Testemunha); 2) solo + 1,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 3) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 4) solo + 4,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola e 5) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola.

O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi o de blocos casualizados com quatro repetições e quatro plantas por parcela.

As características químicas do solo e dos adubos orgânicos foram: pH em água = 7,3; P e K (mg.dm<sup>-3</sup>) = 1,7 e 9; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, H+Al (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) = 5,7; 0,7; 0,0; 1,2; saturação de bases V (%) = 84,3; matéria orgânica (dag kg<sup>-1</sup>) = 3,0; Zn, Fe, Mn, Cu, B e S (mg.dm<sup>-3</sup>) = 1,5; 31,1; 13,8; 1,1; 0,1 e 14,9. Os adubos orgânicos, por sua vez, também foram analisados gerando os seguintes valores para o esterco bovino: pH em água = 8,2; P, K (mg.dm<sup>-3</sup>) = 619,0; 8033; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> e H+Al (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) = 6,9; 3,6; 0,0 e 0,89; SB e CTC (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) = 31,0; 31,9; V (%) = 97,2. Para o esterco avícola: pH em água = 8,2; P, K (mg.dm<sup>-3</sup>) = 1080,5; 8563; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> e H+Al (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) = 2,4; 1,1; 0,0 e 0,77; SB e CTC (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) = 25,4; 26,2; V (%) = 97,1.

Os tratamentos culturais como controle de plantas daninhas, irrigação, pragas e doenças foram realizados ao longo do ciclo. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente. O turno de rega da irrigação foi de 2 dias. Não houve infecção das plantas com patógenos e ataques de pragas.

Aos 90 dias de cultivo os experimentos foram avaliados determinando-se os seguintes parâmetros: área foliar (AF), medida com auxílio de um Medidor Eletrônico de Área Foliar, Modelo LI – 3100-LICOR, a partir da qual obtiveram-se os parâmetros fisiológicos de razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) e razão de peso foliar (RPF), de acordo com Benincasa (2003), relação raiz:parte aérea, teor, rendimento e composição do óleo essencial.

Após a colheita, cada planta foi particionada em raiz, caule, folha e inflorescência para secagem até peso constante para obtenção da biomassa seca, determinando-se também a relação raiz:parte aérea (R : PA).

A obtenção do óleo essencial das folhas foi realizada pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, utilizando-se 40 g de matéria seca em 500 mL de água destilada por 1,5 h. Posteriormente, realizou-se a partição líquido-líquido, em funil de separação, onde foram feitas 3 partições (20 minutos cada) de 30 mL de diclorometano ao hidrolato para a purificação do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso para retirar possíveis resíduos de umidade. As amostras foram deixadas por um período de 24 horas em repouso, onde posteriormente a solução foi filtrada e armazenada à temperatura ambiente em frascos de vidro âmbar parcialmente tampados para permitir a evaporação do restante do solvente. Os parâmetros determinados na quantificação do óleo essencial foram o teor e o rendimento na biomassa seca das folhas (BSF). O teor de óleo foi obtido diretamente como porcentagem ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  BSF) e o rendimento de óleo foi calculado através do teor (%) multiplicado pelo valor médio de BSF (g) da planta ( $\text{g planta}^{-1}$ ).

A análise da composição do óleo essencial foi realizada por meio de uma amostra composta juntando-se os óleos essenciais das quatro repetições de cada tratamento. As temperaturas do injetor e do detector foram  $250^\circ\text{C}$  e  $280^\circ\text{C}$ , respectivamente. As amostras foram analisadas utilizando-se cromatografia

gasosa interfaceada com espectrometria de massas (CG/EM) em equipamento Shimadzu QP5050A utilizando coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e detector operando em impacto eletrônico a 70 eV. O gás de arraste utilizado foi o hélio (fluxo 1 mL/min) e a seguinte programação: 80 °C (1 min), 3°C/min, 180°C, 10°C/min, 300°C (3 min), tipo de injeção split 1:100. Os cálculos dos índices de retenção foram feitos através da co-injeção de *n*-alcanos, na faixa de *n*C9-*n*C18. A identificação dos constituintes do óleo essencial foi efetuada com base nos índices de retenção (Adams, 1995) e pela comparação do espectro de massa com o banco de dados da biblioteca NIST21 e NIST107. A concentração dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do CG e arranjado em ordem de eluição.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e submetidos à regressão polinomial em nível de 5% pelo teste de F.

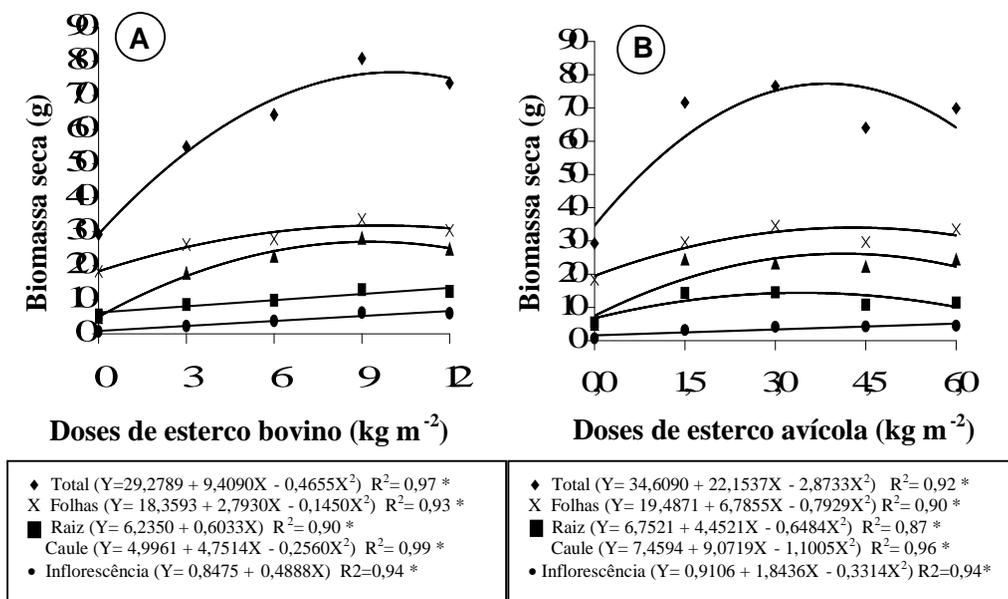
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo da adubação de esterco bovino e esterco avícola na produção de biomassa de orégano ( $P < 0,05$ ). Observou-se que a biomassa seca total (BST), de folha (BSF) e de caule (BSC) tanto para adubação com esterco bovino e adubação com esterco avícola seguiu tendência quadrática (Figura 1). Já as biomassas secas de raiz (BSR) e inflorescência (BSI) seguiram tendência linear com adubação de esterco bovino e quadrática com adubação de esterco avícola respectivamente. Maior BST (76,82 g) foi obtida na dosagem de 10,1 kg m<sup>-2</sup> para esterco bovino e 77,31 g de BST na dosagem de 3,86 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola.

A adubação orgânica com esterco bovino (6 kg m<sup>-2</sup>) em *Calendula officinalis* L proporcionou maior produção de biomassa seca de plantas e maior número de capítulos em relação às demais dosagens testadas evidenciando que a

reposta à adubação depende entre outros fatores da espécie (Santos et al., 2001). Assim, para o cultivo de orégano a maior BST foi obtida em dosagem superior a recomendada por Santos et al., 2001.

Os maiores valores de biomassa podem ser explicados possivelmente pela maior disponibilidade de nutrientes de acordo com o aumento das dosagens ( $10 \text{ kg m}^{-2}$  e  $3,86 \text{ kg m}^{-2}$  para esterco bovino e avícola respectivamente). Porém, acima dessas dosagens pode-se inferir que possivelmente os nutrientes afetaram negativamente a BST devido à toxicidade destes. De acordo com a análise química dos estercos orgânicos evidenciou-se a presença de nutrientes em concentração elevada nos estercos, como o nitrogênio, fósforo e potássio. O nitrogênio e magnésio podem favorecer a síntese da molécula de clorofila, resultando em maior teor de clorofila disponível para a planta. O potássio em maior disponibilidade eleva a translocação de açúcares para as regiões de crescimento; o fósforo fornece energia para diversos processos metabólicos ligados ao crescimento das plantas, além de outros nutrientes importantes como os micronutrientes que ativam diversas enzimas.



**Figura 1:** Níveis de adubação de esterco bovino (A) e esterco avícola (B) na produção de biomassa de *Origanum vulgare*.

\* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Em *Coriandrum sativum* o rendimento máximo de fitomassa seca (5 kg m<sup>-2</sup>) foi obtido com a aplicação de 3,9 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino (Oliveira et al., 2002), sendo que no presente trabalho maior biomassa foi obtida na dosagem de 10 kg m<sup>-2</sup>. A resposta diferenciada de cada espécie pode ser explicada pela influência do genótipo e a variação no teor de nutrientes que ocorre nos adubos orgânicos provido de diferentes fontes e locais.

Portanto, a importância do estudo com adubação orgânica com orégano é devido maximizar a produção para a região sul de Minas Gerais. Assim sendo, os produtores terão dados para se orientarem no cultivo desta espécie na região.

As medidas de superfície relacionadas ao crescimento de plantas, estudadas no experimento também foram influenciadas significativamente pelo tipo e nível de adubação orgânica ( $P<0,05$ ). Observou-se que plantas cultivadas

com esterco bovino tenderam a desenvolver resposta linear para a área foliar (AF) e área foliar específica (AFE). Para o esterco avícola apenas a variável razão de peso foliar (RPF) e razão de área foliar (RAF) tenderam a resposta linear com as doses crescentes de adubo. Resposta quadrática para esterco bovino foi obtida para as variáveis RPF e RAF e relação raiz/parte aérea (R/PA). Em contrapartida, para o esterco avícola resposta quadrática foi obtida para as variáveis AF, AFE e R/PA (Figura 2).

A área foliar relaciona a área disponível para a fotossíntese. Para o orégano cultivado em vasos com doses crescentes de esterco bovino houve aumento linear de AF e AFE com níveis crescentes de esterco bovino, indicando que à medida que elevam-se as doses de esterco bovino aumentam também os valores de AF. Neste sentido, maiores dosagens de esterco bovino proporcionaram maiores valores de AF e AFE indicando maior superfície e foliar disponível para fotossíntese. Já para esterco avícola, a resposta quadrática obtida indicou que a AF e AFE foram maiores em níveis de  $4,15 \text{ kg m}^{-2}$  ( $51,75 \text{ dm}^2$  de AF) e  $3,85 \text{ kg m}^{-2}$  ( $1,67 \text{ dm}^2 \text{ g}^{-1}$  de AFE). A partir destas dosagens ( $4,15 \text{ kg m}^{-2}$  e  $3,85 \text{ kg m}^{-2}$ ) houve tendência de redução da AF e AFE respectivamente (Figura 2 A e B).

O aumento da área foliar está relacionado com a maior disponibilidade de nutrientes em função dos níveis crescentes de adubação orgânica. Para a espécie *Hyptis suaveolens* (Maia, 2006) foi obtido resultados semelhantes, onde ocorreu aumento na produção de biomassa e área foliar em função de doses crescentes de esterco orgânico, fato este atribuído ao aumento na disponibilidade e absorção de nutrientes pelas plantas.

A RPF e RAF tiveram respostas contrárias quanto à aplicação de esterco bovino em plantas de orégano. Porém para RPF observou-se que não houve efeito significativo das doses de esterco bovino evidenciando que a adubação orgânica não influenciou na exportação de material produzido nas folhas para as

demais partes da planta. Já a RAF reduziu com os crescentes níveis de adubação até a dosagem de  $9,48 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco bovino (ponto de mínima da curva). Em contrapartida, para esterco avícola, a RAF tendeu a aumentar linear mente com a elevação dos níveis de adubação evidenciando aumento da área foliar útil para fotossíntese. A RPF tendeu a decrescer com a elevação das doses de esterco de avícola (Figura 2 C e D), demonstrando redução na eficiência de redistribuição de matéria seca.

A R/PA não foi influenciada significativamente pelas doses de esterco bovino e avícola ( $P < 0,05$ ). Observou-se que a relação R/PA variou de 0,17 a 0,22 para plantas adubadas com esterco bovino e 0,19 a 0,23 para plantas adubadas com esterco avícola (Figura 2 E e F).

Resultados semelhantes foram obtidos com *Mentha x villosa* Huds adubada com esterco bovino (0, 2, 4, 6 e  $8 \text{ kg m}^{-2}$ ) onde foi evidenciado que doses crescentes de esterco bovino proporcionam maiores incrementos de BST (Cruz, 1999). Em contrapartida, com *Egletes viscosa* as doses crescentes de esterco bovino não proporcionaram aumentos significativos na biomassa seca de plantas, evidenciando que os efeitos da adubação orgânica não podem ser generalizados para a produção de biomassa seca das diferentes espécies (Bezerra et al., 2006).

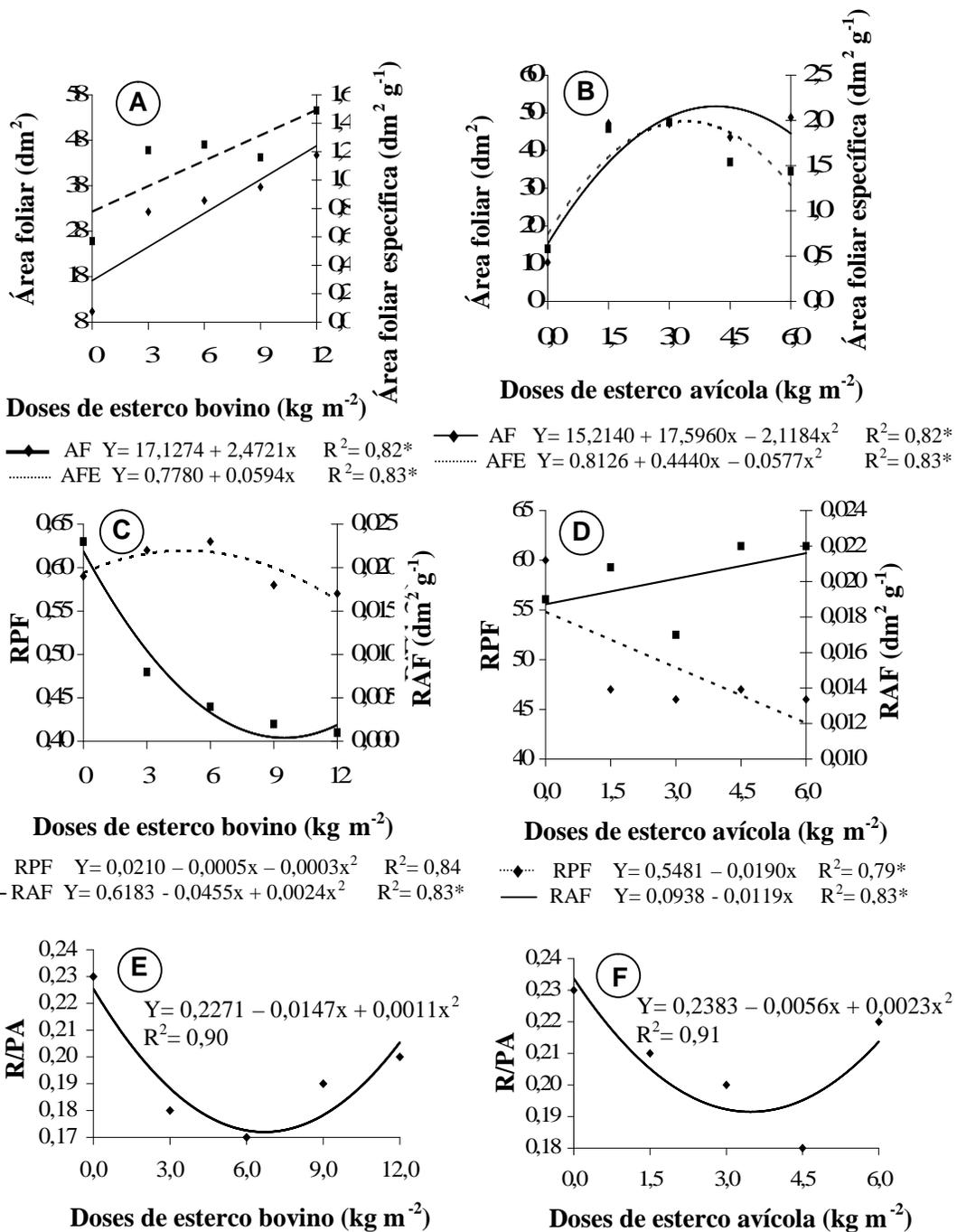
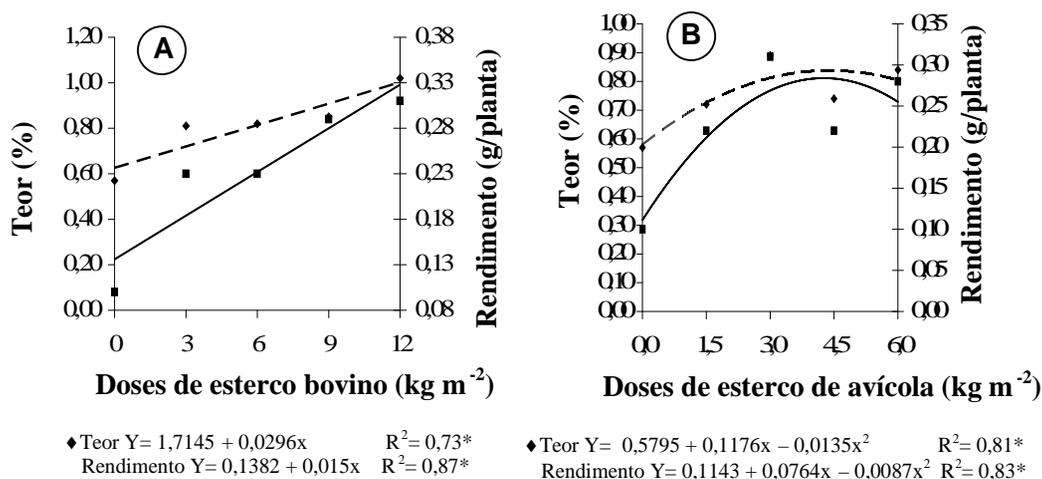


Figura 2: Área foliar (AF) e área foliar específica (AFE) (A e B), razão de peso foliar (RPF) e razão de área foliar (RAF) (C e D) e relação raiz/parte aérea (R/PA) (E e F) de plantas de *Origanum vulgare* em função de doses de esterco bovino e de avícola.

O teor e rendimento de óleo essencial também variaram conforme a dosagem de esterco bovino e avícola (Figura 3). Observou-se efeito significativo ( $P < 0,05$ ) das dosagens crescentes destes compostos orgânicos evidenciando que para o esterco bovino houve efeito linear das doses implicando que à medida que se elevam as doses de esterco bovino eleva-se o teor e rendimento de óleo essencial. A incorporação de  $1 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco bovino proporciona a elevação do teor de óleo em torno de 0,65% e o rendimento eleva-se em aproximadamente 0,14% (Figura 3A). Para o esterco avícola houve efeito significativo das dosagens, porém obteve-se resposta quadrática, evidenciando que o máximo teor de óleo (0,83%) ocorreu com o cultivo de plantas na dosagem de  $4,36 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco e o maior rendimento de óleo essencial ( $0,28 \text{ g planta}^{-1}$ ) foi obtido em dosagem semelhante ( $4,39 \text{ kg m}^{-2}$ ) de esterco avícola. A partir da dosagem média de  $4,37 \text{ kg m}^{-2}$  tanto o teor quanto o rendimento de óleo tenderam a decrescer (Figura 3 B).



**Figura 3:** Teor e rendimento de óleo essencial extraído de folhas de plantas de orégano submetido a diferentes níveis de adubação de esterco bovino (A) e esterco de avícola (B).

\* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Pesquisas com *Justicia pectoralis* var. *stenophylla* evidenciaram que doses crescentes de esterco bovino causaram declínio no rendimento de óleo essencial (Bezerra et al., 2006), enquanto Scheffer (1998); Chaves (2002) e Carvalho et al. (2005), não detectaram diferenças no rendimento de óleo essencial em função da adubação orgânica com esterco bovino nas espécies *Achillea millefolium* e *Ocimum gratissimum*, respectivamente. Em contrapartida, pesquisas de Silva et al. (2007) mostraram que o teor e rendimento de óleo essencial de *Baccharis trimera* aumentou com a elevação das doses de esterco bovino demonstrando que a adubação orgânica proporciona diferentes respostas conforme o genótipo. Neste trabalho a adubação orgânica com esterco bovino e avícola foi benéfica para *O. vulgare*, estando este resultado de acordo Silva et al (2007).

A análise química do óleo essencial de orégano permitiu a identificação de 8 compostos químicos. Os compostos hidrato de *trans*-sabineno e timol foram os compostos majoritários encontrados no óleo em função de fontes e níveis de esterco bovino (Tabela 1). Para o composto hidrato de *trans*-sabineno houve tendência de aumento do teor em função do aumento dos níveis de esterco bovino. Em contrapartida, este mesmo composto apresentou tendência de redução com a elevação dos níveis de esterco avícola. Foi observado um efeito negativo da adubação com esterco orgânicos sobre a produção de timol em relação ao tratamento testemunha (sem adubação), refletindo uma resposta fisiológica a uma variação ambiental desfavorável (deficiência nutricional).

Pesquisas de Pauletti (2005) evidenciaram efeitos benéficos da aplicação de nutrientes ao solo na forma de calcário que fornece cálcio e magnésio, onde os mesmos evidenciaram que a aplicação de calcário aumentou a produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de poejo (*Cunila galioides* Benth.). Neste trabalho, embora a aplicação de nutrientes esteja sendo

disponibilizada de outra fonte, observou-se efeito benéfico do esterco bovino na produção de hidrato de *trans*-sabineno.

Os compostos químicos presentes no óleo de *O. vulgare* são vários como timol, sabineno, terpineol, cariofileno, carvacrol entre outros, evidenciando que os compostos identificados no presente trabalho estão de acordo com os relatados nas pesquisas de Marino et al., 2001; Daferera et al., 2003; e Marín et al., 2004. Já foi descrita a presença de 64 compostos em *O. vulgare* sendo que os compostos apresentados neste artigo estão de acordo com os relatados por D'Antuono et al. (2000).

A composição química de produtos de origem vegetal, tais como óleos essenciais e extratos, dependem de vários fatores de ordens climáticas, sazonais, geográficas, período de colheita e condições edáficas e nutricionais que influenciam significativamente na síntese dos diferentes compostos químicos dos óleos essenciais. Segundo D'Antuono et al. (2000) a presença de 64 compostos foi atribuída por este autor como variação na composição química em função dos 12 acessos de orégano coletados na região do mediterrâneo, ou seja, as diferenças nas condições edáficas, climáticas e sazonais influenciaram a qualidade do óleo essencial. Neste experimento de adubação com orégano não houve variação nas condições climáticas, porém a variação ocorrida foi apenas nos níveis e tipos de adubação, sendo a variação dos compostos menor que a encontrada por D'Antuono et al. (2000).

**Tabela 1** - Composição química e porcentagem relativa da área do pico dos componentes do óleo essencial de folhas de *Origanum vulgare* L. cultivado sob diferentes doses de esterco bovino e avícola.

Constituinte	IK*	Fertilizante orgânico								
		Doses esterco gado (kg m <sup>-2</sup> )				Doses esterco avícola(kg m <sup>-2</sup> )				
		0	3	6	9	12	1,5	3	4,5	6
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1068	1,23	4,53	3,17	2,37	5,31	4,01	3,35	3,13	3,84
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1100	50,25	65,34	66,40	64,56	79,07	69,52	69,04	64,58	60,18
Terpinen-4-ol	1179	5,62	8,40	6,02	4,57	5,98	6,95	5,28	6,07	7,08
-Terpineol	1194	3,87	3,31	2,56	2,83	-	2,07	2,12	3,00	3,48
Acetato de linalila	1247	3,43	3,87	3,47	4,36	2,49	2,67	2,47	3,31	3,64
Timol	1289	35,6	19,06	18,38	14,55	7,06	14,78	13,29	19,91	20,54
-Cariofileno	1480	-	-	-	0,76	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Muuroloeno	1494	-	-	-	1,49	-	-	-	-	1,24

\* Índice de Kovats calculado através da série *n*-alcano em coluna capilar DB-5MS na ordem de eluição.

## CONCLUSÕES

A adubação orgânica com esterco bovino e avícola proporciona aumento de área foliar, teor e rendimento e óleo essencial.

Os compostos hidrato de *trans*-sabineno e timol são os compostos majoritários quando se utiliza adubação com esterco bovino e avícola.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 245p.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2003. 41 p.

BEZERRA, A. M. E.; NASCIMENTO JÚNIOR, F. T. do ; LEAL, F. R. ; CARNEIRO, J. G. De M. Rendimento de biomassa, óleo essencial, teores de fósforo e potássio de chambá em resposta à adubação orgânica e mineral. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 2, p. 124-129, jan. 2006.

BLANCO, M. C. S. G. Biomassa e mucilagem da tanchagem (*Plantago major* L.), em função das adubações orgânica, mineral e mista e da supressão das inflorescências, In: MING, L. C. (Ed.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu: UNESP, 1998, v. 2, p. 139-154.

BAYDAR, H.; SAGDIÇI, O.; OZKAN, G.; KARADOGAN, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**, Japan, v. 15, p. 169-172, Abr. 2004.

CASTRO, C. M.; ALMEIDA, D. L.; RIBEIRO, R. L. D.; CARVALHO, J. F. CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. **Descrição botânica, cultivo e uso de *Origanum majorana* L., manjerona e de *Origanum vulgare* L., orégano (LAMIACEAE)**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 15 p. (Circular Técnica, 22).

CHAVES, F. C. M. **Produção de biomassa, rendimento e com posição de óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) em função da adubação orgânica e épocas de corte**. 2002. 153 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P. M.; SOUZA, J. S.; SILVA, D. S.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, J. R. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 234-240, ago./set. 2005.

CRUZ, G. F. **Desenvolvimento de sistema de cultivo para hortelã -rasteira (*Mentha x villosa* Huds.)**. 1999. 35 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

DAFERERA, J. D.; ZIOGAS, N. B.; POLISSIOU, G. M. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on

*Penicillium digitatum*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n.6, p. 2576-2581, May 2003.

DAMATTO JUNIOR, E. R.; LEONEL, S.; PEDROSO, C. J. Adubação orgânica na produção e qualidade de frutos de maracujá -doce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jabotical, v. 27, n.1, p. 188-190, abr. 2005.

D'ANTUONO, L. F.; GALLETTI, G. C.; BOCCHINI, P. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a North Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy). **Annals of Botany**, London, v. 86, p. 471- 478, May 2000.

MAIA, S. S. S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial em Hyptis suaveolens (L.) Poit. (Lamiaceae)**. 2006. 105 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, Alemanha, v. 67, n. 5, p. 187-195, Aug. 2001.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV. 220p. 1998.

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

MING, L. C. Influência da adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *Lippia alba*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 49–52, 1994.

OLIVEIRA, A. P.; SILVA, V. R.; SANTOS, C.; ARAÚJO, S. J.; NASCIMENTO, J. T. Produção de coentro cultivado com esterco bovino e adubação mineral. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 477-479, set. 2002.

PAULETTI, G. F. **Influência ambiental e de parâmetros agronômicos na produção de poejo (*Cunila galioides* Benth.)**. 2005. 152 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SANTOS, E. A. M.; PÊGO, K. P. ; MARTINS, E. R. Efeitos da dose de adubo orgânico e de cobertura morta sobre o crescimento e produção de calêndula (*Calendula officinalis* L.) em Montes Claros, MG. In: SEMINÁRIO MINEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS, 7., 2001, Montes Claros. **Proceedings...** Montes Claro: UNIMONTES, 2001. p. 07.

SCHEFFER, M. C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. – mil-folhas. In: MING, L. C. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998, v. 1, p. 1-22.

SILVA, F. G.; PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, M. G; SALES, J. F.; MOL, D. J. S.; DIVINO, S. P. Influence of manure and fertilizer on *Baccharis trimera* (Less.) D. C. growth and essential oil yield. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Reino Unido, v. 13, n. 1, p. 1-11, Dec. 2007.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Orégano (*Origanum vulgare* L., (Lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 132, p. 40-45, jun. 2005.

SOUZA, L. A.; MONTANARI, R. M.; PIRES, M.; VICCINI, L. F.; LEITE, M. N. ; ALBUQUERQUE, J. C. R. Composição química e rendimento do óleo essencial nas folhas de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. BR. Ex Britt & Wilson cultivada sob padrões inorgânicos e orgânicos. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 5., 2002, Botucatu. **Proceedings...** Botucatu: UNEPS, 2002. p. 25.

TECCHIO, M. A.; DAMASCENO JUNIOR, E. R.; LEONEL, S.; PEDROSO, C. J. Distribuição do sistema radicular do maracujazeiro -doce cultivado com adubação química e orgânica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 324-326, ago. 2005.

UEDA, E. T.; MING, L. C. Influência dos macronutrientes N, P e K na produção de biomassa foliar e teor de óleo essencial em citronela de java - *Cymbopogon winterianus* – Poaceae. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: Sociedade de Olericultura do Brasil. 1998. 352 p.

## 5 ARTIGO II

### **Características anatômicas foliares de plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) submetidas a diferentes fontes e níveis de adubação orgânica**

Preparado de acordo com as normas da Revista Brasileira de Plantas Medicinais exceto as citações (NBR 10520) e as referências bibliográficas (NBR 6023)

#### **RESUMO**

Objetivou-se neste experimento avaliar a influência de níveis de adubos orgânicos bovino e avícola no teor de clorofila, características anatômicas e fisiológicas de folhas de plantas de orégano cultivadas em casa de vegetação. Foram conduzidos 2 experimentos separadamente sendo um com esterco bovino e o outro com esterco avícola. Plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) foram cultivadas em vasos de 10 L submetidas aos seguintes tratamentos: Experimento I: Esterco bovino: 1) Solo sem adubação (controle); 2) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 3) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 4) solo + 9,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 5) solo + 12,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; Experimento II –Esterco avícola: 1) solo sem adubação (Controle); 2) solo + 1,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 3) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 4) solo + 4,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola e 5) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola. Os experimentos foram conduzidos em delineamento blocos ao acaso com 4 repetições e a parcela experimental composta de 4 vasos. Observou-se que os níveis de esterco bovino e de avícola influenciaram positivamente o teor de clorofila e parâmetros anatômicos de folhas de orégano.

---

Orientador: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

**Palavras-chave:** *Origanum vulgare* L., planta condimentar, fertilização orgânica, anatomia foliar, clorofila.

## ABSTRACT

### **Anatomic foliar characteristics of wild marjoran (*Origanum vulgare* L.) under source and doses of organic manure**

This study was done to evaluate the effect of different doses of cattle and chicken manure in the chlorophyll content and anatomic foliar characteristics of *Origanum vulgare* cultivated in greenhouse. Two assays had been carried out separately being one with cattle manure and other with chicken manure. *Origanum vulgare* plants were cultivated in 10 L pots with the following treatments: Trial I: Cattle manure: 1) Soil without fertilization (control); 2) Soil + 3.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; 3) Soil + 6.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; 4) Soil + 9.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; 5) Soil + 12.0 kg m<sup>-2</sup> of cattle manure; Trial II: Chicken manure: 1) Soil without fertilization (Control); 2) Soil + 1.5 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure; 3) Soil + 3.0 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure; 4) Soil + 4.5 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure and 5) Soil + 6.0 kg m<sup>-2</sup> of chicken manure. Both trials were carried out in randomized blocks with 4 repetitions and 4 pots per experimental parcel. It was observed that the levels of organic fertilization influenced significantly the chlorophyll content and anatomic foliar characteristics of wild marjoram.

**Key-words:** *Origanum vulgare* L., spice plant, organic fertilization, leaf anatomy, chlorophylls.

---

Major professor: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## INTRODUÇÃO

O orégano (*Origanum vulgare* L.), família Lamiaceae, é um dos condimentos mais procurados na culinária brasileira para o preparo de carnes, ovos, peixes, panificação e frutos do mar. O óleo essencial também é utilizado na perfumaria (Castro & Ramos, 2003), bem como na indústria de alimentos visando controlar microrganismos causadores de deterioração e/ou causadores de doenças veiculadas por alimentos (Souza et al., 2005).

Os nutrientes minerais como nitrogênio, fósforo, potássio dentre outros disponíveis no solo através das fertilizações são essenciais para as plantas, pois entram na composição de moléculas orgânicas importantes como clorofila, proteínas, princípios ativos e também atuam muitas vezes alterando as dimensões do limbo foliar. Essas modificações podem resultar em maior atividade fotossintética pela planta.

Poucas foram as informações encontradas na literatura relatando a influência de fontes e níveis de adubação orgânica na modificação de parâmetros anatômicos tais como os trabalhos de Sridhar et al. (2007), e Chaves (2002). Trabalhos recentes de Sridhar et al. (2007) mostraram que há influência do acúmulo de nutrientes como zinco e cádmio na espessura de tecidos foliares de cevada, evidenciando que alguns nutrientes podem alterar parâmetros anatômicos de tecidos vegetais.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes fontes e níveis de adubação orgânica bem como diferentes níveis destes no teor de clorofila e espessura dos componentes anatômicos foliares de orégano cultivado em vasos em condições de casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram instalados e conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) situada nas coordenadas geográficas 21° 14' S e 45° 00 W, a 918 m de altitude. A exsicata de orégano está depositada no herbário Esal sob registro nº 22.156.

Mudas de *Origanum vulgare* L. foram obtidas a partir de estacas apicais provenientes de plantas matrizes do horto medicinal da UFLA enraizadas em bandejas de polipropileno expandido de 128 células.

Após 20 dias as mudas estavam aptas ao plantio e foram transplantadas para vasos de plásticos de 10 L contendo os tratamentos consistindo da aplicação de dois compostos orgânicos diferentes (bovino e avícola) dividido em dois experimentos. Os tratamentos foram: Experimento I – Esterco bovino: 1) Solo sem adubação (Testemunha); 2) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 3) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 4) solo + 9,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; 5) solo + 12,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino; Experimento II – Esterco avícola: 1) solo sem adubação (Testemunha); 2) solo + 1,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 3) solo + 3,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola; 4) solo + 4,5 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola e 5) solo + 6,0 kg m<sup>-2</sup> de esterco avícola.

As características químicas do solo e dos adubos orgânicos foram: pH em água = 7,3; P e K (mg dm<sup>-3</sup>) = 1,70 e 9,00; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, H+Al (cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>) = 5,70; 0,70; 0,00; 1,20; saturação de bases V (%) = 84,30; matéria orgânica (dag kg<sup>-1</sup>) = 3,00; Zn, Fe, Mn, Cu, B e S (mg dm<sup>-3</sup>) = 1,50; 31,10; 13,80; 1,10; 0,10 e 14,90. Os adubos orgânicos, por sua vez, também foram analisados gerando os seguintes valores para o esterco bovino: pH em água = 8,20; P, K (mg dm<sup>-3</sup>) = 619,00; 8033,00; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> e H+Al (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 6,90; 3,60; 0,00 e 0,89; SB e CTC (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) = 31,00; 31,90; V (%) = 97,20.

Para o esterco avícola: pH em água = 8,20; P, K ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) = 1080,50; 8563,00;  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e H+Al ( $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) = 2,40; 1,10; 0,00 e 0,77; SB e CTC ( $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) = 25,40; 26,20; V (%) = 97,10.

O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi o de blocos casualizados com quatro repetições e quatro plantas por parcela.

Aos 90 dias de cultivo os experimentos foram avaliados e amostras de folhas foram retiradas visando a quantificação do teor de clorofila e estudos dos componentes anatômicos como espessura das epidermes da face adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso, espessura do limbo foliar e densidade estomática.

Para as análises de clorofila foram retiradas ao acaso 20 folhas completamente expandidas do terceiro par de folhas de plantas de cada tratamento e posteriormente envolvidas em papel alumínio e colocadas em caixa de isopor com gelo para quantificação da clorofila. Em seguida as amostras foram levadas para o laboratório onde foi realizada a quantificação dos teores de clorofila. A determinação dos teores de clorofila foi feita com um espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B sendo realizada a leitura da absorbância dos extratos foliares a 663 nm e 645 nm para a quantificação das clorofilas a, b e total seguindo a metodologia de Arnon (1949).

Para os estudos anatômicos, amostras de 10 folhas completamente expandidas foram coletadas e fixadas em FAA<sub>70%</sub> (formol, ácido acético e álcool etílico) por 72 horas e posteriormente conservadas em álcool etílico 70% (Johansen, 1940). Foram analisadas seções paradérmicas e transversais.

As seções transversais foram feitas com micrótomo de mesa e em seguida corados com mistura de Azul de Astra (95%) e Safranina (5%) (Kraus e Arduim, 1997) e clarificados em solução de hipoclorito de sódio a 50% por 15 min. e posteriormente lavadas com água destilada por 15 minutos. As lâminas semi-permanentes foram montadas em glicerina 50%.

Os cortes paradérmicos foram feitos manualmente na região da epiderme com lâmina de aço. Os cortes foram corados com safranina (1%) e clarificados em solução de hipoclorito de sódio (50%) por 15 min e posteriormente lavadas por 15 min com água destilada. Foram confeccionadas lâminas semi-permanentes montadas em glicerina 50%.

As imagens obtidas foram fotomicrografadas em microscópio de luz Ken-a-Vision TT 18 acoplado à uma câmera fotográfica Canon Power Shot Modelo A 620. A contagem de estômatos foi feita por meio do software Sigma Scan Pro<sup>®</sup> 5. As fotomicrografias dos cortes transversais também foram analisadas no software Sigma Scan Pro<sup>®</sup> 5 onde foram feitas as medições dos tecidos.

Os componentes anatômicos observados nas seções transversais foram: espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso, epidermes adaxial e abaxial e limbo foliar. Nos cortes paradérmicos foram observadas a densidade estomática.

Os dados obtidos para os teores de clorofila e parâmetros anatômicos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas por meio de regressão polinomial (teste de F a 5%) utilizando-se o software Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira 2000).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Com relação aos teores de clorofila das plantas de orégano cultivadas sob diferentes níveis de adubação com esterco bovino e avícola, observou-se que houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) dos níveis de esterco para as clorofilas a, b e total (Figura 1 A e B). Maior teor de clorofila a ( $1,12 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtido na dosagem de  $1,75 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco bovino; para a clorofila b, maior teor ( $0,87 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtido na dosagem de  $3,4 \text{ kg m}^{-2}$  e para a clorofila total maior teor ( $1,99 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtido na dosagem de  $2,75 \text{ kg m}^{-2}$  (Figura 1 A). Com relação ao

esterco avícola, observou-se efeito semelhante (resposta quadrática) ao obtido para as dosagens de esterco bovino. Maior teor de clorofila a ( $2,32 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtido na dosagem de  $2,54 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco avícola (ponto de máxima da curva); para a clorofila b, maior teor ( $3,30 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtido em plantas cultivadas com  $2,94 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco, enquanto para clorofila total maior teor ( $5,21 \text{ mg g}^{-1}$ ) foi obtido na dosagem de  $2,52 \text{ kg m}^{-2}$ . Estes resultados evidenciam que a recomendação de  $2,52 \text{ kg m}^{-2}$  de esterco de avícola proporciona maiores teores de clorofila total sem causar queda significativa nos teores de clorofila “a” e “b” (Figura 1B).

Os maiores valores de clorofila obtidos em função de doses crescentes de adubação orgânica, até o ponto de máxima da curva, podem ser explicados pela maior disponibilidade de nutrientes como nitrogênio e magnésio na solução do solo, visto que estes nutrientes fazem parte da molécula de clorofila.

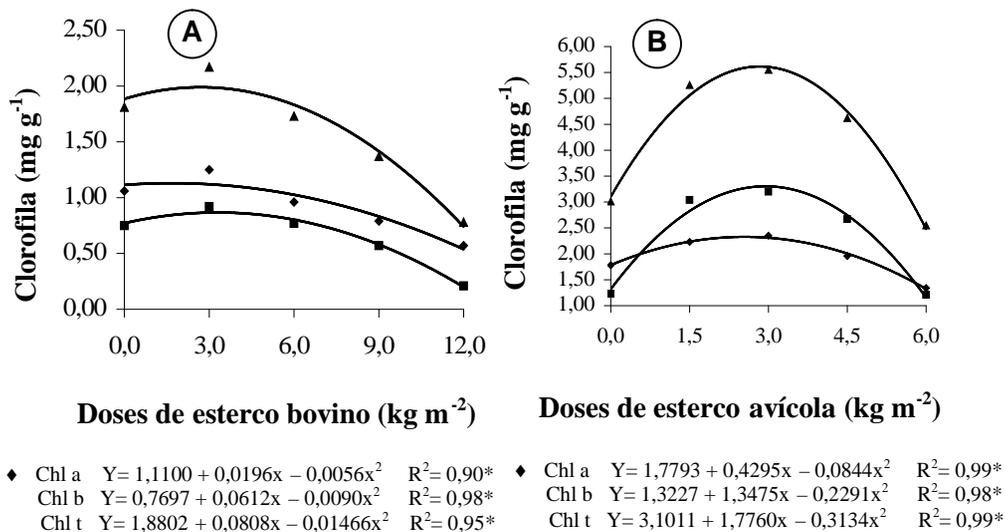


Figura 1: Teor de clorofila a, b e total extraído de plantas de *Origanum vulgare* em função de doses de esterco bovino (A) e esterco avícola (B).

\* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Em relação aos componentes anatômicos de folhas de orégano, observou-se que houve efeito significativo das doses de esterco bovino e avícola na espessura das epidermes, parênquimas e limbo foliar. O efeito da adubação manifestou-se de forma a reduzir a espessura das epidermes adaxial e abaxial e do limbo foliar (Tabela 1) ( $P < 0,05$ ).

Não houve efeito significativo das doses de esterco bovino na espessura do parênquima paliçádico; porém, os níveis de esterco avícola influenciaram significativamente na espessura do parênquima paliçádico. Com relação ao parênquima lacunoso observou-se que os níveis de adubação de esterco bovino e avícola influenciaram significativamente ( $P < 0,05$ ). À medida que se elevam as doses de esterco bovino e avícola ocorre tendência de decréscimo na espessura do parênquima lacunoso (Tabela 1).

Pesquisas de Sridhar et al. (2007), evidenciaram respostas semelhantes a este artigo sendo que para cevada (*Hordeum vulgare*) o acúmulo de zinco e cádmio nos tecidos da planta resultou em decréscimo nos espaços intercelulares, encolhimento das células epidérmicas e do parênquima paliçádico evidenciando que os nutrientes minerais podem alterar os componentes anatômicos dos tecidos.

TABELA 1: Espessura dos componentes anômicos epiderme adaxial epiderme abaxial, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso e espessura do limbo foliar de *Origanum vulgare* L. em função de doses de esterco bovino e avícola.

<b>Doses de esterco (kg m<sup>-2</sup>)</b>				
<b>Bovino</b>		<b>Avícola</b>		
<b>Epiderme adaxial (µm)</b>				
0,0	20,00	0,0	20,00	
3,0	19,50	1,5	18,47	
6,0	18,37	3,0	15,27	
9,0	18,35	4,5	13,07	
12,0	18,30	6,0	16,10	
Equação	$y = 18,8700 - 0,0511X$	$R^2 = 0,79$	$y = 20,6676 - 2,8101X$ $R^2 = 0,84^*$	
<b>Epiderme abaxial</b>				
0,0	14,70	0,0	14,70	
3,0	13,83	1,5	12,00	
6,0	11,80	3,0	11,83	
9,0	11,27	4,5	11,57	
12,0	10,57	6,0	11,27	
Equação	$y = 14,2047 - 0,7642X$	$R^2 = 0,81^*$	$y = 14,2505 - 1,5495X$ $R^2 = 0,81^*$	
<b>Parênquima paliçádico (µm)</b>				
0,0	49,33	0,0	49,33	
3,0	49,53	1,5	52,37	
6,0	49,73	3,0	42,77	
9,0	50,83	4,5	40,70	
12,0	51,27	6,0	35,27	
Equação	$y = 43,9066 + 0,6055X$	$R^2 = 0,78$	$y = 50,1333 - 2,0155X$ $R^2 = 0,75^*$	
<b>Parênquima lacunoso (µm)</b>				
0,0	77,80	0,0	76,40	
3,0	77,80	1,5	67,37	
6,0	76,40	3,0	64,73	
9,0	75,97	4,5	60,97	
12,0	73,73	6,0	47,07	
Equação	$y = 72,0067 - 0,3556X$	$R^2 = 0,86^*$	$y = 77,6829 - 13,3727X$ $R^2 = 0,78^*$	
<b>Limbo foliar (µm)</b>				
0,0	160,43	0,0	160,43	
3,0	160,66	1,5	150,21	
6,0	160,87	3,0	134,60	
9,0	159,60	4,5	126,31	
12,0	154,60	6,0	109,71	
Equação	$y = 151,2657 - 1,2727X$	$R^2 = 0,81^*$	$y = 165,0142 - 22,6368X$ $R^2 = 0,84^*$	

\* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Análises das secções paradérmicas de tecidos foliares permitiram observar a presença de estômatos do tipo anomocíticos na epiderme abaxial, tricomas tectores pluricelulares (Figura 2 A) e tricomas peltados (Figura 2 B). Neste tricomas possivelmente é que se encontram os óleos essenciais. Pesquisa pioneira de Werker et al. (1985), com estudos anatômicos de orégano evidenciaram que nesta espécie ocorrem vários tipos de tricomas glandulares secretores de óleos essenciais como os peltados e capitados e que todos eles secretam óleos essenciais. Os resultados obtidos neste trabalho concordam com Werker et al. (1985) quando realizaram as primeiras pesquisas de cortes anatômicos de orégano.

Secções transversais da região mediana das folhas adultas de *O. vulgare* evidenciaram a presença de epiderme unisseriada, coberta com uma fina camada de cutícula com a presença de tricomas tectores pluricelulares. Estes tricomas pluricelulares encontrada em alta densidade possivelmente é um mecanismo de defesa das folhas contra agentes de estresse como pragas, doença e excesso de luz.

Foi observado também que as células da epiderme adaxial são ligeiramente maiores que da epiderme abaxial independente dos níveis e tipos de adubação utilizados. O parênquima paliçádico desenvolveu células alongadas em apenas uma camada celular (unisseriada) e parênquima lacunoso com várias camadas de células (multiseriado) conforme pode ser evidenciado na Figura 2 C.

Resultados semelhantes foram obtidos por Martins (2002), que ao estudar anatomicamente as espécies *Mentha spicata* e *Mentha spicata* x *suaveolens* (Lamiaceae) observaram também a diferenciação de espessura entre as epidermes adaxial e abaxial, células alongadas do parênquima e tricomas peltados e capitados. Estes resultados concordam com o presente trabalho sendo estas respostas semelhantes encontradas nestas 3 espécies (*M. spicata*, *M. spicata* x *suaveolens* e *Origanum vulgare*) que pertencem a família Lamiaceae

Nos resultados obtidos em relação à densidade estomática em folhas de orégano observou-se que houve efeito significativo das doses de esterco bovino e avícola no número de estômatos por milímetro quadrado ( $P < 0,05$ ). A elevação das doses de esterco bovino e avícola tiveram efeitos semelhantes, ou seja, à medida que elevaram-se as doses de esterco houve tendência linear de redução do número de estômatos  $\text{mm}^{-2}$  na epiderme adaxial. Já para epiderme abaxial houve tendência quadrática das doses de esterco bovino e avícola no número de estômatos  $\text{mm}^{-2}$  (Tabela 2). As folhas de orégano caracterizam-se por serem anfihipoestomática por apresentar estômatos nas duas faces do limbo foliar, porém com maior densidade na face abaxial. Esta observação é semelhante à encontrada por Toledo et al. (2004), onde este autor observou que em *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae) ocorre a formação de estômatos nas duas faces foliares com predominância de estômatos na face abaxial.

Os diâmetros polares (DP) e equatorial (DE) dos estômatos não foram influenciadas pelos níveis de adubação ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

O número de estômatos  $\text{mm}^{-2}$  varia com a espécie, sendo observado desde 1 estômato em *Bacopa salmanni* (Bona & Alquini, 1999) até algumas centenas como em *Plinia martinelli* (Barros et al., 1996), evidenciando que no orégano a faixa de densidade de estômatos encontra-se em centenas de estômatos  $\text{mm}^{-2}$ .

Nas espécies vegetais os estômatos nas folhas variam em forma, tamanho e quantidade em função de fatores abióticos o que acarreta variações nas condições fotossintéticas (Larcher, 1986). Assim, observou-se neste trabalho que na epiderme adaxial houve redução linear do número de estômatos  $\text{mm}^{-2}$  à medida que se elevam as dosagens de esterco bovino e avícola; porém, na epiderme abaxial, que concentra geralmente maior densidade estomática, a resposta foi quadrática, ou seja, à medida que elevam-se as dosagens de esterco orgânico ocorreu aumento da densidade até o ponto de máxima da curva.

TABELA 2: Densidade estomática (nº de estômatos mm<sup>-2</sup>), diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) de *Origanum vulgare* em função de doses de esterco bovino e avícola.

		Doses de esterco (kg m <sup>-2</sup> )	
Bovino		Avícola	
Epiderme adaxial (nº estômatos/mm <sup>2</sup> )			
0,0	222	0,0	236
3,0	177	1,5	232
6,0	104	3,0	222
9,0	147	4,5	59
12,0	74	6,0	54
Equação	$y = 210,1600 - 10,8844 X$	R <sup>2</sup> =	$y = 268,3700 - 17,9200 X$
	0,81*		0,84*
Epiderme abaxial (nº estômatos/mm <sup>2</sup> )			
0,0	222	0,0	236
3,0	306	1,5	311
6,0	308	3,0	375
9,0	317	4,5	340
12,0	285	6,0	257
Equação	$y = 261,4876 - 14,9339X + 2,2212X^2$	R <sup>2</sup> =	$y = 230,8800 + 41,7689X - 3,2889X^2$
	0,82*		0,97*
Diâmetro polar (DP) de estômatos (mm) <sup>a</sup>			
0,0	22,60	0,0	22,83
3,0	24,45	1,5	23,85
6,0	24,65	3,0	24,93
9,0	24,28	4,5	24,53
12,0	23,78	6,0	25,23
Equação	$y = 22,7609 + 0,5749X - 0,0418X^2$	R <sup>2</sup> =	$y = 23,1750 + 0,3650X$
	0,88		0,82
Diâmetro equatorial (DE) de estômatos (mm) <sup>a</sup>			
0,0	16,32	0,0	16,50
3,0	18,25	1,5	19,22
6,0	17,38	3,0	19,55
9,0	18,08	4,5	18,95
12,0	18,05	6,0	19,10
Equação	$y = 16,9567 + 0,1100X$	R <sup>2</sup> =	$y = 16,8121 + 1,4855X - 0,1929X^2$
	0,89		0,84

<sup>a</sup> Refere-se a medições feitas na epiderme abaxial.

\* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Os estômatos são estruturas importantes para a produção vegetal, pois representam a porta de entrada e escoamento dos gases para a fotossíntese, processo primordial relacionado à produtividade vegetal (Silva et al. , 2005),

evidenciando assim que os teores de clorofila e densidade estomática encontradas neste trabalho tiveram tendência de resposta semelhante em função das dosagens de esterco orgânico (Figura 1 e Tabela 2).

## CONCLUSÃO

A adubação com esterco bovino e avícola influencia significativamente os teores de clorofila e parâmetros anatômicos como espessura das epidermes adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso e índice estomático.

O diâmetro polar e equatorial de estômatos não é regulado pela adubação orgânica.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, CAPES E CNPQ pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsas de estudos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloplasts : polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.

BARROS, C. F.; CALLADO, C. H.; CUNHA, M. D.; COSTA, C. G.; PUGLIALLI, H. R. L. MARQUETE, O.; MACHADO, R. D. A anatomia ecológica e micromorfologia foliar de espécies de floresta montana na Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In: LIMA, H. C.; GUEDES-BRUNI, R. R. (Ed.). **Serra de Macaé de Cima: diversidade florística e conservação em Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 1996. 180 p.

BONA, C.; ALQUINI, Y. Morfoanatomia dos tricomas foliares de *Begônia setosa* (Begoniaceae), *Bacopa salsmanni* e *Solanum fastigatum*. **Arquivo de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 38, n. 4, p. 1295- 1302, 1999.

CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. **Descrição botânica, cultivo e uso de *Origanum majorana* L., manjerona e de *Origanum vulgare* L., orégano (Lamiaceae)**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 15 p. (Circular Técnica, 22).

CHAVES, A. L. F.; SILVA, E. A. M.; AZEVEDO, A. A.; CANO, M. A. O. ; MATSUOKA, K. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre a estrutura foliar de *Panicum maximum* Jacq. (colonião) e *Chloris gayana* Kunth. (capim-rhodes) – Poaceae. **Acta Botanica Brasileira**, São Paulo, v. 16, n. 16, p. 395-406, 2002.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos:UFSCar, 2000. p. 255-258.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

KRAUS, J. E. ; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: EPU, 1986. 526 p.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 220 p.

MARTINS, M. B. G. Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata* x *suaveolens* (Lamiaceae). **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 3, p. 205-218, set./dez. 2002.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 183-194, jan. /mar. 2005.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Orégano (*Origanum vulgare* L., (Lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 132, p. 40-45, jun. 2005.

SOUZA, L. A.; MONTANARI, R. M.; PIRES, M.; VICCINI, L. F.; LEITE, M. N. ; ALBUQUERQUE, J. C. R. Composição química e rendimento do óleo essencial nas folhas de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. BR. Ex Britt & Wilson cultivada sob padrões inorgânicos e orgânicos. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 5., 2002, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNEPS, 2002. p. 25.

SRIDHAR, B. M.; HAN, F. X.; DIEHL, S. V.; MONTS, D. L.; SU, Y. Effects of Zn and Cd accumulation on structural and physiological characteristics of barley plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, n. 1, p. 15-22, jan./mar. 2007.

TOLEDO, M. G. T.; ALQUINI, Y.; NAKASHIMA, T. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). **Revista Brasileira Ciências Farmacêutica**, São Paulo, v. 40, n.4, p. 487-493, out./dez. 2004.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. **Annals of Botany**, Austrália, v. 55, p. 793-801, Jan./Mar. 1985.

## 6 ARTIGO III

### **Crescimento de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de folhas de orégano (*Origanum vulgare* L.) sob malhas coloridas.**

Preparado de acordo com as normas da Revista: Acta Scientiarum exceto as citações (NBR 10520) e as referências bibliográficas (NBR 6023).

#### **RESUMO**

Objetivou-se estudar a influência de malhas coloridas no crescimento de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de folhas de orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivadas sob telas coloridas Chromatinet. O experimento foi conduzido em vasos plásticos de 10 L contendo substrato na proporção de 3 partes de terra virgem (encosta), 2 partes de esterco bovino e 1 parte de areia com 1 planta por vaso. Os vasos foram distribuídos no delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 repetições e 4 vasos por repetição de acordo com os seguintes tratamentos: 1) Chromatinet preto; 2) Chromatinet vermelho; 3) Chromatinet azul e 4) Pleno sol. Observou-se tela azul houve menor incremento de biomassa seca total em relação aos demais ambientes. A área foliar foi maior nas telas coloridas que no pleno sol. O rendimento de óleo não foi regulado pelo ambiente de cultivo. As telas vermelha e preta são promissoras quando o objetivo for a extração dos compostos hidrato de *cis*-sabineno e hidrato de *trans*-sabineno (tela vermelha) e timol (tela preta).

**Palavras-chave:** *Origanum vulgare* L., qualidade de luz, biomassa, óleo essencial.

---

Orientador: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## ABSTRACT

### **Growth and development of *Origanum vulgare* L. under color shade nets (Chromatinet).**

This work aimed to verify the influence of color shade nets (Chromatinet) in the growth, content, yield and quality of essential oil in wild marjoran plants (*Origanum vulgare* L.). The treatment was carried out in 10 L pots containing 3 parts of soil, 2 parts of cattle manure and 1 part of sand mixture with 1 plant per pot. The pots were distributed completely randomized design with 6 repetitions and 4 pots per repetition as the following treatments: 1) Black chromatinet; 2) Red shade net; 3) Blue shade net and 4) Full sunlight. It was observed that the color shade nets were not influenced in total dry biomass and foliar area, but the full sunlight decrease these parameters. The red and black shade nets are potential to extracted *cis*-sabinene hydrate, *trans*-sabinene hydrate de (shade red) and thymol (shade black).

**Key words:** *Origanum vulgare* L., light quality, biomass, essential oil.

---

Major professor: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## INTRODUÇÃO

Conhecido popularmente por orégano, manjerona -silvestre e manjerona rasteira *Origanum vulgare* L., família Lamiaceae, esta espécie é uma planta utilizada na culinária mediterrânea, brasileira e americana. Com esta erva tempera-se variados pratos além de seu óleo essencial ser utilizado no controle de fungos e bactérias em ambientes hospitalares.

Dentre as variáveis que afetam o crescimento das plantas como os genéticos, os edáficos e os fitotécnicos, a qualidade da luz também afeta consideravelmente o crescimento e o desenvolvimento de plantas. A quantidade da luz que chega ao cultivo é geralmente alta. As malhas coloridas manipulam este espectro de luz solar incidente fragmentando a luz direta e convertendo -a em luz difusa. Por consequência, a luz difusa cobre melhor as plantas e estimula a fotossíntese. A importância do conhecimento, de que as alterações na qualidade da luz ocorrem nas plantas está relacionada com o fato do desenvolvimento das plantas ser sensível e responsiva às variações ambientais (Arim & Deng, 1996), sendo que a intensidade e composição da luz incidente, influencia as plantas na velocidade de crescimento celular, na acumulação de pigmentação e na diferenciação dos plastídeos (Almeida & Mondstock, 1998).

As malhas coloridas constituem um elemento novo no cultivo protegido que objetiva combinar a proteção física, juntamente com a filtragem diferenciada da radiação solar, para promover respostas fisiológicas desejáveis, reguladas pela luz. Hoje existem no mercado malhas coloridas de variadas cores como preta, azul, vermelha, cinza, pérola dentre outras sendo utilizadas para cultivo de árvores frutíferas (Shahak et al., 2004), hortaliças, plantas ornamentais entre outras culturas. Oren-Shamir et al. (2001), relatam que o uso comercial de telas coloridas pode promover a redução do uso de hormônio ou

até mesmo maximizar sua atividade devido as telas terem a capacidade de manipular o espectro de luz.

A análise de crescimento ainda é o meio mais simples e preciso para inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos para o crescimento vegetal, sendo útil no estudo de variações entre plantas geneticamente diferentes ou sob diferentes condições ambientais. Mediante a análise de crescimento, é possível conhecer a cinética de produção de biomassa das plantas, sua distribuição e eficiência ao longo da ontogenia (Benincasa, 1988).

Os estudos com cultivo de orégano ainda são escassos no Brasil visto que não foram encontradas pesquisas relatando o cultivo de esta espécie sob influência de malhas coloridas na alteração do espectro de luz incidente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de plantas, teor, rendimento e qualidade de óleo essencial de orégano sob influência das malhas coloridas preta, vermelha e azul e compará-las com o ambiente pleno sol.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido utilizando telas coloridas Chromatinet instaladas no setor de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) situada nas coordenadas geográficas 21° 14' S e 45° 00' W, a 918 m de altitude. O clima da região, segundo Köppen, é do tipo CWa, com características CWb, com duas estações definidas: quente e chuvosa, de outubro a março e, amena e seca, de abril a setembro. A exsicata de orégano está depositada no herbário Esal sob registro nº 22.156.

As mudas de orégano (*Origanum vulgare* L.) (obtidas de estacas apicais) com 20 dias de idade (6 cm de altura) foram transplantadas para vasos de plástico com capacidade de 10 L contendo substrato formulado com mistura de terra virgem (encosta), esterco bovino e areia na proporção de 3:2:1

respectivamente. Foi transplantada 1 planta por vaso mantendo distanciamento de 30 cm entre elas (distância entre o ponto médio dos vasos).

Em seguida os vasos foram colocados sob ambiente coberto por malhas coloridas Chromatinet com sombreamento de 50% de acordo com os tratamentos: 1) Chromatinet preto; 2) Chromatinet vermelho; 3) Chromatinet azul e 4) Testemunha (pleno sol).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis repetições e quatro plantas por parcela.

Os tratos culturais como controle de plantas daninhas, irrigação, pragas e doenças foram realizados ao longo do ciclo. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente. O turno de rega da irrigação foi de 2 dias. Não houve infecção das plantas com patógenos e ataques de pragas.

As avaliações foram feitas ao final de 90 dias determinado-se os seguintes parâmetros: área foliar (AF), medida com auxílio de um Medidor Eletrônico de Área Foliar, Modelo LI – 3100-LICOR, a partir da qual obtiveram-se os parâmetros fisiológicos de razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) e razão de peso foliar (RPF), de acordo com Benincasa (2003), teor, rendimento e qualidade de óleo essencial.

Após a colheita, cada planta foi particionada em raiz, caule, folha e inflorescência para secagem até peso constante para obtenção da biomassa seca, determinando-se também a relação raiz: parte aérea (R : PA).

A obtenção do óleo essencial das folhas foi realizada pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger (Clevenger, 1928), utilizando-se 40g de matéria seca em 500 mL de água destilada por 1,5 h. Posteriormente, realizou-se a partição líquido-líquido, em funil de separação, onde foram feitas 3 partições (20 minutos cada) de 30 mL de diclorometano ao hidrolato para a purificação do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso para retirar possíveis resíduos de umidade. As amostras

foram deixadas por um período de 24 horas em repouso, onde posteriormente a solução foi filtrada e armazenada à temperatura ambiente em frascos de vidro âmbar parcialmente tampados para permitir a evaporação do restante do solvente. Os parâmetros determinados na quantificação do óleo essencial foram o teor e o rendimento na biomassa seca das folhas (BSF). O cálculo do teor de óleo foi obtido diretamente como porcentagem ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  BSF) e o rendimento de óleo calculado através da seguinte equação: ( $\text{Teor} \times \text{BSF}$ ), cuja unidade do rendimento foi expressa em  $\text{g planta}^{-1}$ .

A análise da composição do óleo essencial foi realizada por meio de uma amostra composta juntando-se os óleos essenciais das seis repetições de cada tratamento. As temperaturas do injetor e do detector foram  $250^\circ\text{C}$  e  $280^\circ\text{C}$ , respectivamente. As amostras foram analisadas utilizando-se cromatografia gasosa interfaceada com espectrometria de massas (CG/EM) em equipamento Shimadzu QP5050A utilizando coluna capilar DB-5 ( $30\text{m} \times 0,25\text{mm} \times 0,25\mu\text{m}$ ) e detector operando em impacto eletrônico a 70 eV. O gás de arraste utilizado foi o hélio (fluxo 1 mL/min) e a seguinte programação:  $80^\circ\text{C}$  (1 min),  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $180^\circ\text{C}$ ,  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $300^\circ\text{C}$  (3 min), tipo de injeção split 1:100. Os cálculos dos índices de retenção foram feitos através da co-injeção de *n*-alcanos, na faixa de *n*C9-*n*C18. A identificação dos constituintes do óleo essencial foi efetuada com base nos índices de retenção (Adams, 1995) e pela comparação do espectro de massa com o banco de dados da biblioteca NIST21 e NIST107. A concentração dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do CG e arranjado em ordem de eluição.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o software Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que houve efeito significativo das telas coloridas na biomassa seca total (BST), biomassa seca de caule (BSC) e biomassa seca de raiz (BSR) ( $P < 0,05$ ) (Figura 1).

As variáveis biomassa seca total (BST) e a biomassa seca de raiz (BSR) foram influenciadas pelo ambiente de cultivo, sendo que entre as telas coloridas vermelha e preta e também a pleno sol não houve diferença significativa. Porém, a BST e BSR foram reduzidas ao cultivar plantas de orégano sob tela azul.

A BSC foi influenciada pelo ambiente de cultivo sendo que entre as telas vermelha e preta não houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ). Em relação a BSI, observou-se que a planta de orégano tendeu a florescer mais no ambiente de cultivo a pleno sol, sendo que a BSI a pleno sol foi significativamente superior as plantas cultivadas sob telas coloridas (Figura 1). A radiação solar intensa induziu as plantas a florescerem mais intensamente e preco cemente em relação às plantas cultivadas sob telas coloridas devido provavelmente a um estresse da radiação solar plena.

Entre as telas coloridas, embora estatisticamente não houve diferenças para a BSI, em valores absolutos houve tendência de maior produção de inflorescências nas plantas cultivadas sob malha vermelha, sendo que esta tendência foi também observada por Leite et al. (2004) no cultivo de orquídeas evidenciando que a tela vermelha induz o florescimento nestas plantas.

Pesquisa de Gonçalves (2000), para a espécie *Ocimum selloi* corroboram com o presente trabalho, onde ele observou que nas plantas cultivadas a pleno sol houve maior BSI e em tempo menor que sobre outros níveis de sombreamento. Trabalhos de Meirelles (2006), com a palmeira ráfia, descrevem que as telas coloridas (qualidade espectral) não influenciaram no crescimento

desta palmeira, sendo que no presente trabalho houve efeito positivo das malhas vermelha e preta na BST.

Almeida & Mundstock (2001) relata que apesar de não ter sido avaliada especificamente a taxa fotossintética em plantas de trigo cultivadas sob diferentes telas coloridas e densidades de plantio, foi possível verificar através do acúmulo de massa seca que as diferenças entre os filtros não foram devido à alteração na fotossíntese, porque o filtro vermelho teoricamente teria um efeito maior sobre a taxa fotossintética, já que ele diminui drasticamente a radiação na faixa do azul. Este mesmo autor afirma que a melhoria da qualidade da luz, obtida pela adição de luz vermelha, proporcionou maior emissão de afilhos e distribuição mais equilibrada de massa seca entre afilhos e o colmo principal; já a diminuição da qualidade da luz, obtida pela adição de luz vermelha extrema ou uso de filtro verde na entrelinha, determinou priorização no acúmulo de massa seca no colmo principal, o que resultou em menor emissão de afilhos e afilhos de menor massa seca. Já neste artigo observou-se que a BST foi prejudicada pela luz azul em relação as demais telas levando a menor BST, BSC e BSR.

Para Kinoshita et al. (2003), a luz azul é responsável pela manutenção de um potencial elétrico nas membranas das células guardas forçando o estômato a abrir; assim, com a abertura dos estômatos maior quantidade de CO<sub>2</sub> entra nas células para a fotossíntese resultando em maior produção de fitoassimilados e, portanto maior biomassa. Esta resposta parece variar com a espécie visto que neste trabalho sob luz azul foi obtido menor BST (Figura 1). Em pesquisas de Leite et al. (2004), também foi relatado que a luz azul foi prejudicial ao cultivo de alface com produtividade (peso fresco/planta) menor em relação às telas termorefletora Aluminet, tela termoconversora vermelha e ambiente pleno sol. Este mesmo autor atribuiu o fato ao tipo de luz incidente e não ao sombreamento. Assim, evidencia-se que a resposta à luz azul depende da espécie.

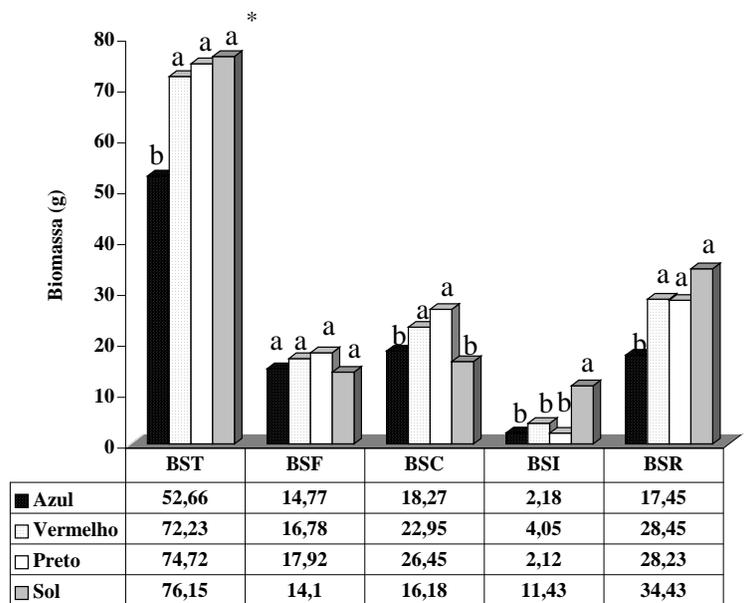


Figura 1: Biomassa seca total (BST), biomassa seca de folhas (BSF), biomassa seca de caule (BSC), biomassa seca de inflorescência (BSI) e biomassa seca de raiz (BSR) de plantas de orégano cultivadas sob telas coloridas Chromatinet e pleno sol.

\* As médias seguidas de mesma letra para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Em relação as análises foliares observou-se que houve efeito significativo do ambiente de cultivo área foliar (AF), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF), razão de peso foliar (RPF) e peso foliar específico (PFE) (Figura 2). Quando se cultivou sob pleno sol observou-se redução da AF e AFE. Porém, para o PEF ocorre u maior incremento quando as plantas foram culticadas à pleno sol (Figura 2). As plantas cultivadas em malhas azul, vermelho e preto obtiveram uma área foliar superior de 89%, 99% e 125% respectivamente do que as plantas sob sol (Figura 2).

Pesquisa de Kasperbauer (1995), evidenciou que sob luz vermelha a planta pode diferenciar-se através da expansão do limbo foliar para obter maior vantagem competitiva. No presente trabalho este comportamento desencadeado

pela luz vermelha não variou entre as telas chromatinet visto que entre as telas vermelha, azul e preta não houve resposta significativa da AF e AFE. Trabalhos de Oliveira (2006) evidenciaram que para *Artemisia vulgaris* houve menor área foliar nas plantas cultivadas sob tela azul em relação às telas preta, vermelha e ambiente pleno sol. No entanto este trabalho evidenciou respostas contrárias onde no pleno sol é que se obteve menor AF.

Já a razão de área foliar (RAF) foi influenciada pelo ambiente de cultivo sendo que maior RAF foi obtida em plantas cultivadas sob tela azul e menor RAF foi obtido em plantas conduzidas em pleno sol.

Estes resultados estão de acordo com Benincasa (1988), que relata que quanto maior a intensidade menor a RAF, ou seja, menor área foliar é necessária para produzir 1 g de matéria seca. A maior razão de peso foliar (RPF) foi obtida em plantas cultivadas sob tela azul em comparação ao ambiente pleno sol evidenciando que maior retenção de fotoassimilados nas folhas foi obtido em plantas cultivadas sob tela azul em relação ao pleno sol. Nas malhas vermelha e preta foram obtidos valores intermediários para RPF. A planta de orégano quando cultivada a pleno sol mostrou maior exportação de nutrientes (80%) da folha para as demais partes da planta (RPF=0,20) (Figura 2) em relação às telas coloridas. Pesquisas de Almeida et al. (2005) evidenciaram maior alocação de biomassa para as raízes em plantas de *Acacia mangium* cultivadas em pleno sol em relação às plantas de sombra, confirmando os resultados deste trabalho.

Maior espessamento do limbo foliar, representado pelo peso específico foliar (PEF) foi obtido em plantas cultivadas em pleno sol ( $1,02 \text{ g dm}^{-2}$ ) em relação às telas coloridas. Plantas cultivadas em pleno sol desenvolvem limbos foliares com maior espessura em relação às plantas cultivadas em locais com diferentes níveis de sombreamento (Taiz & Zeiger, 2004). Este maior espessamento foliar é um mecanismo de proteção da planta contra as altas irradiações. Assim, maior PEF resulta em folhas mais espessas e maior

produtividade de biomassa. Porém, as folhas não foram vistosas no ambiente pleno sol em relação às folhas sob telas coloridas.

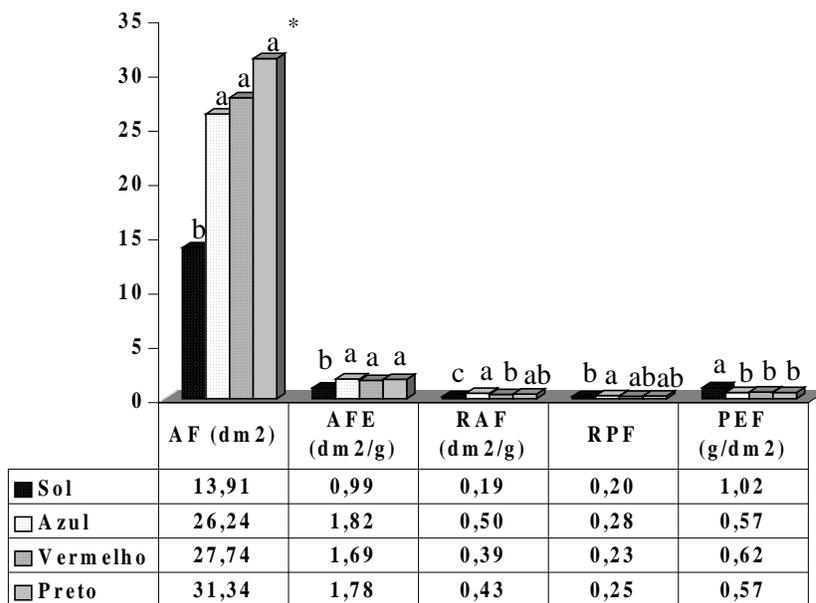


Figura 2: Área foliar (AF), área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF) e razão de peso foliar (RPF) de folhas de orégano cultivadas sob telas coloridas (Chromatinet) e pleno sol.

\* As médias seguidas de mesma para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Em relação a quantificação do óleo essencial de orégano observou-se que o teor foi afetado significativamente pelo ambiente de cultivo ( $P < 0,05$ ), sendo que na tela chromatinet preta obteve-se menor teor de óleo. No entanto, quando comparou-se o rendimento de óleo essencial em gramas por planta observou-se que não foi afetado pelo ambiente de cultivo (Figura 3). A densidade do óleo em  $\text{g cm}^{-3}$  também não foi afetada pelo ambiente de cultivo.

Esses resultados evidenciam que as telas coloridas não alteram a densidade e rendimento de óleo de orégano.

A quantificação do óleo essencial varia com a espécie e condições de cultivo. Pesquisas de Oliveira (2006) mostraram que para *Artemisia vulgaris* L. as plantas cultivadas em pleno sol tiveram maior teor de óleo essencial em relação àquelas cultivadas sob telas coloridas. Neste trabalho somente na tela preta houve menor teor de óleo essencial ( $P < 0,05$ ). Em contrapartida, Sales (2006) afirma que para a espécie *Hyptis marruboides* (Lamiaceae) o teor de óleo essencial mostrou-se insensível aos níveis de irradiância.

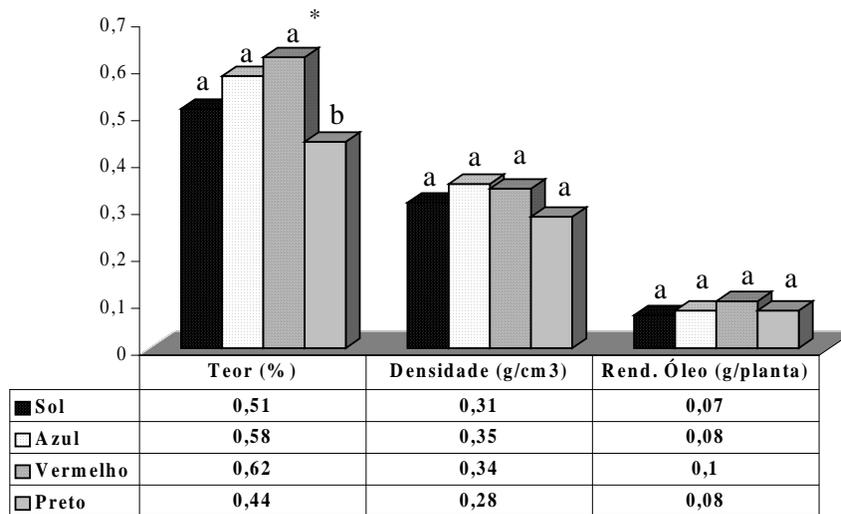


Figura 3: Teor, densidade e rendimento de óleo essencial de folhas de orégano cultivadas sob telas coloridas (Chromatinet) e pleno sol.

\* As médias seguidas de mesma para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

A análise qualitativa do óleo essencial evidenciou a presença de vários compostos químicos sendo que alguns como Hidrato de *trans*-sabineno, Terpinen-4-ol e o Timol foram considerados os majoritários (Tabela 1). Observa-se um maior número de compostos (14) encontrados nas plantas

cultivadas sob pleno sol em relação às demais telas onde este fato pode ser atribuído a maior proteção das plantas sob maior irradiância.

Os compostos encontrados no óleo essencial de *O. vulgare* variaram conforme o tipo de tela colorida e o ambiente pleno sol. O *trans*-sabineno teve maior síntese em plantas de orégano cultivadas sob tela vermelha. O menor valor deste composto foi encontrado em plantas cultivadas em pleno sol. Resultado semelhante foi obtido para o composto hidrato de *cis*-sabineno. Já para o timol, maior síntese ocorreu nas plantas cultivadas sob tela preta, o que evidencia o efeito das condições de cultivo na composição química do óleo essencial de orégano. Assim, se o cultivo visa extrair óleo para obtenção de timol recomenda-se o cultivo de orégano sob tela preta. Porém se for para extração de hidrato de *cis*-sabineno e hidrato de *trans*-sabineno recomenda-se a utilização de tela vermelha.

Pesquisas de D'Antuono et al. (2000) revelaram a ocorrência de 64 substâncias químicas em *O. vulgare* sendo que os compostos apresentados neste trabalho estão de acordo com os encontrados por este autor. Assim, conforme as condições de cultivo a qualidade do óleo essencial de folhas de orégano pode variar levando a síntese de diversos compostos químicos como timol, sabineno, terpineol, cariofileno, carvacrol (Marino et al., 2001; Daferera et al., 2003)

Gonçalves (2000) relatou que para a espécie *Ocimum selloi* (Lamiaceae) não houve efeito dos níveis de irradiância testados na variação dos teores de estragol e anetol (majoritários). Em *H. marrubioides*, Sales (2006) observou que a qualidade do óleo essencial não depende dos níveis de irradiância. Estes trabalhos evidenciam respostas contrárias ao deste artigo, sendo que os compostos (hidrato de *cis* sabineno e hidrato de *trans* sabineno) que são os compostos majoritários do orégano tiveram maior síntese em plantas sob tela vermelha e menor síntese em plantas a pleno sol. Já o composto timol teve maior síntese sob malha neutra (preta).

Observou-se com os parâmetros fisiológicos estudados que a planta de orégano tem a capacidade de se adaptar conforme o ambiente luminoso . Sob luz plena, as folhas de orégano desenvolveram-se pequenas, espessas e sem brilho. No entanto, tem-se também que considerar o aspecto visual do produto que são as folhas e os compostos do óleo essencial. Em relação a isto, plantas de orégano cultivadas sob as malhas coloridas desenvolveram melhor aspecto visual (folhas maiores e verde escura) que folhas a pleno sol. Na tela azul é que obteve-se maior variação de compostos químicos.

**Tabela 1** - Composição química e porcentagem relativa da área do pico dos componentes do óleo essencial de folhas de *Origanum vulgare* cultivado sob ambiente pleno sol e telas coloridas chromatinet.

Constituinte químico (%)	IK*	Ambiente de cultivo			
		Sol	Chr. Azul	Chr. Vermelho	Chr. Preto
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1070	3,61	3,32	6,18	2,57
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1098	36,81	51,87	60,18	44,22
Terpinen-4-ol	1177	15,08	9,37	11,88	9,23
-Terpineol	1189	5,74	3,98	3,58	4,36
Acetato de linalila	1257	5,00	4,48	3,52	5,19
Timol	1290	23,19	23,54	12,93	27,67
$\beta$ -Cariofileno	1419	1,70	1,22	-	1,48
$\gamma$ -Muuroleno	1480	2,04	1,75	-	2,39
p-Cimeno	1025	-	-	1,08	-
Éter metil timol	1235	1,01	0,46	-	0,39
Éter metil carvacrol	1245	0,87	-	-	0,45
Carvacrol	1299	0,48	-	-	-
Acetato de geranila	1376	0,17	-	-	-
Biciclogermacreno	1493	1,31	-	-	1,11
Espatulenol	1575	0,83	-	-	-

Chr – Chromatinet; IK – \* Índice de Kovats calculado através da série *n*-alcano em coluna capilar DB-5MS na ordem de eluição.

## CONCLUSÃO

Maior produção de biomassa seca de plantas pode ser obtida com o cultivo de plantas em pleno sol, sendo dispensado o uso de telas coloridas.

Para obtenção de folhas maiores e vistosas recomenda-se o cultivo de orégano em nas telas coloridas azul, vermelha ou preta.

Não há necessidade do uso de telas coloridas para maximizar a produção de óleo essencial.

Para a extração de hidrato de *trans*-sabineno recomenda-se o cultivo de plantas sob tela vermelha. Caso seja a obtenção de timol, recomenda-se o cultivo sob tela preta.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudos. E a Polysack pelas malhas cedidas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 245 p.

ALMEIDA, M. L.; MONDSTOCK, C. M. A qualidade da luz afeta o afilhamento em plantas de trigo, quando cultivadas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 401-408, maio/jun. 2001.

ALMEIDA, M. L.; MONDSTOCK, C. M. O afilhamento em comunidades de cereais de estação fria é afetado pela qualidade de luz? **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 511-519, jul./set. 1998.

ALMEIDA, S. M. Z.; SOARES, A. M.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; GAJEGO, E. B. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas

jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento . **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 62-68, jan./fev. 2005.

ARIM, A.; DENG, X. W. Light control of seedling development. **Annual Review Plant Physiology Molecular Biology** . Stanford, v. 47, p. 215-243, June 1996.

BAYDAR, H.; SAGDIÇI, O.; OZKAN, G.; KARADOĞAN, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**, Japan, v. 15, p. 169-172, Apr. 2004.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas** : noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 42 p.

CLEVINGER, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. **Journal of American Pharmacological Association** , London, v. 17, n. 5, p. 345-349, May 1928.

DAFERERA, J. D.; ZIOGAS, N. B.; POLISSIOU, G. M. GC -MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n.6, p. 2576-2581, May 2003.

D'ANTUONO, L. F.; GALLETTI, G. C.; BOCCHINI, P. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a North Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy). **Annals of Botany**, London, v. 86, p. 471- 478, May 2000.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

KASPERBAUER, M. J. Light and plant development. In: WILKINSON, R. E. (Ed.). **Plant environment interactions**. New York: M. Dekker, 1995. p. 83-123.

KINOSHITA, T.; EMI, T.; TOMINAGA, M.; SAKAMOTO, K.; SHIGENAGA, A.; DOI, M.; SHIMAZAKI, K. Blue light and phosphorylation dependent binding of a 14-3-3 protein to phototropins in stomatal guard cells of broad bean. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 133, n.6, p. 1453-1463, Oct. 2003.

LEITE, C. A.; FAGNANI, M. A.; TAMAOKA, F.; SILVA, I. J. O. **Viabilidade do uso de telados para a produção de alface em larga escala**. 2004. Disponível em: <[www.polisack.com/artigos](http://www.polisack.com/artigos)>. Acesso em: 08 jan. 2008.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, Japan, v. 67, n. 3, p. 187-195, Aug. 2001.

MEIRELLES, A. J. A. **Desenvolvimento de mudas de palmeira-ráfia cultivada sob diferentes sombreamentos e nutrição foliar**. 2006. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, M. I. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de plantas jovens de *Artemisia vulgaris* submetidas a condições de luminosidade**. 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OREN-SHAMIR, O. M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; LEVI, A. N.; RATNER, K.; OVADIA, R.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Horticultural Science Biotechnology**, United Kingdom, v. 76, n. 56, p. 353-361, Jan. 2001.

SALES, J. F. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 80 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E.; GAL, E.; GAELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**. Amsterdam. v. 659, n. 2, p. 143-161, Oct.. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

## 7 ARTIGO IV

### **Modificações fisiológicas e anatômicas de orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivado sob diferentes tipos de telas coloridas**

Preparado de acordo com as normas da Revista: Acta Scientiarum exceto as citações (NBR 10520) e as referências bibliográficas (NBR 6023)

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de malhas coloridas (Chromatinet) no teor de clorofila, carotenóides e anatomia foliar de orégano (*Origanum vulgare* L.). O experimento foi conduzido em vasos plásticos de 10 L contendo substrato na proporção de 3 partes de terra virgem (encosta), 2 partes de esterco bovino e 1 parte de areia com 1 planta por vaso. Os vasos foram distribuídos no delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 repetições e 4 vasos por repetição de acordo com os seguintes tratamentos: 1) Chromatinet preto; 2) Chromatinet vermelho; 3) Chromatinet azul e 4) Pleno sol. As telas Chromatinet influenciaram significativamente o teor de clorofila, parâmetros anatômicos foliares de orégano e diâmetro equatorial de estômatos. O teor de carotenóides não foi regulado pelo ambiente de cultivo. Maior teor de clorofila total foi obtido sob malhas vermelha e preta. A densidade de estômatos, tricomas e espessura dos tecidos foliares foram influenciados pelo ambiente de cultivo. Sob tela azul ocorre maior diâmetro equatorial dos estômatos em relação à tela preta e ambiente pleno sol.

**Palavras-chave:** *Origanum vulgare* L., qualidade de luz, clorofila, carotenóides, parâmetros anatômicos.

---

Orientador: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## ABSTRACT

### **Physiologic and foliar anatomic characteristics of Wild marjoran (*Origanum vulgare* L.) under color nets**

This work had as objective studies the influence of color shade nets (Chromatinet) in the growth and development of wild marjoran plants (*Origanum vulgare* L.). The treatment was carried out in 10 L pots containing 3 parts of soil, 2 parts of cattle manure and 1 part of sand mixture with 1 plant per pot. The pots were distributed completely randomized design with 6 repetitions and 4 pots per repetition as the following treatments: 1) Black chromatinet; 2) Red chromatinet; 3) Blue chromatinet and 4) Full sun light. It was observed that the color shade nets influenced the chlorophyll content, characteristic anatomic foliar and equatorial diameter stomats. The carotenoids content was not influenced by environment culture. The color shade nets and full sunlight influenced the chlorophyll content, but was not influenced the carotenoids content. The stomats density, hairs and thick foliar tissue are influenced by environment culture; under blue color shade net high equatorial diameter was observed that in black color shade net and full sunlight.

**Key words:** *Origanum vulgare* L., light quality, chlorophyll, carotenoids, anatomic parameters.

---

Major Professor: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## INTRODUÇÃO

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é uma planta condimentar da família Lamiaceae largamente utilizada na culinária no preparo de variados pratos, na indústria de alimentos como aromatizante e também considerado como medicinal.

Hoje em dia novas tecnologias de produção estão surgindo e inovando a agricultura visando maximizar o processo produtivo. Neste sentido, as telas coloridas estão sendo intensamente pesquisadas e utilizadas no cultivo de inúmeras plantas como ornamentais (Oren-Shamir et al., 2001), frutíferas (Shahak et al., 2004) e olerícolas, obtendo excelentes respostas em crescimento e produção.

As telas ou malhas coloridas são tecnologias inovadoras muito utilizadas hoje nas ciências agrárias, cuja principal finalidade é alterar o espectro de luz incidente visando manipular a qualidade da luz que chega até os cultivos. Oren-Shamir et al. (2001) relatam que o uso comercial de telas coloridas pode promover a redução do uso de hormônio ou até mesmo maximizar sua atividade devido as telas terem a capacidade de manipular o espectro de luz incidente.

A luz é um dos fatores ambientais que mais influi no desenvolvimento vegetal, seja através de fotoestimulação da biossíntese de substâncias, fototropismo, fotomorfogênese ou fotoperiodismo Larcher (2000). A quantidade da luz que chega ao cultivo é geralmente alta e com diferentes comprimentos de onda. De acordo com Taiz & Zeiger (2004), da energia solar incidente (100%), apenas 5% dessa energia é convertida em carboidratos, sendo a energia restante dissipada na forma de reflexão, transmissão e dissipação de calor.

A qualidade e a quantidade de luz que atinge os cultivos alteram substancialmente os tecidos e os órgãos das plantas. Segundo Wang (1998), a qualidade da luz, ou seja, os comprimentos de onda do espectro luminoso que

atinge o cultivo alteram significativamente o crescimento e desenvolvimento de plantas quer seja aumentando ou diminuindo os internódios e induzindo o florescimento precoce ou tardio. De acordo com Costa et al. (2007), as alterações encontradas na espessura de folhas e densidade de estômatos de *Ocimum selloi* são atribuídas à intensidade de luz, enquanto que a densidade de cloroplastos e grãos de amido é atribuída à qualidade de luz. Além disso, pesquisas têm mostrado que a luz azul desencadeia a abertura de estômatos (Karlsson, 1986; Tallman 1992; Talbott et al. 2003) favorecendo assim a entrada de CO<sub>2</sub>.

As clorofilas são pigmentos utilizados pelas plantas para realizar o processo fotossintético. A clorofila “a” é o pigmento utilizado pelas plantas vasculares para realizar a fase fotoquímica da fotossíntese enquanto que os demais pigmentos como clorofila “b”, carotenóides e ficobilinas são chamados de pigmentos acessórios que auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação nos fotossistemas (Streit et al. 2005).

Na malha preta (neutra), apenas a luz que passa através dos furos na malha é transmitida, uma vez que as linhas de plástico preto que a compõem são essencialmente opacas. No entanto, nas malhas coloridas, as quais são unidas mais densamente para atingir o mesmo efeito de sombreamento, uma fração maior da luz solar realmente passa através das linhas, sendo seletivamente filtrada (Oren-Shamir et al., 2001). Segundo estes mesmos autores, a malha azul transmite luz em uma banda larga em 470 nm, além de outros picos na região do vermelho-distante e infravermelho (acima de 750 nm).

O objetivo deste trabalho foi avaliar características fisiológicas e anatômicas de folhas de plantas de orégano cultivadas em malhas coloridas e ambiente pleno sol.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em telas coloridas Chromatinet instaladas no setor de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) situada nas coordenadas geográficas 21° 14' S e 45° 00 W, a 918 m de altitude. O clima da região, segundo Köppen, é do tipo CWa, com características CWb, com duas estações definidas: quente e chuvosa, de outubro a março e, amena e seca, de abril a setembro. A exsicata de orégano está depositada no herbário Esal sob registro nº 22.156.

As mudas de orégano (*Origanum vulgare* L.) (obtidas de estacas apicais) com 20 dias de idade (6 cm de altura) foram transplantadas para vasos de plástico com capacidade de 10 L contendo substrato formulado com mistura de terra de barranco, esterco bovino e areia na proporção de 3:2:1 respectivamente. Foi transplantada 1 planta por vaso mantendo distanciamento de 30 cm entre elas (distância entre o ponto médio dos vasos).

Em seguida os vasos foram colocados sob ambiente coberto por malhas coloridas Chromatinet de acordo com os tratamentos: 1) Chromatinet preto; 2) Chromatinet vermelho; 3) Chromatinet azul e 4) Testemunha (pleno sol).

Os tratos culturais como irrigação, controle de plantas daninhas, pragas e doenças foram realizados ao longo do ciclo. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente. O turno de rega da irrigação foi de 2 dias. Não houve infecção das plantas com patógenos e ataques de pragas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 6 repetições e a parcela experimental composta de 4 vasos.

Ao final de 90 dias de cultivo o experimento foi avaliado onde amostras de folhas foram retiradas visando a quantificação do teor de clorofila e carotenóides e estudos dos componentes anatômicos como espessura das epidermes adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso, espessura do

limbo foliar, densidade estomática, diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE) e relação DP/DE.

Para as análises de clorofila foram retiradas ao acaso 20 folhas completamente expandidas do terceiro par de folhas de plantas de cada tratamento e posteriormente envolvidas em papel alumínio e colocadas em caixa de isopor com gelo para quantificação da clorofila. Em seguida as amostras foram levadas para o laboratório onde foi realizada a quantificação dos teores de clorofila. A determinação dos teores de clorofila e carotenóides foram feitas com um espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B sendo realizada a leitura da absorbância dos extratos foliares a 663 nm e 645 nm para a quantificação das clorofilas a, b e total seguindo a metodologia de Arnon (1949), para os teores de carotenóides foram realizadas absorbâncias de 287 nm, 344 nm, 444 nm, 445 nm visando identificar os carotenóides *cis*-fitoeno 287, beta caroteno, fitoflueno e carotenóides totais seguindo a metodologia de Susan et al (1998).

Para os estudos anatômicos, amostras de 10 folhas completamente expandidas foram coletadas e fixadas em FAA<sub>70%</sub> (formol, ácido acético e álcool etílico) por 72 horas e posteriormente conservadas em álcool etílico 70% (Johansen, 1940). Foram analisadas seções transversais.

As seções transversais foram feitas com micrótomo de mesa e em seguida corados com mistura de Azul de Astra (95%) e Safranina (5%) (Kraus & Arduim, 1997) e clarificados em solução de hipoclorito de sódio a 50% por 15 min. e posteriormente lavadas com água destilada por 15 minutos. As lâminas semi-permanentes foram montadas em glicerina 50%.

Os componentes anatômicos observados nas seções transversais foram: espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso, epidermes adaxial e abaxial e limbo foliar. As fotomicrografias dos cortes transversais foram analisadas no software Sigma Scan Pro<sup>®</sup> 5 onde foram feitas as medições dos tecidos.

Amostras foliares foram também estudadas em microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram coletadas, fixadas em F.A.A<sub>70%</sub> e conservadas em álcool 70%. Em seguida foram fixadas em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M pH 7,2 por 1 hora à temperatura ambiente em capela. As amostras foram desidratadas em gradientes crescentes de acetona, posteriormente secas até o ponto crítico. Em seguida foram montadas em stubs, com posterior recebimento de banho de ouro e acondicionadas em recipiente com sílica para serem observadas no microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40.

Na microscopia eletrônica de varredura foram observadas a densidade de estômatos e tricomas glandulares das epidermes adaxial e abaxial, diâmetro polar (DP) e equatorial (DE).

Os dados obtidos para os teores de clorofila, carotenóides e parâmetros anatômicos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira, 2000).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O ambiente de cultivo influenciou significativamente o teor de clorofila e não influenciou o teor de carotenóides em folhas de orégano ( $P < 0,05$ ). Observou-se que nas folhas de orégano sob tela preta e vermelha tiveram maior teor de clorofila a, b e total em relação às folhas sob tela azul e ambiente pleno sol, evidenciando que o espectro de luz altera consideravelmente os teores de clorofila (Tabela 1). No entanto, a relação clorofila a/b não foi influenciada pelos níveis de irradiância.

Pesquisas de Vieira (1996) relatam que o estresse provocado na planta pela luz é freqüente sob condições tropicais, e a concentração de clorofilas e

carotenóides é indicadora da suscetibilidade da planta a intensidade de luz. As clorofilas tendem a ser foto-oxidativas sob alta irradiação e, devido aos carotenóides poderem prevenir a foto-oxidação das clorofilas, a relação entre as clorofilas e carotenóides pode ser usada como um indicador potencial de perdas foto-oxidativas causadas por fortes irradiações (Hendry & Price, 1993). Estes resultados estão de acordo com o presente trabalho onde sob luz azul e ambiente pleno sol (alta irradiação) menores teores de clorofila foram obtidos. De acordo com Taiz & Zeiger (2004) a luz azul por ter menor comprimento de onda é uma luz mais energética que a luz das demais cores. Assim, esta luz por ser mais energética destrói as clorofilas.

Almeida et al. (2005), relatam que folhas de moreira (*Maclura tinctoria* L.) e acácia (*Acacia mangium* Willd.) quando cultivadas sob baixa intensidade luminosa apresentam maiores teores de clorofila em relação ao ambiente de maior irradiância. No entanto, em *Catharantus roseus*, Melo (2006) observou que em ambiente pleno sol foi obtida maior relação clorofila a/b que nas demais telas azul, preta e vermelha, sendo que neste trabalho, não houve influência da qualidade e quantidade de luz nesta relação para as folhas de orégano.

Os teores de carotenóides não foram influenciados pelo ambiente de cultivo ( $P < 0,05$ ), evidenciando que a radiação solar na época do experimento (janeiro) não afetou significativamente a concentração destes pigmentos. A síntese de pigmentos acessórios em função da luminosidade provavelmente parece estar relacionada à espécie, embora em valores absolutos há a tendência de aumentar a síntese de carotenóides com o aumento da luminosidade. No entanto este trabalho não acusou diferenças significativas (Tabela 1).

Em contrapartida, pesquisas de Orset e Young (2000) relatam que para *Dunaliella salina* há aumento na síntese de  $\beta$ -caroteno por célula em função do acréscimo de luminosidade; na espécie *Artemisia vulgaris* Oliveira (2006),

observou também que sob maior incidência de luz há maior síntese de carotenóides.

Tabela 1: Teor de clorofila ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e carotenóides ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de folhas de plantas de orégano cultivadas sob telas coloridas Chromatinet e ambiente pleno sol.

Ambiente de cultivo	Clo. A*	Clo. B	C. Tot.	Relação Clo. A/B	cis-Fitoeno	Beta caroteno	Fitoflueno	Car. Tot.
Preto	0,49 a	0,20 a	0,67 a	2,49 a	7,98 a	6,30 a	5,43 a	19,63 a
Azul	0,33 b	0,14 b	0,47 b	2,47 a	7,85 a	7,17 a	6,18 a	21,21 a
Vermelho	0,49 a	0,20 a	0,68 a	2,44 a	7,84 a	6,56 a	5,96 a	20,36 a
Sol	0,30 b	0,13 b	0,43 b	2,30 a	9,34 a	7,18 a	6,22 a	22,74 a

\* As medias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Clo.- Clorofila; Tot.- Total; Car.- carotenóides.

Em relação as variáveis anatômicas observou-se que o ambiente de cultivo influenciou significativamente a espessura da epiderme da face abaxial, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso e limbo foliar, mas não influenciou na espessura da epiderme adaxial ( $P < 0,05$ ). A epiderme abaxial mostrou -se mais espessa em folhas de plantas cultivadas sob tela azul e pleno sol.

A epiderme encontrada nas folhas de orégano neste experimento é do tipo uniestratificada. A espessura dos parênquimas paliçádico, lacunoso e limbo foliar foram maiores quando as plantas foram cultivadas a pleno sol, evidenciando que com maior radiação há tendência de aumento da espessura dos parênquimas e limbo foliar para esta espécie. Na tela preta (neutra) foi observado a menor espessura do limbo foliar (Tabela 2). Observou -se maior espessura do parênquima lacunoso em relação ao paliçádico em todas as folhas de plantas cultivadas sob telas coloridas e pleno sol (Tabela 2).

Tabela 2: Espessura da epiderme da face adaxial, epiderme abaxial, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso e limbo foliar de folhas de orégano em função dos ambientes de cultivo telas chromatinet e pleno sol.

<b>Ambiente de cultivo</b>	<b>Ep. Adax. *</b>	<b>Ep. Abax.</b>	<b>P. Paliç.</b>	<b>P. Lacun.</b>	<b>L. foliar</b>
Tela preta	20,78 a	12,48 c	50,37 b	73,50 c	157,13 c
Tela vermelha	21,05 a	14,23 b	55,37 b	93,23 b	183,88 b
Tela azul	20,08 a	16,58 a	52,90 b	93,92 b	183,48 b
Pleno sol	21,65 a	16,48 a	64,67 a	120,53 a	223,33 a

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Ep. Adax: epiderme adaxial; Ep. Abax: epiderme abaxial; P. Paliç: parênquima paliçádico; P. Lacun: parênquima lacunoso; L. foliar: limbo foliar (somatório de Ep. Adax. Ep. Abax. P. Paliç e P. Lacun)

Os parênquimas paliçádico e lacunoso são tecidos que apresentam grande capacidade de respostas aos estímulos de luz, influenciando, portanto, a espessura foliar (Castro et al., 2005). No entanto, estas respostas variam conforme a intensidade de luz e não em relação à qualidade luminosa, visto que a qualidade espectral da luz não é capaz de afetar a contribuição das camadas de tecido no espessamento total da folha nem a composição do mesofilo (Lee et al., 2000). Estas observações também foram relatadas no presente trabalho onde evidenciou-se que não houve diferenças de espessura no parênquima paliçádico em função das telas coloridas. Segundo Taiz & Zeiger (2004), as propriedades das células paliçádicas permitem a passagem direta da luz, e as propriedades das células do parênquima lacunoso, que servem à dispersão da luz, determinando uma absorção mais uniforme através da folha.

Para a espécie *Ocimum selloi* Benth, conhecida por elixir-paregórico, Costa et al. (2007), observaram resultados semelhantes ao presente trabalho, onde foi evidenciado que o parênquima lacunoso foi mais espesso que o parênquima paliçádico, não sendo observadas também diferenças na espessura

da epiderme da face adaxial em função das telas chromatinet azul, vermelho e ambiente pleno sol.

As observações em microscopia eletrônica de varredura evidenciam a presença de estômatos do tipo diacítico, conforme Glória & Guerreiro (2006), como podem ser observados na Figura 1 E. Os estômatos das plantas da família Lamiaceae na maioria dos trabalhos evidenciam ser do tipo diacítico como pode ser evidenciado nas pesquisas de Melo (2002) e Costa et al. (2007).

As observações de microscopia eletrônica de varredura evidenciaram variações na densidade de estômatos na epiderme adaxial e abaxial e na densidade de tricomas glandulares em função do ambiente de cultivo ( $P < 0,05$ ). Na epiderme adaxial de plantas cultivadas a pleno sol observou-se maior densidade de estômatos; esta resposta está de acordo com Larcher (2000) que afirma que é comum o aumento da densidade estomática com o aumento da irradiância. Entre as telas coloridas não houve diferença significativa na densidade de estômatos.

Já na epiderme da face abaxial houve maior densidade de estômatos na tela preta (neutra) em relação ao pleno sol e tela vermelha; assim evidencia-se a presença de estômatos em ambas as faces da folha, mostrando que as folhas de orégano possuem estômatos nas duas faces e concentra maior densidade na face abaxial anfihipoestomática, de acordo com Glória & Guerreiro, 2006.

A densidade de tricomas glandulares na face adaxial de folhas não foi influenciada pelas telas de cultivo, porém a pleno sol, ocorreu menor densidade (densidade 77,8% menor). Já na face abaxial apenas na tela vermelha houve menor densidade de tricomas glandulares (Tabela 3 e Figura 1).

Pesquisas de Costa et al. (2007) com a espécie *O. selloi* e Lee et al. (1997) com a espécie *Hopea odorata* corroboram com os resultados deste trabalho, onde foi observado por eles que a densidade estomática foi maior em plantas cultivadas sob pleno sol. De acordo com Buisson e Lee (1993) a redução

da densidade estomática nos tratamentos de tela preta (neutra) e demais cores azul, verde e vermelha, em relação à condição de pleno sol, comprova o efeito da qualidade de luz sobre esta característica.

Tabela 3: Número de estômatos e tricomas glandulares nas epidermes adaxial e abaxial em função dos ambientes de cultivo telas chromatinet e pleno sol.

<b>Ambiente de cultivo</b>	<b>Epid. Adax. (N° est./mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Epid. Adax. (N° tric. gl./mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Epid. Abax (N° est./mm<sup>2</sup>) *</b>	<b>Epid. Abax (N° tric. gl./mm<sup>2</sup>)</b>
Tela preta	34,19 c	28,49 a	401,71 a	14,24 a
Tela vermelha	99,72 b	31,34 a	79,77 c	8,55 b
Tela azul	51,28 bc	31,34 a	384,61 ab	19,94 a
Pleno sol	179,49 a	17,09 b	319,09 b	14,24 a

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Ep. Adax: epiderme adaxial; Ep. Abax: epiderme abaxial; N° est./mm<sup>2</sup>: número de estômatos/mm<sup>2</sup>; N° tric. gl./mm<sup>2</sup>: Número de tricomas glandulares/mm<sup>2</sup>.

Na Figura 1 A e B observa-se a diferença entre a espessura do limbo foliar, bem como das epidermes, parênquimas paliçádico e lacunoso, evidenciando que no ambiente pleno sol ocorre maior espessamento dos tecidos foliares. Na Figura 1 C e 1 D é ilustrado a densidade de estômatos e tricomas na epiderme adaxial e abaxial evidenciando a presença destas estruturas nas duas faces da folha de orégano.

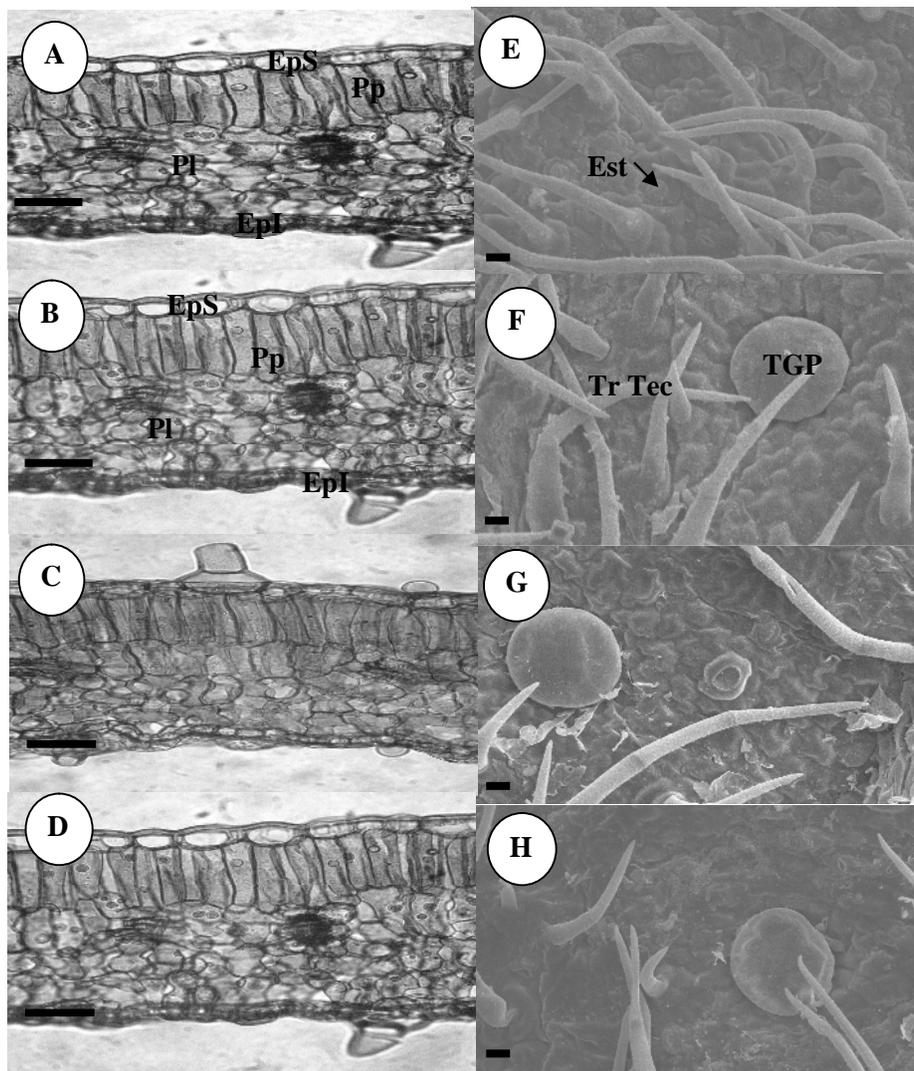


Figura 1: Seções transversais foliares de orégano em microscopia de luz ilustrando em A) ambiente pleno sol; B) tela chromatinet azul; C) tela chromatinet preta; D) tela chromatinet vermelha e eletromicrografia de varredura ilustrando a face adaxial de folhas de orégano cultivadas em E) ambiente pleno sol; F) tela chromatinet preta; F) Tela chromatinet azul e G) Tela chromatinet vermelha. Barra maior: 50  $\mu$ m; Barra menor: 10  $\mu$ m.

EpS – Epiderme superior; EpI – epiderme inferior; Pp – parênquima paliçádico; Pl – parênquima lacunoso; Est – estômato; Tr – tricoma tector; TGP – tricoma glandular.

As observações das dimensões dos estômatos através dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) evidenciaram que os diferentes ambientes de cultivo pouco influenciaram nestas variáveis. Na epiderme adaxial não foi observado efeito do ambiente de cultivo no DP e DE ( $P < 0,05$ ) (Tabela 4). No entanto, na epiderme abaxial foi observado que sob tela azul houve a formação nas folhas de estômatos com maior DE que nos estômatos formados nas folhas sob tela preta e ambiente pleno sol (Tabela 4). Resultados semelhantes foram obtidos por Costa et al. (2007), onde para a espécie *O. selloi* foi observado que o DP dos estômatos nas duas faces não variou em função das telas coloridas vermelha e azul e do ambiente pleno sol. Estes autores observaram também que o DE foi maior em estômatos de folhas sob tela vermelha, o que difere do presente trabalho; embora haja ligeira diferença entre as telas azul e vermelha para DE, de acordo com o teste Tukey estas diferenças não são significativas ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4: Diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) de estômatos observados nas faces adaxial e abaxial de folhas de plantas de orégano cultivadas sob diferentes ambientes.

Ambiente de cultivo	Epiderme adaxial		Epiderme abaxial	
	DP (mm)	DE (mm)	DP (mm)	DE (mm)
Tela preta	26,37 a	19,92 a	23,87 a	16,92 b
Tela vermelha	25,33 a	19,45 a	24,87 a	18,65 ab
Tela azul	25,53 a	17,88 a	26,42 a	21,70 a
Pleno sol	24,95 a	18,62 a	23,25 a	16,90 b

## CONCLUSÃO

Maior teor de clorofila total é obtido em plantas cultivadas sob te las preta e vermelha.

Os teores de carotenóides não são regulados pelos níveis de irradiância.

Folhas mais espessas e menos vistosas são obtidas em plantas cultivadas em pleno sol.

Não houve modificações nos diâmetros polares e equatoriais de estômatos ao cultivar orégano nos diferentes níveis de irradiância.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudos. E a Polysack pelas malhas cedidas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. M. Z.; SOARES, A. M.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; GAJEGO, E. B. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento . **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 62-68, jan./fev. 2005.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloplasts : polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 24, n. 1, p .1-15, Jan. 1949.

BUISSON, D.; LEE, D. W. The developmental responses of papaya leaves to simulated canopy shade. **American Journal of Botany**, Oxford, v. 80, n.8, p. 947-952, Aug. 1993.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; MELO, H. C.; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A.; LIMA JÚNIOR, E. C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a fotoperíodos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 846-850, jul./set. 2005.

COSTA, L. C. B.; CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; ALVES, E.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ROSAL, L. F.; MOREIRA, C. M. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, p. 6-8, jul. 2007.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia vegetal**. 2. ed.atual. Viçosa, MG: UFV, 2006. 438 p.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Ed.). **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman e Hall, 1993. p. 148-152.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KARLSSON, P. E. Blue light regulation of stomata in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings: II. action spectrum and search for action dichroism. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 66, n. 2, p. 207-210, Feb. 1986.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo, EPU. 2000. 526 p.

LEE, D. W. ; OBERBAUER, S. F. ; JONHSON, P. ; KRISHNAPILAY, B. ; MANSOR, M. ; MOHAMAD, H. ; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, British Colômbia, v. 87, n. 4. p. 447-445, Oct. 2000.

LEE, W. ; OBERBAUER, S. F. ; KRISHNAPILAY, B. ; MANSOR, M. ; MOHAMAD, H. ; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two southeast Asian Hopea species. **Oecologia**, Berlim, v. 110, n.1, p. 1-9, Mar. 1997.

LEITE, C. A.; ITO, R. M.; GERALD, L. T. C.; FAGNANI, M. A. **Manejo do espectro de luz através de malhas coloridas visando o controle do crescimento e florescimento de *Phalaenopsis* sp.** 2004. Disponível em: <[www.polisack.com/artigos](http://www.polisack.com/artigos)>. Acesso em: 10 nov. 2007.

MELO, A. A. M. Germinação de sementes e ação da qualidade da luz sobre o desenvolvimento vegetativo e aspectos fitoquímicos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MELO, S. N. M. Influência da radiação solar sobre o crescimento, anatomia, teor e composição do óleo essencial de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae). 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

OLIVEIRA, M. I. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de plantas jovens de *Artemisia vulgaris* submetidas a condições de luminosidade.** 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OREN-SHAMIR, O. M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; LEVI, A. N.; RATNER, K.; OVADIA, R.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal Horticultural Science Biotechnology**, United Kingdom, v. 76, n. 56, p. 353-361, Jan. 2001.

ORSET, S. C.; YOUNG, A. J. Exposure to low irradiances favors the synthesis of 9-cis  $\beta,\beta$ -carotene in *Dunaliella salina* (Teod.). **Plant Physiology**, Lancaster, v. 122, n.3, p. 609-617, Jan. 2000.

SENEVIRATHNA, A. M. W. K.; STILING, C. X. M.; RODRIGO, V. H. L. Growth, photosynthetic performance and shade adaptation of rubber (*Hevea brasiliensis*) grown in natural shade. **Tree Physiology**, Victoria, Canada, v. 23, n.5, p. 705-712, 2003.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E.; GAL, E.; GAELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, n.2, p. 143-161, May 2004.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p.748-755, maio/jun. 2005.

SUSAN. L.; SPRECHER, M. D.; NETHERLAND, A. B.; STEWART, A. B. Phytoene and carotene response of aquatic plants to fluridone under laboratory conditions. **Journal of Aquatic Plant Management**, Gainesville, FL, v. 36, n.6, p. 111-120, Aug. 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TALBOTT, L. D.; SHMAYEVICH, I. J.; CHUNG, Y.; HAMMAD, J. W.; ZEIGER, E. Blue light and phytochrome – mediated stomatal opening in the *npq1* and *phot2* mutants of Arabidopsis. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 133, n. 4, p. 1522-1529, Dec. 2003.

TALLMAN, G. The chemiosmotic model os stomatal opening revisited. **Critical Review Plant Science**, Vierstra, v. 11, p. 35-57, June 1992.

VIEIRA, G. **Dynamics in managed Amazonian forest**: structural and ecophysiological aspects. 1996. 162 p. Tese (Doutorado em Ecologia Tropical) – University of Oxford, Grã-Bretanha.

WANG, Y. T. Deffering flowering of grenhouse grown *Phalaenopsis* orchids by alternating dark and light. **Journal of Amer. Soc. Hort. Science**, Alexandria, v. 123, n.1, p. 56-60, May 1998.

## 8 ARTIGO V

**Avaliação da malha termorefletora no crescimento, teor, rendimento e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.).**

**Preparado de acordo com as normas da Revista Ciência e Agrotecnologia**

### RESUMO

Este trabalho objetivou verificar a influência de malhas termorefletoras no cultivo de orégano (*Origanum vulgare* L.) em vasos. O experimento foi conduzido em vasos plásticos de 10 L contendo substrato na proporção de 3 partes de terra virgem (barranco), 2 partes de esterco bovino curtido e 1 parte de areia com 1 planta por vaso. Os vasos foram distribuídos no delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC) com 8 repetições e 4 vasos por repetição de acordo com os seguintes tratamentos: 1) Pleno sol (Testemunha); 2) Aluminet 40% (60% de irradiância) e 3) Aluminet 80% (20% de irradiância). Aos 90 dias de cultivo foram avaliadas a biomassa seca total (BST), biomassa seca de raiz (BSR), biomassa seca de caule (BSC), biomassa seca de folhas (BSF) e biomassa seca de inflorescências (BSI), área foliar (AF), quantificação e qualificação do óleo essencial. Observou-se que o ambiente pleno sol proporciona maior produção de BST, BSR e BSI. Sob menor nível de irradiância há aumento da AF. Folhas de plantas cultivadas sob pleno sol foram mais espessas que sob as telas Aluminet. Maior teor e rendimento de óleo essencial foram obtidos de folhas de plantas cultivadas em ambiente de maior irradiância. Maior teor de hidrato de *trans*-sabineno foi obtido em plantas de orégano cultivado em pleno sol.

---

Orientador: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

**Palavras-chave:** *Origanum vulgare* L., intensidade luminosa, crescimento, malhas termorefletoras, óleo essencial.

## ABSTRACT

### **Effect of thermal screen on the growth, content, yield and essential oil quality of *Origanum vulgare* L.**

This work aimed to verify the influence of thermal screen (Aluminet) in the wild marjoran cultivation (*Origanum vulgare* L.) in pots. The experiment was carried out in 10 L pots containing 3 parts of soil, 2 parts of cattle manure and 1 part of sand mixture with 1 plant per pot. The pots were distributed in completely randomized design with 8 repetitions and 4 pots per repetition as the following treatments: 1) Full sunlight (Control); 2) Aluminet 40% (60% of light) and 3) Aluminet 80% (20% of light). At 90 days of cultivation were evaluated the total dry biomass (TDB), leaf (LDB), stem (SDB), inflorescence (IDB) and root (RDB) dry biomass, foliar area (FA), content, yield and quality of essential oil. It was observed high TDB, RDB IDB in full sunlight cultivation wild marjoran plants. In low irradiance levels there was high AF. Under full sunlight there were bigger leave thick than thermal screen. In 60% and 100 (full sunlight) of irradiance levels there were high content and yield of *Origanum vulgare* essential oil. There was influenced of the irradiance levels on the essential oil compound.

**Key words:** *Origanum vulgare* L., light intensity, growth, thermal nets, essential oil.

---

Major Professor: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## INTRODUÇÃO

*Origanum vulgare* L., família Lamiaceae, conhecido como orégano, é uma planta muito utilizada como condimento nos países do mediterrâneo e no Brasil, sendo também muito empregado como aromatizante de alimentos e medicinalmente como antisséptico, bactericida, antifúngico, diurético e digestivo.

O crescimento e desenvolvimento das plantas são influenciados por variados fatores dentre eles o manejo fitotécnico e fotomorfogênicos como a intensidade luminosa. A quantidade de fótons de luz que chega ao cultivo geralmente é alta podendo alterar o crescimento e desenvolvimento de muitas espécies vegetais. De acordo com Abaurre (2004) cultivando alface sob malhas termorefloras (Aluminet) foi observado menor amplitude térmica diária e necessidade de menor lâmina de irrigação em relação ao pleno sol, sendo que a colheita comercial poderia ser antecipada em pelo menos uma semana.

O cultivo protegido tradicional, além de exigir estrutura onerosa, proporciona efeito estufa pela cobertura plástica, que é detrimental em épocas quentes do ano. O emprego de telas de sombreamento, na maioria das vezes, não proporciona níveis adequados de luz, afetando o desenvolvimento e a produção.

O uso de malhas termo-refletores é uma opção recente no Brasil. Por serem de fios retorcidos revestidas de alumínio, reduzem a temperatura do ambiente sem reduzir de forma acentuada a irradiância, devido à luz difusa.

As malhas termorefloras permitem manejar a diferença de temperatura entre o dia e a noite possibilitando a formação de diversos microclimas, de acordo com a malha utilizada, protegendo as plantas da radiação solar excessiva e conservando o calor no interior da estufa.

As malhas termorefloras (Aluminet) estão sendo hoje amplamente utilizadas no cultivo de variadas espécies como ornamentais, olerícolas,

medicinais e até mesmo frutíferas proporcionado resultados significativos na produção de biomassa. O uso de Aluminet na produção de mudas citrícolas proporcionou um incremento na fotossíntese de cerca de 26% de precocidade, podendo alcançar valores de 40% (Medina & Machado 2006). Isto significa redução de tempo, mão de obra, irrigação e adubações.

Trabalhos de Castrillo et al (2005) mostraram que para algumas plantas da família Lamiaceae como sálvia (*Salvia officinalis*), alecrim (*Rosmarindus officinalis*) e manjerição (*Ocimum basilicum*) a produção de biomassa aumentou com a elevação da intensidade luminosa, justificando -se assim conhecer melhor o efeito da luz em cada espécie.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar o crescimento, quantificação e qualificação do óleo essencial de orégano cultivado sob malhas termorefletoras (Aluminet) e compará-las com o ambiente pleno sol.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras – UFLA no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007. As coordenadas geográficas de Lavras-MG são 21° 14' S e 45° 00 W e 918 m de altitude. O clima da região, segundo Köppen, é do tipo CWa, com características CWb, com duas estações definidas: quente e chuvosa, de outubro a março e, amena e seca, de abril a setembro. A exsicata de orégano (*Origanum vulgare* L.) está depositada no herbário Esal sob registro nº 22.156.

Mudas de *O. vulgare* (obtidas de estacas apicais) com 20 dias de idade (6 cm de altura) foram transplantadas para vasos de plástico com capacidade de 10 L contendo substrato formulado com mistura de terra virgem (encosta), esterco bovino e areia na proporção de 3:2:1 respectivamente. Foi transplantada

1 planta por vaso mantendo distanciamento de 30 cm entre elas (distância entre o ponto médio dos vasos).

Em seguida os vasos foram colocados sob os seguintes ambientes (Tratamentos): 1) Aluminet 80% (20% de irradiância). 2) Aluminet 40% (60% de irradiância) e 3) Pleno sol (Testemunha – 100% de irradiância).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 3 tratamentos, 8 repetições sendo a parcela experimental composta por 4 vasos.

Os tratamentos culturais rotineiros como irrigação, controle de plantas daninhas, pragas e doenças foram realizados ao longo do ciclo. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente. O turno de rega da irrigação foi de 2 dias. Não houve infecção das plantas com patógenos e ataques de pragas.

Ao final de 90 dias o experimento foi avaliado determinando-se os seguintes parâmetros: área foliar (AF), medida com Medidor Eletrônico de Área Foliar, Modelo LI – 3100-LICOR, a partir da qual obtiveram-se os parâmetros fisiológicos de razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) e razão de peso foliar (RPF), de acordo com Benincasa (2003), teor, rendimento e composição química do óleo essencial de folhas de orégano.

Em seguida à colheita, cada planta foi particionada em raiz, caule, folha e inflorescência para secagem até peso constante para obtenção da biomassa seca, determinando-se também a relação raiz:parte aérea (R : PA) por meio da razão de área foliar (RAF).

A obtenção do óleo essencial das folhas foi realizada pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger (Clevenger 1928), utilizando-se 40g de matéria seca em 500 mL de água destilada por 1,5 h. Após, realizou-se a partição líquido-líquido, em funil de separação, onde foram feitas 3 partições (20 minutos cada) de 30 mL de diclorometano ao hidrolato para a purificação do óleo. À fração orgânica obtida adicionou-se sulfato de magnésio anidro em excesso para retirar possíveis resíduos de umidade. As amostras foram deixadas

por um período de 24 horas em repouso, onde posteriormente a solução foi filtrada e armazenada à temperatura ambiente em frascos de vidro âmbar parcialmente tampados para permitir a evaporação do restante do solvente. Os parâmetros determinados na quantificação do óleo essencial foram o teor e o rendimento na biomassa seca das folhas (BSF). O cálculo do teor de óleo foi obtido diretamente como porcentagem ( $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  BSF) e o rendimento de óleo calculado através da seguinte equação:  $(\text{Teor} \times \text{BSF})$ , cuja unidade do rendimento foi expressa em  $\text{g planta}^{-1}$ .

A qualificação óleo essencial foi realizada por meio de uma amostra composta juntando-se os óleos essenciais das seis repetições de cada tratamento. As temperaturas do injetor e do detector foram  $250^{\circ}\text{C}$  e  $280^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. As amostras foram analisadas utilizando-se cromatografia gasosa interfaceada com espectrometria de massas (CG/EM) em equipamento Shimadzu QP5050A utilizando coluna capilar DB-5 ( $30\text{m} \times 0,25\text{mm} \times 0,25\mu\text{m}$ ) e detector operando em impacto eletrônico a 70 eV. O gás de arraste utilizado foi o hélio (fluxo 1 mL/min) e a seguinte programação:  $80^{\circ}\text{C}$  (1 min),  $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $180^{\circ}\text{C}$ ,  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $300^{\circ}\text{C}$  (3 min), tipo de injeção split 1:100. Os cálculos dos índices de retenção foram feitos através da co-injeção de *n*-alcanos, na faixa de *n*C9-*n*C18. A identificação dos constituintes do óleo essencial foi efetuada com base nos índices de retenção (Adams, 1995) e pela comparação do espectro de massa com o banco de dados da biblioteca NIST21 e NIST107. A concentração dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do CG e arranjado em ordem de eluição.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o software Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira 2000)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições em que o experimento foi realizado observou-se que houve efeito significativo do ambiente de cultivo na produção de biomassa de orégano ( $P < 0,05$ ) (Figura 1). O ambiente pleno sol proporcionou maior biomassa seca total (BST), biomassa seca de raiz (BSR) e biomassa seca de inflorescência (BSI) em relação às telas termorefloras (Aluminet) de 20% e 60% de irradiância. A biomassa seca de caule (BSC) não foi influenciada pelos níveis de irradiância. Já a biomassa seca de folhas (BSF) foi alterada em função dos níveis de irradiância sendo que no ambiente com menor irradiância (Aluminet 80%) houve menor acúmulo de biomassa na ordem de 182% em relação a pleno sol (Figura 1). Nos ambientes de 60% de irradiância (Aluminet 40%) e 100% de irradiância (pleno sol) a biomassa seca de folhas em orégano foi similar estatisticamente. Maior BSI foi obtida em plantas cultivadas em pleno sol evidenciando que sob ambiente de maior irradiância ocorre estímulo ao florescimento. No Aluminet 40% e 80% praticamente não houve a formação de flores.

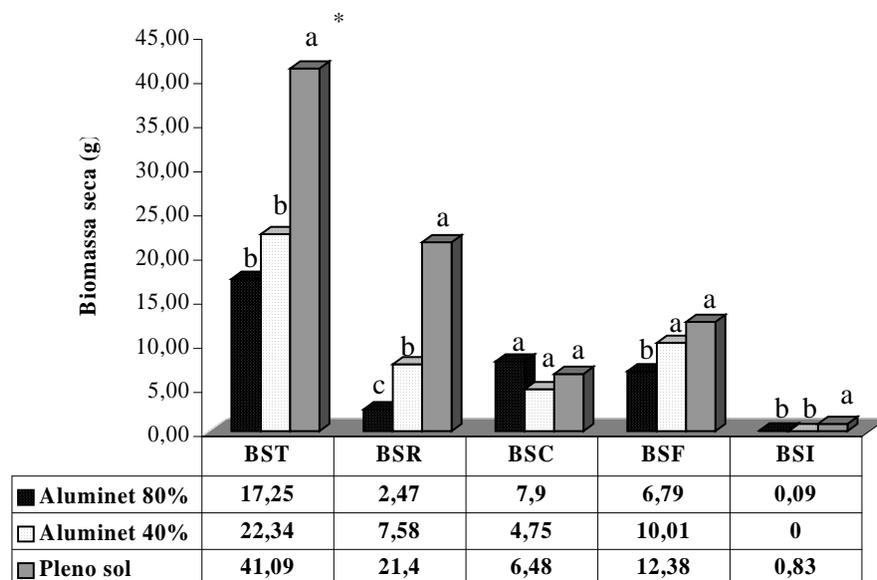


Figura 1: Biomassa seca total (BST), biomassa seca de raiz (BSR), biomassa seca de caule (BSC), biomassa seca de folha (BSF) e biomassa seca de inflorescência (BSI) de plantas de orégano cultivadas sob malhas termorefletoras (Aluminet) e ambiente pleno sol. Aluminet 80% (fornece 20% da radiação incidente); Aluminet 40% (fornece 60% da radiação incidente); pleno sol - sem proteção (100% da radiação incidente).

\* As médias seguidas de mesma para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Em relação as variáveis fisiológicas, observou-se efeito das telas Aluminet em todas as características estudadas ( $P < 0,05$ ) (Figura 2). A área foliar (AF) foi maior em plantas cultivadas sob menor nível de irradiância (20%), sendo que à medida que aumenta a luminosidade, reduz a área foliar. Sob menor irradiância a planta de orégano precisou aumentar a área foliar para maior adaptação à energia solar. O mesmo foi observado para a variável área foliar específica (AFE), evidenciando que a intensidade luminosa altera significativamente a área das folhas responsável pela fotossíntese.

A razão de peso foliar (RPF) decresceu com a elevação da intensidade de luz, evidenciando que sob luz solar direta ocorre maior exportação de fotoassimilados para a raiz (menor RPF). Já a razão de área foliar (RAF) sob aluminet 40% (60% de irradiância) foi maior que no aluminet 80% (20% de irradiância), mas, no entanto, quando a luminosidade aumentou para 100% (pleno sol) houve decréscimo na RAF em relação ao aluminet 40%. Neste caso, parece haver uma intensidade luminosa ideal para esta variável, visto que sob menor (aluminet 80%) e maior irradiância (pleno sol) menores foram os valores de RAF.

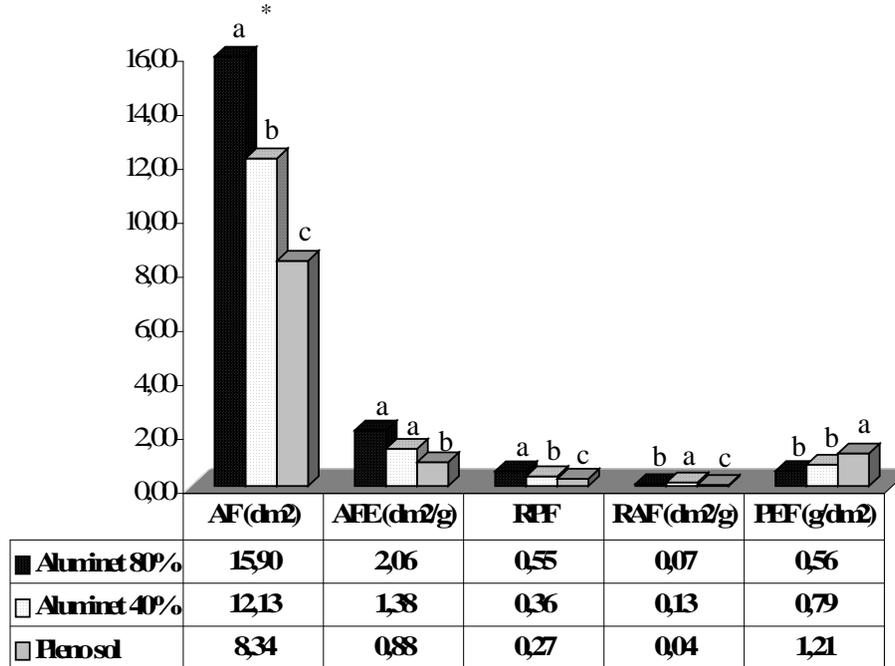


Figura 2: Área foliar (AF), área foliar específica (AFE), razão de peso foliar (RPF), razão de área foliar (RAF) e peso específico foliar (PEF) de folhas de plantas de orégano cultivadas sob diferentes telas termorefletores Aluminet e ambiente pleno sol.

\* As médias seguidas de mesma para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

O peso específico foliar (PEF) é uma variável que correlaciona a biomassa de folha e a área foliar resultando esta variável na espessura da folha. Evidenciou-se maior PEF nas folhas de plantas de orégano cultivadas a pleno sol em relação aos menores níveis de irradiância (aluminet 40% e 80%) mostrando que maior irradiância induz a folha a espessar-se.

Neste trabalho a luz favoreceu maiores incrementos, porém as plantas cultivadas sob pleno sol mantiveram-se com folhas pequenas e ásperas, menores e menos vistosas que das folhas de plantas cultivadas sob telas de sombreamento. Pereira (2006) relata que existem evidências de que a radiação solar quando em excesso pode prejudicar o crescimento das plantas e a produtividade das culturas e no caso de algumas culturas como melão pode prejudicar a qualidade dos frutos. No presente trabalho a luz solar plena favoreceu a produtividade de orégano no sul de Minas Gerais. Mas em se tratando de qualidade das folhas, as telas coloridas proporcionaram folhas maiores e mais vistosas visualmente que no pleno sol.

Estudando o efeito das malhas Aluminet na formação de mudas citrícolas, Medina & Machado (2006) observaram maior incremento de matéria seca com o uso das telas termorefletoras, atribuindo o fato ao microclima ameno e incidência de luz difusa. No entanto, neste trabalho maior biomassa seca total foi obtida em plantas cultivadas em pleno sol.

Pesquisas de Tani et al. (2001) com a espécie *Pteridophyllum racemosum* corroboram com o presente trabalho, onde eles mostraram que com o aumento da intensidade luminosa houve decréscimos da RPF evidenciando maior alocação de biomassa para as raízes em função dos níveis de irradiância. Resultado semelhante também foi obtido por Feng et al. (2007) onde estudando o desempenho de espécies invasoras dos gêneros *Gynura* e *Ageratina* observaram que acréscimos de luminosidade reduz a RPF.

Sales (2006) relata alguns resultados contraditórios a este trabalho onde para fitomassa seca de ramos e folhas, área foliar e altura de plantas de *Hyptis marrubioides* o aumento da intensidade luminosa (em malhas – Aluminet) tendeu a decrescer o valor destas variáveis. Em pesquisas de Abaurre et al. (2003) no cultivo de alface, resultados semelhantes também foram encontrados, onde sob telas Aluminet maior foi a AFE e conseqüentemente menor foi o PEF em relação ao ambiente pleno sol, resultando em folhas menos espessas e mais atrativas ao consumidor. Nesta pesquisa com orégano, a obtenção de folhas menos espessas e vistosas são interessantes para o mercado consumidor, onde serão obtidas na colheita folhas macias.

Em geral, a produtividade da cultura durante o crescimento está relacionada com água, nutrientes e a quantidade total de luz recebida, onde quanto mais luz a cultura receber, mais alta é a biomassa (Vogelmann, 2004), sendo que no presente trabalho maior valor de fitomassa seca total e de raiz foi obtido no ambiente de maior irradiância.

Em relação à quantificação do óleo essencial de *O. vulgare* observou-se que maior teor e rendimento de óleo essencial foi obtido de plantas cultivadas em pleno sol e em aluminet 40% (60% de irradiância), não havendo diferenças entre elas ( $P < 0,05$ ). No entanto, o menor teor e rendimento foi obtido de plantas cultivadas no menor nível de irradiância (aluminet 80%) (Figura 3); com estes resultados evidencia-se que com o aumento da intensidade luminosa há tendência de aumento do teor e rendimento de óleo essencial. As observações da densidade de óleo não detectaram diferenças significativas para esta variável em função dos níveis de irradiância ( $P < 0,05$ ).

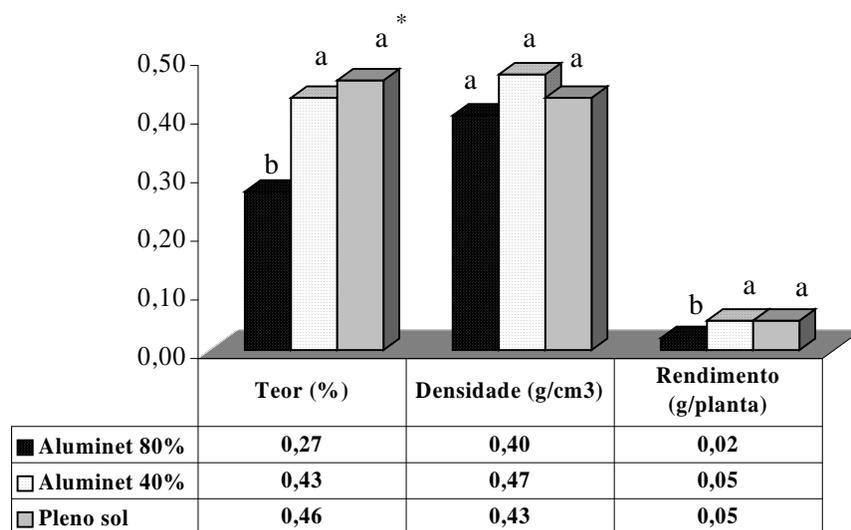


Figura 3: Teor, densidade e rendimento de óleo essencial de folhas de orégano cultivadas sob diferentes telas termorefletoras Aluminet e ambiente pleno sol.

\* As médias seguidas de mesma para cada variável não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Pesquisas de Gonçalves (2006) evidenciaram que para a espécie *Ocimum selloi* (Lamiaceae) não houve efeito da irradiância no teor e qualidade do óleo essencial. Já trabalhos de Pinto et al (2007) mostram que para a espécie *Aloysia gratissima* (Verbenaceae) maior rendimento de óleo foi obtido em plantas cultivadas sob os níveis de 60% e 100% de irradiância que corresponde respectivamente ao Aluminet 40% e pleno sol; não entanto não houve diferença no teor de óleo em função da irradiância.

Trabalhos de Salgado (2005) corroboram com o presente trabalho, onde este autor relata que para o tomilho (*Thymus vulgaris*) (Lamiaceae) houve maior biomassa fresca e rendimento de óleo em plantas cultivadas em ambiente pleno sol em relação às telas de sombreamento.

Diferentes níveis de irradiância e o ambiente pleno sol induziram diferenças no teor de óleo essencial em “falso boldo” (*Plectranthus barbatus* Andr.) (Lamiaceae) mostrando que sob maior intensidade de luz ocorre maior

síntese de óleo essencial (Melo, 2002), evidenciando respostas positivas em relação à quantidade de luz. Assim, mesmo dentro da família Lamiaceae ocorrem variações de resposta na quantificação de óleo essencial em função da irradiância.

Interessante mencionar que de acordo com Kokkini (1996), plantas de orégano que fornecem teores menores que 0,5% são classificadas como pobres em óleos essenciais. Teores de 0,5% a 2,0% encontrados em plantas são considerados teores médios. Já as plantas de orégano ricas em óleos essenciais possuem teor acima de 2% que é característico do *O. vulgare* subsp. *hirtum* (orégano grego) e *O. onites* (orégano da Turquia). Nesta pesquisa obteve-se valores menores que 0,5% para o teor, evidenciando que as plantas cultivadas nesta região de Minas Gerais é pobre em óleo essencial.

A qualificação do óleo essencial de *O. vulgare* evidenciou a presença de 9 compostos em plantas cultivadas em pleno sol; em plantas cultivadas nas telas termofletoras observou-se a presença de 14 compostos para o Aluminet 80% e 18 para o Aluminet 40% sendo evidenciados 3 compostos majoritários que foram hidrato de *trans*-sabineno, terpinen-4-ol e o timol perfazendo um total entre 73% a 85% (Tabela 1).

Observou-se que a intensidade de luz pouco influenciou os compostos químicos ( $P < 0,05$ ). Analisando-se os valores absolutos, para o composto majoritário hidrato de *trans*-sabineno e o timol praticamente não houve efeito da irradiância; para o terpinen-4-ol a elevação dos níveis de irradiância aumentou a síntese deste composto, evidenciando que a luz altera substancialmente este composto. Em média a síntese de terpinen-4-ol no ambiente pleno sol foi cerca de 62,79% maior no Aluminet 40% e 137% maior que no Aluminet 80%. No Aluminet 40% a síntese deste composto foi 46% maior que no Aluminet 80%.

A qualidade do óleo essencial varia conforme a região e o ambiente em que as plantas se desenvolvem; assim, em várias pesquisas é relatada a presença

de compostos químicos no óleo de *O. vulgare* que em outras regiões são sintetizadas em concentrações diferentes ou até mesmo não são sintetizados. Isto pode ser evidenciado nos trabalhos de Werker et al. (1985); Mockute et al. (2001), Kokkini et al. (2004) e Ivask et al. (2005).

Trabalho pioneiro no estudo anatômico e fisiológico de orégano foi o de Werker et al. (1985) onde este autor afirma que dentre os quimiotipos estudados os principais compostos presentes neste óleo são o  $\gamma$  terpineno, P-cimeno, timol, carvacrol, linalol e terpinen-4-ol; este autor relata que os constituintes químicos podem variar em função da região onde a espécie se desenvolve bem como as características ambientais. No presente trabalho foram encontrados como majoritários o timol, terpinen 4-ol e o hidrato de *trans*-sabineno, estando corroborando com as pesquisas de Werker et al. (1985).

Em trabalhos de Ivask et al. (2005) com *O. vulgare* cultivado na Estônia, observou-se que os componentes do óleo essencial de plantas desta região continham uma variação grande no teor e nos compostos majoritários linalol (0.3-20.6 %), beta-cariofileno (1.3-45.0 %), germacreno (0.7-21.0 %), e espatulenol (0.9-10.1 %). Este autor também observou que dentro das regiões de cultivo da Estônia houve diferenças na qualidade do óleo.

Novak et al. (2000) afirma que os compostos hidrato de *cis* e *trans* sabineno são os principais compostos monoterpênicos encontrados no gênero *Origanum*, onde este autor encontrou no óleo essencial de *O. vulgare* a razão de 20:1.

**Tabela 1** - Composição química e porcentagem relativa da área do pico dos componentes do óleo essencial de folhas de *Origanum vulgare* L. cultivado sob ambiente pleno sol e telas termorefletoras Aluminet.

Constituinte químico (%)	IK*	Ambiente de cultivo		
		Sol	Aluminet 40%	Aluminet 80%
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1068	3,60	2,89	3,37
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1100	46,12	42,19	43,56
Terpinen-4-ol	1179	14,83	8,11	6,52
-Terpineol	1194	5,21	3,54	4,85
		3,74	5,17	6,07
Acetato de linalila	1248			
Timol	1289	24,01	28,96	24,85
$\beta$ -Cariofileno	1480	0,71	1,59	2,31
$\gamma$ -Muuroleno	1494	1,00	2,97	3,23
Éter metil Timol	1235	0,71	0,64	1,23
Éter metil Carvacrol	1245	-	0,71	1,13
Carvona	1242	-	0,02	-
Carvacrol	1298	-	0,60	0,71
Acetato de nerila	1362	-	0,18	-
Acetato de geranila	1381	-	0,36	0,47
$\gamma$ -Humuleno	1455	-	0,14	-
Biciclogermacreno	1494	0,14	1,55	1,53
$\gamma$ -Cadineno	1516	-	0,07	-
Espatuleno	1575	-	0,31	-
$\gamma$ -Terpineno	1062	-	-	0,17

IK – \* Índice de Kovats calculado através da série *n*-alcano em coluna capilar DB-5MS na ordem de eluição.

## CONCLUSÃO

Recomenda-se o cultivo de orégano a pleno sol para obtenção de maior biomassa seca de folhas.

Se o interesse for obter folhas maiores e de aspecto mais vistoso para a indústria alimentícia recomenda-se o cultivo de orégano sob Aluminet 80%.

Para a produção de óleo essencial de orégano, em termos de rendimento, o uso de telas termorefloras Aluminet não é recomendado.

Não há a necessidade de utilizar malhas termorefloras para a produção dos compostos majoritários hidrato de *trans*-sabineno, timol e terpinen-4-ol.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudos aos autores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAURRE, M. E. O. **Crescimento e produção de duas cultivares de alface sob malhas termo-refletores e difusoras no cultivo de verão**. 2004, 82 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

ABAURRE, M. E. O.; PUIATTI, M.; COELHO, M. B.; CECON, P. R.; HUAMAN, C. A. M. Y; PEREIRA, F. H. F. Produtividade de duas cultivares de alface sob malhas termo-refletores e difusora no cultivo de verão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, jul. 2003.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995. 245p.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas** : noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 42 p.

CASTRILLO, M.; VIZCAÍNO D.; MORENO E.; LATORRACA Z. Specific leaf mass, fresh: dry weight ratio, sugar and protein contents in species of Lamiaceae from different light environments. **Revista de Biología Tropical**, Costa Rica, v. 53, n. 1/2, p. 23-28, Jan. 2005.

CLEVENGER, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. **Journal of American Pharmacological Association**, London, v. 17, n.5, p. 345-349, May 1928.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2006. 89 p. Dissertação (Mestrado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FENG, Y.; WANG, J.; SANG, W. Biomass allocation, morphology and photosynthesis of invasive and noninvasive exotic species grown at four irradiance levels. **Acta Oecologica**, Japan, v. 31, n.1, p. 40-47, Jan./Feb. 2007.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos:UFSCar, 2000. p.255-258.

IVASK, K.; ORAV, A.; KAILAS, T.; RAAL, A.; ARAK, E.; PAAVER, U. Composition of the essential oil from wild marjoram (*Origanum vulgare* L. ssp. vulgare) cultivated in Estonia. **Journal of Essential Oil Research**, , v. 17, n. 4, p. 384-387, Feb. 2005.

KOKKINI, S.; KAROUSOU, R.; HANLIDOU, E.; LANARAS, T. Essential oil composition of Greek (*Origanum vulgare* ssp. hirtum) and Turkish (O-onites) oregano: A tool for their distinction. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, n. 4, p. 334-338, July 2004.

KOKKINI, S. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In: INTERNACIONAL WORKSHOP ON OREGANO, 1., 1996, Bari , Itália. **Proceedings...** Bari, Itália: IPGRI, 1996. 175 p.

MEDINA, C.; MACHADO, E. C. **Uma nova luz para o futuro dos pomares** . Campinas: IAC, 2006. 4 p. (Boletim Citrus ).

MELO, S. N. **Influência da radiação solar sobre o crescimento, anatomia, o teor e a composição do óleo essencial de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae)**. 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MOCKUTE, D.; BERNOTIENE, G.; JUDZENTIENE, A. The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). **Phytochemistry**, St Louis, v. 57, n.1, p.65-69, May 2001.

NOVAK, J; BITSCH, C.; LANGBEHN, J.; PANK, F.; SKOULA, M.; GOTSIOU, Y.; FRANZ C. M. Ratios of cis and trans-Sabinene Hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Bentham) Vogel. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n.7, p. 697-704, Aug. 2000.

PEREIRA, F. H. F. **Crescimento da planta, produção e qualidade de frutos de melões amarelo e charantais cultivados sob diferentes malhas**. 2006. 65 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, J. C. W. C.; CASTRO, E. M. BERTOLUCCI, S. K. V.; MELO, L. A.; DOUSSEAU, S. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema do Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p.210-204, abr./jun. 2007.

SALES, J. F. **Influência da luz e adubação no crescimento e composição química do óleo essencial, variabilidade química e germinação de sementes de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 76 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SALGADO, A. P. S. P. **Efeito da luz na planta e no óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)**. 2005. 49 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TANI, T.; KUDOH, H.; KACHI, N. Responses of Photosynthesis and biomass allocation of an understorey herb, *Pteridophyllum racemosum*, to gradual increases in irradiance. **Annals of Botany**, Austrália, v. 88, n.3, p. 393-402, May 2001.

VOGELMANN, T. C. Fotossíntese: considerações fisiológicas e ecológicas. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

WERKER, E.; PUTIEVSK, E.; RAVID, U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. **Annals of Botany**, Austrália v. 55, n.6, p. 793-801, Jan.1985.

## 9 ARTIGO VI

### **Características anatômicas e fisiológicas de orégano (*Origanum vulgare*) sob telas termorefletoras**

Preparado de acordo com as normas da Revista: Acta Scientiarum exceto as citações (NBR 10520) e as referências bibliográficas (NBR 6023)

#### **RESUMO**

Este trabalho objetivou analisar a influência de malhas termorefletoras nas características anatômicas e fisiológicas de orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivado em vasos. O experimento foi conduzido em vasos plásticos de 10 L contendo substrato na proporção de 3 partes de terra virgem (encosta), 2 partes de esterco bovino curtido e 1 parte de areia com 1 planta por vaso. Os vasos foram distribuídos no delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC) com 8 repetições e 4 vasos por repetição de acordo com os seguintes tratamentos: 1) Pleno sol (Testemunha); 2) Aluminet 40% (60% de ir radiância) e 3) Aluminet 80% (20% de irradiância). Observou-se que níveis crescentes de luz não afetaram o teor de clorofila total, porém os níveis de carotenóides foram regulados pela irradiância. Os componentes anatômicos espessura da epiderme adaxial, tecidos clorofilianos e limbo foliar foram influenciados pela intensidade luminosa. Maior densidade estomática e de tricomas glandulares ocorreram na face adaxial de folhas de plantas cultivadas em luz solar direta. O diâmetro polar e equatorial da face abaxial foram influenciados pela intensidade luminosa.

**Palavras-chave:** *Origanum vulgare* L., intensidade luminosa, pigmentos, anatomia.

---

Orientador: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## ABSTRACT

### **Anatomic and physiologic characteristics of wild marjoran (*Origanum vulgare*) under thermal screen**

This work aimed to verify the influence of thermal screen (Aluminet) in the wild marjoran cultivation (*Origanum vulgare* L.) in pots. The experiment was carried out in 10 L pots containing 3 parts of soil, 2 parts of cattle manure and 1 part of sand mixture with 1 plant per pot. The pots were distributed in completely randomized design with 8 repetitions and 4 pots per repetition as the following treatments: 1) Full sunlight (Control); 2) Aluminet 40% (60% of light) and 3) Aluminet 80% (20% of light). It was observed that there was significant effect of the light intensity in the carotenoids pigments content but not significant effect for chlorophyll content. The anatomic characteristics as adaxial epidermis, chlorofilian tissues and foliar limb were not influenced by light intensity. The high stomata and hair glands density was observed in adaxial face cultivated under full sunlight. Polar and equatorial diameters of abaxial face were influenced by irradiance.

**Key words:** *Origanum vulgare* L., light intensity, pigments, anatomic.

---

Major Professor: Ph.D José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

## INTRODUÇÃO

*Origanum vulgare* L., família Lamiaceae, conhecido como orégano, é uma planta utilizada como condimento nos países do mediterrâneo e no Brasil, sendo também empregado como aromatizante de alimentos bem como utilizada medicinalmente como antisséptico, bactericida, antifúngico, diurético e digestivo.

Os crescimento e desenvolvimento das plantas são influenciados por vários tipos de manejos fitotécnicos dentre eles o fotomorfogênicos representando pela intensidade luminosa. A quantidade de fótons de luz que chega ao cultivo geralmente é alta podendo alterar o crescimento e desenvolvimento de muitas espécies vegetais.

As malhas termorefletoras permitem manejar a diferença de temperatura entre o dia e a noite possibilitando a formação de diversos microclimas, de acordo com a malha utilizada, protegendo as plantas da radiação solar excessiva e conservando o calor no interior da estufa.

A intensidade luminosa altera as características anatômicas foliares aumentando ou diminuindo a espessura dos tecidos e alterando a abertura e densidade de estômatos. Em *Hyptis suaveolens*, Maia (2006) afirma que esta espécie possui grande plasticidade físico-anatômica e teor de óleo em relação aos diferentes ambientes de irradiância. Neste sentido, os estudos sobre fatores ambientais, como radiação, que interfere nas condições de cultivo de variadas espécies, são associados às modificações morfofisiológicas e, conseqüentemente à síntese de substâncias derivadas do metabolismo secundário (Salgado, 2005), comumente denominado de qualidade do óleo essencial.

A maioria das plantas medicinais, aromáticas e condimentares apresenta a maior concentração de princípios ativos nas folhas, sendo, portanto, os principais órgãos comercializados e os que respondem à captação da energia

luminosa, podendo apresentar em função da luminosidade, alterações fisiológicas e morfoanatômicas (Alves, 2006).

Este trabalho objetivou estudar as modificações anatômicas e fisiológicas foliares de orégano cultivados sob malhas termor eflatorias (Aluminet) e compará-las com o ambiente pleno sol.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras – UFLA no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007.

Mudas de orégano (*Origanum vulgare* L.) com 20 dias de idade e 6 cm de altura foram transplantadas para vasos de plástico (10 L) contendo substrato formulado com mistura de terra virgem (barranco), esterco bovino e areia na proporção de 3:2:1 respectivamente. Foi transplantada 1 planta por vaso mantendo distanciamento de 30 cm entre elas (distância entre o ponto médio dos vasos).

Posteriormente os vasos foram colocados no ambiente contendo os seguintes tratamentos: 1) Pleno sol (Testemunha); 2) Aluminet 40% (60% de irradiância); 3) Aluminet 80% (20% de irradiância).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 3 tratamentos, 8 repetições e a parcela experimental composta de 4 vasos.

Os tratamentos culturais como irrigação, controle de plantas daninhas, pragas e doenças foram realizados ao longo do ciclo. O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente. O turno de rega da irrigação foi de 2 dias. Não houve infecção das plantas com patógenos e ataques de pragas.

Aos 90 dias de cultivo foram avaliados o teor de clorofila, carotenóides, componentes anatômicos como espessura das epidermes adaxial e abaxial,

parênquimas paliçádico e lacunoso, espessura do limbo foliar, densidade estomática, diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE).

Para as análises de clorofila foram retiradas ao acaso 20 folhas completamente expandidas do terceiro par de folhas de plantas de cada tratamento e posteriormente envolvidas em papel alumínio e colocadas em caixa de isopor com gelo para quantificação da clorofila. Em seguida as amostras foram levadas para o laboratório onde foi realizada a quantificação dos teores de clorofila.

A determinação dos teores de clorofila e carotenóides foram feitas com um espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B sendo realizada a leitura da absorbância dos extratos foliares a 663 nm e 645 nm para a quantificação das clorofilas a, b e total seguindo a metodologia de Arnon (1949); para os teores de carotenóides foram realizadas absorbâncias de 287 nm, 344 nm, 444 nm, 445 nm visando identificar os carotenóides *cis*-fitoeno 287, beta caroteno, alfa caroteno e carotenóides totais seguindo a metodologia de Susan et al . (1998).

Para os estudos anatômicos, amostras de 10 folhas completamente expandidas foram coletadas e fixadas em FAA<sub>70%</sub> (formol, ácido acético e álcool etílico) por 72 horas e posteriormente conservadas em álcool etílico 70% (Johansen 1940). Foram analisadas seções transversais.

As seções transversais foram feitas com micrótomo de mesa e em seguida corados com mistura de Azul de Astra (95%) e Safranina (5%) (Kraus e Arduim, 1997) e clarificados em solução de hipoclorito de sódio a 50% por 15 min. e posteriormente lavadas com água destilada por 15 minutos. As lâminas semi-permanentes foram montadas em glicerina 50%.

Os componentes anatômicos observados nos cortes transversais foram: espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso, epidermes adaxial e abaxial e limbo foliar. As fotomicrografias dos cortes transversais foram analisadas no software Sigma Scan Pro<sup>®</sup> 5 onde foram feitas as medições dos tecidos.

Amostras foliares foram também estudadas em microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram fixadas em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M pH 7,2 por 1 hora à temperatura ambiente em capela. As amostras foram desidratadas em gradientes crescentes de acetona, posteriormente secas até o ponto crítico. Em seguida foram montadas em stubs, com posterior recebimento de banho de ouro e acondicionadas em recipiente com sílica para serem observadas no microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40 no departamento de Fitopatologia, setor de Microscopia Eletrônica da UFLA.

Na microscopia eletrônica de varredura foram observadas a densidade de estômatos e tricomas glandulares das epidermes adaxial e abaxial, diâmetro polar (DP) e equatorial (DE) e relação DP/DE.

Os dados obtidos para os teores de clorofila, carotenóides e parâmetros anatômicos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando -se o software Sisvar<sup>®</sup> (Ferreira 2000).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O teor de clorofila “a” e “b” e a relação Clorofila a/b foi influenciado pelos níveis de irradiância, porém a clorofila total não foi influenciada pela irradiância ( $P < 0,05$ ). Observou-se que no Aluminet 80% (20% de irradiância) houve menor síntese de clorofila “a” e maior síntese de clorofila “b”. Entre os ambientes de maior irradiância (Aluminet 40% e pleno sol) não houve diferenças entre os teores de clorofila “a” e “b”. A relação clorofila a/b foi maior em folhas de plantas de orégano cultivadas sob pleno sol, decrescendo à medida que reduz a intensidade de luz (Tabela 1).

Os teores de carotenóides foram influenciados pelo ambiente de cultivo, sendo evidenciado que maior intensidade luminosa induz a síntese destes pigmentos acessórios. O *cis*-fitoeno teve maior síntese em folhas de plantas cultivadas em pleno sol; o beta caroteno teve maior síntese no Aluminet 40% e pleno sol, não se diferenciando entre si; o pigmento  $\alpha$  caroteno também teve maior síntese em ambiente de maior irradiância (P<0,05). Maior síntese de carotenóides totais foi obtida nos ambientes Aluminet 40% e pleno sol (Tabela 1).

Os carotenóides totais tiveram maior síntese nos maiores níveis de irradiância (Aluminet 40% e pleno sol), evidenciando a provável proteção às clorofilas. (Tabela 1).

Tabela 1: Teores de clorofila (Chr) “a”, “b”, total (Tot.), relação clorofila a/b ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e carotenóides (Car.) ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de folhas de plantas de orégano cultivadas sob telas termorefletoras aluminet e ambiente pleno sol.

Ambiente de cultivo	Clo. a*	Clo. b	Clo. Tot.	Clo. a/b	<i>cis</i> -Fitoeno	Beta caroteno	Alfa caroteno	Car. Tot.
Aluminet 80%	0,29 b	0,39 a	0,68 a	0,74 c	6,32 b	4,28 b	3,67 b	14,27 b
Aluminet 40%	0,46a	0,24 b	0,70 a	1,92 b	6,76 b	7,79 a	6,70 a	21,25 a
Pleno sol	0,59 a	0,19 b	0,78 a	3,10 a	8,08 a	7,88 a	6,79 a	22,75 a

\*As medias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Em *Aloysia gratissima* (Verbenaceae), Pinto (2007) relata que sob diferentes níveis de irradiância, maior teor de clorofila “a” e “b” nas folhas foram obtidos no aluminet 80%, enquanto que a relação clorofila a/b foi maior no ambiente pleno sol; neste trabalho houve alteração da relação clorofila a/b em função da irradiância sendo esta relação e o teor de clorofila “a” menor no aluminet 80%.

De acordo com Von Elbe (2000), as clorofilas “a” e “b” encontram -se na natureza em uma relação de 3:1 respectivamente, sendo que no presente trabalho, apenas no ambiente pleno sol foi evidenciado relação aproximada (3,1), onde com a redução da irradiância ocorreu redução desta relação. Resultados semelhantes também foram obtidos por Gonçalves (2000), onde este autor afirma que maior teor de clorofila foi obtido em plantas de *Ocimum selloi* cultivadas sob pleno sol em relação aos demais níveis de sombreamento.

Trabalhos de Mendes et al. (2002) relatam que para a espécie *Myrtus communis* não houve diferenças entre o sombreamento de 30% e pleno sol na relação clorofila a/b, sendo que no presente trabalho esta relação foi regulada pela irradiância. Oliveira (2006) relata que sob luz solar plena ocorreu menor síntese de clorofila na espécie *Artemisia vulgaris*, contrariando os resultados do presente trabalho. No entanto, estes mesmos autores afirmam que os teores de carotenóides totais foram maiores em função da energia radiante, sendo semelhantes às observações realizadas em *O. vulgare*. Assim, a quantificação da clorofila parece variar com a espécie.

Os carotenóides são considerados pigmentos acessórios que captam a energia luminosa e a transfere para as clorofilas. De acordo com Von Elbe (2000), os carotenóides sempre acompanham as clorofilas resultando na grande variabilidade de cores que as folhas apresentam. O estresse provocado nas plantas pela irradiância elevada sob condições tropicais causa alterações nos teores de clorofila e carotenóides, sendo estes pigmentos indicativos da suscetibilidade da planta à luz (Vieira 1996). Segundo Hendry & Price (1993), as clorofilas tendem a ser foto-oxidativas sob alta irradiação e, devido aos carotenóides poderem prevenir a foto-oxidação das clorofilas, a relação entre clorofila e carotenóides pode ser usada como um indicador potencial de perdas foto-oxidativas causadas por fortes irradiações.

Pesquisas de Orset & Young (2000) relataram que o aumento da intensidade luminosa causou o aumento na síntese de  $\beta$ -caroteno em *Dunaliella salina* (Teod.), sendo observado maior acúmulo de  $\beta$ -caroteno por célula em função da maior irradiância. No entanto, estes autores relatam que um dos isômeros do  $\beta$ -caroteno, o  $\alpha$ -caroteno, não é regulado pelos níveis de luz. No presente trabalho a irradiância regulou os níveis de  $\beta$ -caroteno, evidenciando que sob maior irradiância ocorre maior síntese deste pigmento. No entanto, os níveis de  $\alpha$  caroteno não foram regulados pela luz, corroborando com Orset e Young (2000).

Os níveis de irradiância também influenciaram os componentes anatômicos foliares de *O. vulgare*, com exceção da espessura da epiderme abaxial ( $P < 0,05$ ). Observou-se que no aluminet 40% e em pleno sol as folhas tenderam a desenvolver a epiderme adaxial mais espessa em relação ao aluminet 80% (menor nível de irradiância). Resultados semelhantes também foram obtidos para a espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso e a espessura foliar total representada pelo limbo foliar (Tabela 2). O limbo foliar de folhas cultivadas sob pleno sol (100% de irradiância) foi cerca de 38,50% mais espesso que o limbo de folhas sob aluminet 80% (20% de irradiância). Entre o aluminet 40% e pleno sol não houve diferenças para a espessura dos parênquimas e limbo foliar. O parênquima paliçádico e lacunoso não se diferenciaram em espessura em função da irradiância ( $P < 0,05$ ), conforme Tabela 2.

Tabela 2: Espessura da epiderme adaxial (Ep. Adax.), epiderme abaxial (Ep. Abax.), parênquima paliçádico (P. Paliç.), parênquima lacunoso (P. Lacun.) e limbo foliar (L. foliar) de folhas de orégano em função dos ambientes de cultivo telas termorefletoras aluminet e pleno sol.

<b>Ambiente de cultivo</b>	<b>Ep. Adax.*</b>	<b>Ep. Abax.</b>	<b>P. Paliç.</b>	<b>P. Lacun.</b>	<b>L. foliar</b>
Aluminet 80%	20,83 b	15,00 a	65,50 b	79,67 b	181,00 b
Aluminet 40%	25,67 a	14,33 a	95,50 a	100,17 a	235,67 a
Pleno sol	23,83 a	15,33 a	99,02 a	108,33 a	250,66 a

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O estudo micromorfológico realizado neste trabalho permitiu identificar dois tipos de tricomas existentes em folhas de orégano, ou seja, o tricoma glandular e tector, bem como avaliar a densidade estomática e de tricomas glandulares.

Em relação à densidade estomática, observou-se que no ambiente pleno sol ocorre maior densidade de estômatos na face adaxial em relação ao aluminet 40% e 80% ( $P < 0,05$ ), evidenciando que o aumento da irradiância induz o aumento da densidade de estômatos. A densidade estomática do ambiente pleno sol foi cerca de 4 vezes maior em relação ao aluminet 40% e 7,46 vezes maior em relação ao aluminet 80%.

Na epiderme abaxial a densidade estomática não diferiu entre o ambiente pleno sol e aluminet 40%, sendo que no aluminet 80% (menor irradiância) ocorreram menor densidade de estômatos. Na face abaxial, com acréscimo da intensidade de luz, há a tendência de elevação da densidade estomática, porém a mesma se estabiliza após a irradiância ultrapassar 60% (aluminet 40%). Resultado semelhante foi obtido para a densidade de tricomas glandulares (Tabela 3). Estas observações demonstram o efeito da quantidade de luz na densidade estomática. Neste sentido, maior densidade estomática pode

estar correlacionado com maior absorção de CO<sub>2</sub> e conseqüentemente maior produção de biomassa.

Observou-se também na face adaxial a presença de tricomas secretores de óleos essenciais (tricomas glandulares) com maior densidade nos ambientes pleno sol e aluminet 40%. Este aumento de tricoma é uma maneira de proteger a folha da intensidade de radiação mantendo a folha com temperatura mais amena.

Tabela 3: Número de estômatos e tricomas glandulares nas epidermes adaxial e abaxial em função dos ambientes de cultivo telas termorefloras aluminet e pleno sol.

<b>Ambiente de cultivo</b>	<b>Epid. Adax. (N° est./mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Epid. Adax. (N° tric. gl./mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Epid. Abax (N° est./mm<sup>2</sup>) *</b>	<b>Epid. Abax (N° tric. gl./mm<sup>2</sup>)</b>
Aluminet 80%	23,83 c	6,41 b	120,50 b	2,14 b
Aluminet 40%	43,83 b	10,68 a	201,83 a	6,41 a
Pleno sol	177,83 a	14,95 a	236,83 a	6,42 a

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Com relação aos diâmetros de estômatos observou-se que não houve efeito da intensidade luminosa no diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) para a face adaxial. No entanto para a face abaxial houve efeito da irradiância no DP e DE. Maior DP foi obtido em folhas de plantas cultivadas sob aluminet 80%, ou seja, menor irradiância, evidenciando que sob menor irradiância os estômatos tendem a serem maiores. Apesar de não haver diferença significativa no DE em função dos níveis de irradiância aluminet 80% e 40%, evidencia-se pela Tabela 4 que em termos absolutos maior DE é encontrado em folhas de plantas sob menor irradiância.

Pode-se inferir que sob maior irradiância os estômatos tendem a ser menores e mais numerosos visando maximizar a absorção de CO<sub>2</sub> atmosférico.

Estômatos maiores em ambientes com elevada irradiância (pleno sol) podem favorecer a perda de água.

Tabela 4: Diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) de estômatos observados nas faces adaxial e abaxial de folhas de plantas de orégano cultivadas sob diferentes intensidades de luz.

Ambiente de cultivo	Epiderme adaxial		Epiderme abaxial	
	DP (mm)	DE (mm)	DP (mm)	DE (mm)
Aluminet 80%	27,70 a	21,35 a	30,68 a	21,25 a
Aluminet 40%	25,27 a	19,68 a	26,98 b	18,65 ab
Pleno sol	26,82 a	19,47 a	22,67 c	15,38 b

\* As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Os tricomas glandulares relatados neste trabalho podem ser visualizados na Figura 1 E e F. Na Figura 1 E ilustra-se um tricoma glandular intacto e na Figura 1 F um tricoma glandular rompido, onde provavelmente o óleo essencial foi liberado da glândula. O tricoma glandular parece ter um pedúnculo muito reduzido conforme evidencia a Figura 1 E. De acordo com Glória & Guerreiro (2006) e Gonçalves & Lorenzi (2007), o tricoma glandular une-se a epiderme por meio do pedúnculo (ou haste) uni ou multicelular. O pedúnculo varia no comprimento, e muitas vezes é tão reduzido que parece um disco. Medições realizadas neste trabalho nos tricomas glandulares nos 3 ambientes mostraram que não houve diferenças de comprimento e largura dos tricomas glandulares em função do ambiente de cultivo, sendo observados valores médios de 67,97  $\mu\text{m}$  (diâmetro polar) e 69,58  $\mu\text{m}$  (diâmetro equatorial) sendo quase esféricos (dados não mostrados).

Nos 3 ambientes de cultivo houve variações na espessura dos tecidos conforme ilustra a Figura 1. Na Figura 1 A, B e C observa-se a variação na

espessura do limbo foliar, parênquimas e a presença de tricomas tectores na face abaxial e adaxial. Na Figura 1 D, E e F observam-se eletromicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciando também tricomas tectores (não secretores) em ambas as faces adaxial e abaxial. A presença de estômatos em ambas as faces também é observada demonstrando ser a classificação das folhas de orégano, quanto aos estômatos, como anfihipoestomática, segundo Neto et al. (1998). Os valores de densidade estomática são observados na Tabela 3.

Na Figura 1 A, B e C observa-se as epidermes e o clorênquima (parênquima paliçádico mais o lacunoso). O parênquima paliçádico é uniestratificado e composto de células alongadas dispostas perpendicularmente à superfície do limbo. O parênquima lacunoso possui variações no número de camadas em função da luz, ou seja, no aluminet 80% observa-se cerca de 3 camadas de células; o parênquima lacunoso, no aluminet 40% tiveram cerca de 5 camadas de células e finalmente em pleno sol, observou-se maior número de camadas celulares do parênquima lacunoso (cerca de 6 camadas), evidenciando claramente que a luz altera os componentes anatômicos de *O. vulgare* (Figura 1 A, B e C). Associado ao parênquima lacunoso, observa-se também a presença de muitos espaços intercelulares neste tecido do mesofilo foliar de *O. vulgare*. O mesofilo é do tipo dorsiventral, segundo Glória & Guerreiro (2006).

Para a espécie *Thymus vulgare* (Tomilho) (Lamiaceae), Salgado (2005) observou que o acréscimo da intensidade luminosa caracterizou um aumento na espessura foliar e densidade de estômatos. No presente trabalho observou-se resultados semelhantes, porém, a espessura do limbo foliar e a densidade de estômatos tiveram acréscimos em função do aumento da intensidade de luz de 20% (aluminet 80%) para 60% (aluminet 40%). A partir deste nível de irradiância até pleno sol não houve acréscimos significativos na espessura foliar e número de estômatos.

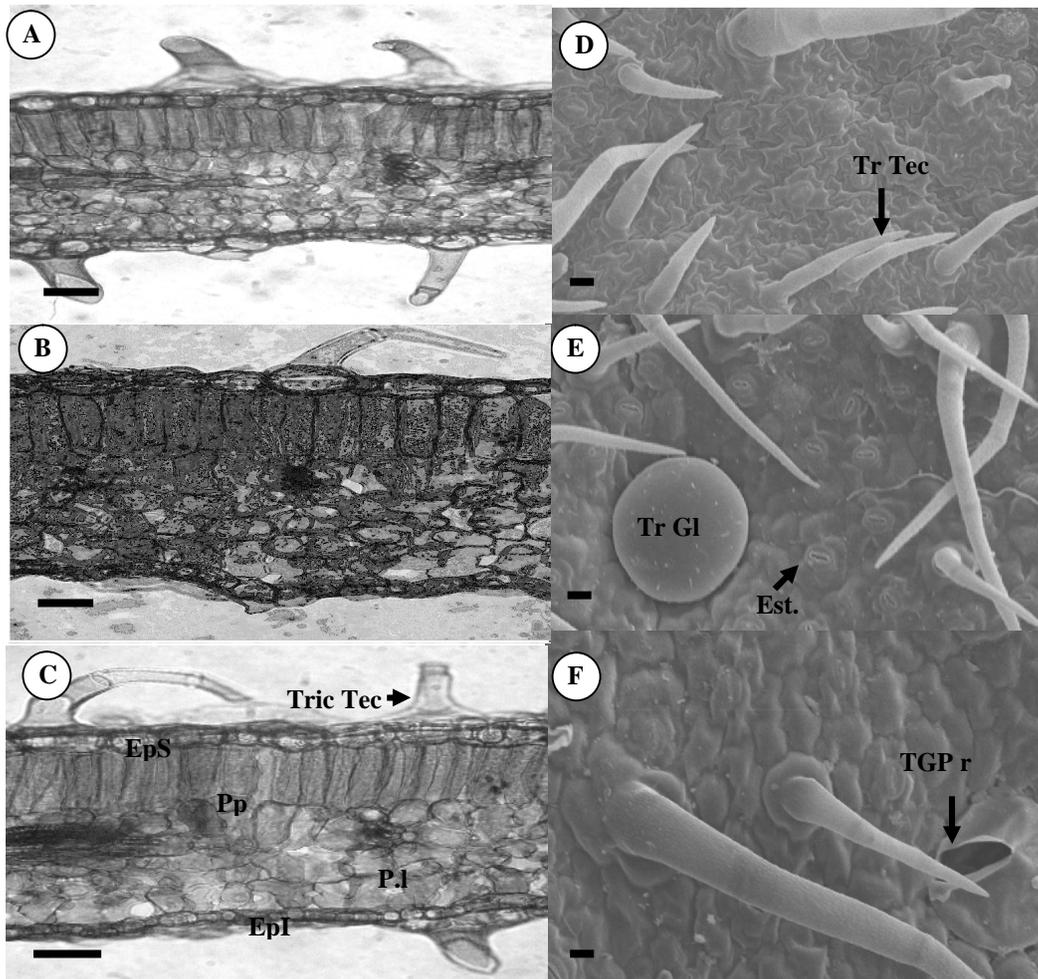


Figura 1: Fotomicrografia de seções foliares (objetiva de 40x) de orégano em microscopia de luz ilustrando em A) Aluminet 80%; B) Aluminet 40%; C) Pleno sol; e eletromicrografia de varredura ilustrando folhas de orégano cultivadas em D) Aluminet 80% (superfície Abaxial); E) Aluminet 40% (superfície Abaxial) e F) Pleno sol (superfície foliar Adaxial). Barra maior: 50  $\mu$ m; barra menor: 10  $\mu$ m.

\* EpS – Epiderme superior; EpI – epiderme inferior; Pp – parênquima paliçádico; P.l – parênquima lacunoso; Est – estômato; Tr Tec– tricoma tector; Tr Gl – tricoma glandular (íntegro com óleo essencial); TGP r – tricoma glandular peltado rompido

Plantas de *Aloysia gratissima* tiveram limbo foliar mais espesso em relação às folhas de plantas sob aluminet 40% e 80% (Pinto et al., 2007), evidenciando também respostas semelhantes ao presente trabalho.

Pesquisas de Werker et al. (1985) relatam que os tricomas peltados glandulares presentes em *O. vulgare* estão representados por uma densidade ao redor de 10 tricomas  $\text{mm}^{-2}$ , sendo esta evidência semelhante a este as respostas deste experimento (Tabela 3). Os valores menores que 10 tricomas  $\text{mm}^{-2}$  encontrados neste trabalho estão relacionados ao efeito dos tratamentos nesta variável.

Pesquisas de Atroch (1999) estudando os efeitos de diferentes níveis de irradiância sobre os aspectos fisiológicos de *Bauhinia forficata* demonstraram que os níveis de irradiância não influenciaram a densidade de estômatos na epiderme abaxial. No presente trabalho a irradiância interferiu na densidade de estômatos, onde sob menor irradiância (20%) houve menor densidade de estômatos em ambas as faces foliares (adaxial e abaxial).

De acordo com Fahn (1979), os óleos essenciais constituem um grupo importante dos produtos econômicos de origem vegetal. A produção de óleos essenciais nas plantas está geralmente associada à presença de estruturas secretoras especializadas, tais como tricomas glandulares, ductos de óleos ou resinas que contêm grande variedade de terpenos, considerados os sítios primários de acúmulos desse material. Werker et al. (1985), pioneiro no estudo do óleo essencial de orégano, relata que ocorre acúmulo de óleo essencial nos tricomas glandulares.

Martins (2002) estudando anatomicamente folhas de *Menthaspicata* e *Mentha spicata* x *suaveolens* (Lamiaceae) relata resultados semelhantes ao do presente trabalho, onde foi relatado mesofilo foliar heterogêneo e assimétrico, parênquima paliçádico unisseriado com células alongadas e dispostas

perpendicularmente a epiderme, além de mesofilo dorsiventral, evidenciando serem estas características provavelmente comuns da família Lamiaceae.

## CONCLUSÕES

Os estudos com telas termorefletoras permitem inferir que os teores de clorofila total não foram regulados pela intensidade luminosa, porém, os teores de carotenóides são influenciados pela irradiância.

As modificações fisioanatômicas como espessura da epiderme adaxial, tecidos clorofilianos e limbo foliar ocorrem nas folhas de orégano sendo influenciadas pela intensidade luminosa.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudos aos autores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. C. A. **Efeito das diferentes intensidades luminosas na morfoanatomia foliar de duas espécies de plantas medicinais em consórcio com *Ilex paraguariensis* A. St. Hill (Aquifoliaceae).** 2006. 51 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolate d chloplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.

ATROCH, E. M. A. C. **Efeitos de diferentes níveis de irradiância sobre os aspectos ecofisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em *Bauhinia forficata* Link.** 1999. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegeta) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ELBE von, J. H. Colorantes. In: FENNEMA, O. W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Wisconsin, Madison, 2000. p. 782-799.

FAHN, A. **Secretory tissue in plants**. London: Academic, 1979. p. 158-222.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos:UFSCar, p. 255-258. 2000.

GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal**: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2007. 416 p.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae)**. 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia vegetal**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 438 p.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Eds.). **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman e Hall, 1993. p. 148-152.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

MAIA, S. S. S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial em *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Lamiaceae**. 2006. 150 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MARTINS, M. B. G. Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata x suaveolens* (Lamiaceae). **Bragantia**, Campinas, v. 61. n. 3, p. 205-218, dec. 2002.

MENDES, A. M. C. M.; MENDES, A. C. B. **Práticas de anatomia vegetal**. Belém, PA: UFPA, 1998. 84 p.

MENDES, C.; SINTO, S. I.; HSIUNG, A.; OPLUSTIL, C. ; TEIXEIRA, L.; SEGURA, A.; SOUZA, D.; BARTH, A. ; NICODEMO, A. C. Atividade antimicrobiana *in vitro* de quinupristina/dalfopristina para cocos gram -positivos isolados de 5 centros brasileiros. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 38, n. 3, p. 191-197, jan. 2002.

OLIVEIRA, M. I. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de plantas jovens de *Artemisia vulgaris* submetidas a condições de luminosidade**. 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ORSET, S. C.; YOUNG, A. J. Exposure to low irradiances favors the synthesis of 9-cis  $\beta,\beta$ -carotene in *Dunaliella salina* (Teod.). **Plant Physiology**, v. 122, n.129, p. 609-617, June 2000.

PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, J. C. W. C; CASTRO, E. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; MELO, L. A; DOUSSEAU, S. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema -do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília. v. 25, n. 2, p. 45-53, 2007.

SALGADO, A. P. S. P. **Efeito da luz na planta e no óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)**. 2005. 49 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SUSAN. L. ; NETHERLAND, M. D. ; STEWART, A. B. Phytoene and carotene response of aquatic plants to fluridone under laboratory conditions. **Journal Aquatic Plant Management**, Gainesville, FL, v. 36, n.6, p. 111-120, Aug. 1998.

VIEIRA, G. **Dynamics in managed Amazonian forest** : structural and ecophysiological aspects. 1996. 162 p. Tese (Doutorado em Ecologia Tropical) - University of Oxford, Grã-Bretanha.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. **Annals of Botany**, Austrália, v. 55, n.6, p. 793-801, Jan. 1985.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios realizados com orégano na região do Sul de Minas Gerais permitiram analisar o comportamento de plantas em função da adubação orgânica com os principais esterco (bovino e avícola) disponíveis na região além do efeito de telas coloridas e termorefloras.

A adubação orgânica foi eficiente na produção de biomassa, aumento da área foliar, teor e rendimento de óleo essencial de *O. vulgare*. O produtor pode optar pelo uso do esterco que for de maior disponibilidade na propriedade ou na região. Ou seja, se na propriedade houver criação de aves de postura, o esterco avícola terá um custo menor para ele que um esterco bovino. Se for uma propriedade com maior disponibilidade de esterco bovino é interessante o produtor utilizar esta fonte atentando, no entanto, para as dosagens, que geralmente são o dobro das dosagens de esterco avícola.

As telas coloridas são promissoras no cultivo de orégano, no entanto o uso depende da finalidade da produção. Se o cultivo visar produção de biomassa e rendimento de óleo essencial, não há a necessidade do uso de telas coloridas. Em contrapartida, se o objetivo for a produção de biomassa para a indústria alimentícia é recomendado a produção de orégano sob telas coloridas devido a melhor qualidade das folhas em termos de menor espessura foliar, maior área foliar e folhas verde escuras. Para maior produção de hidrato de *trans*-sabineno as telas Chromatinet azul e vermelha são as recomendadas. Se for para a produção de timol recomenda-se o uso da malha preta.

O uso de telas termorefloras Aluminet é indicado se o objetivo do cultivo é produzir folhas menos espessas, com maior área foliar e verde escuras. Caso seja interesse maior produtividade de biomassa, rendimento de óleo e extração dos compostos hidrato de *trans*-sabineno e terpinen-4-ol recomenda-se cultivar orégano em pleno sol.

## ANEXO

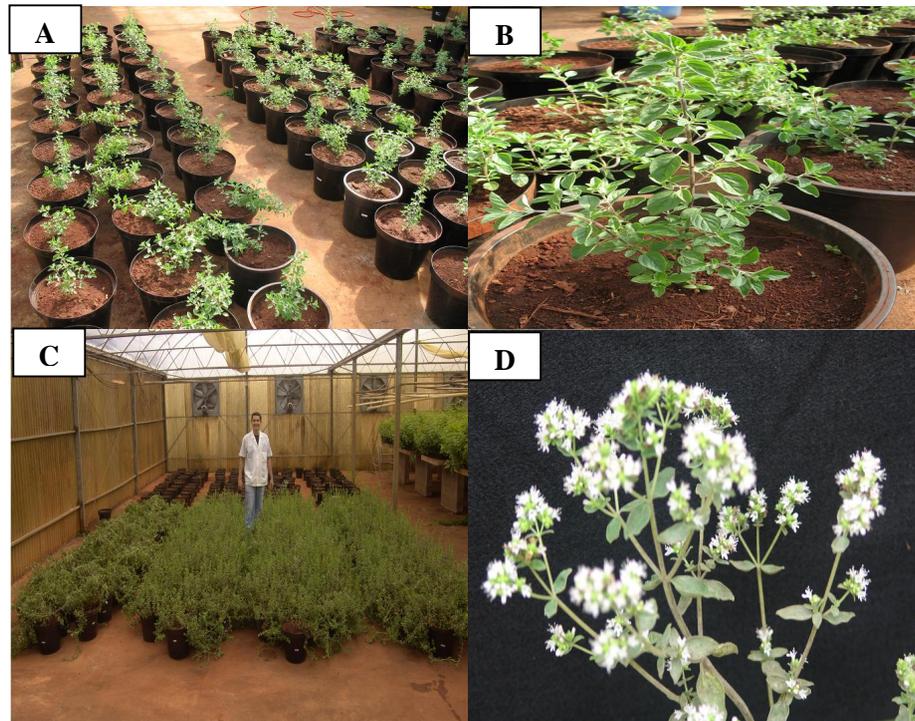


Figura 1A: Experimento de adubação orgânica com esterco bovino e avícola ilustrando em A); B) Plantas com 30 dias pós-plantio; C) Plantas aos 90 dias pós-plantio (colheita) e D) Inflorescência de orégano.

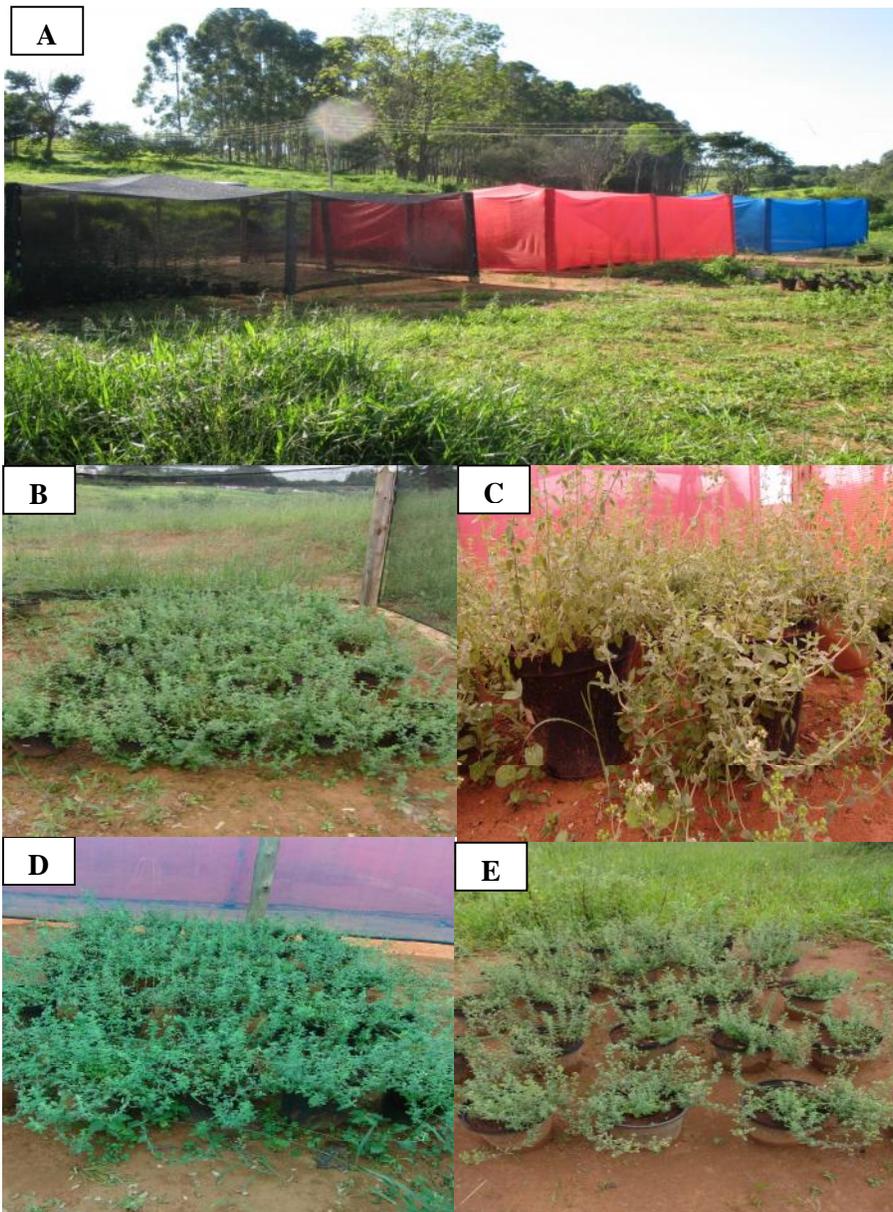


Figura 2A: Experimento com a utilização de telas coloridas Chromatinet ilustrando aos 90 dias (colheita) em A) Visão geral das telas coloridas e ambiente pleno sol; B) Chromatinet preto; C) Chromatinet vermelho; D) Chromatinet azul e E) Pleno sol.

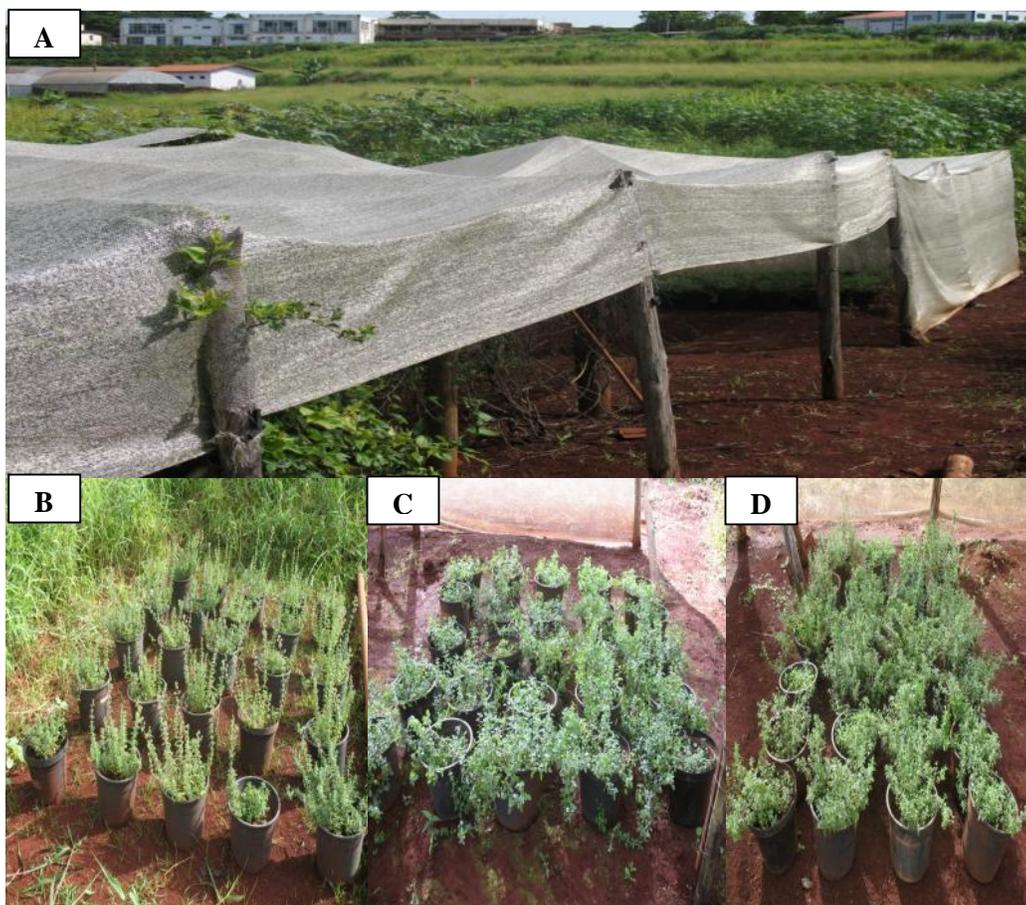


Figura 3A: Experimento com uso de telas termorefletoras ilustrando em A) Visão geral das telas Aluminet; B) Pleno sol; C) Aluminet 40%; D) Aluminet 80%.