Rendimento de óleo essencial de Salvia officinalis L. sob ação de reguladores vegetais

Juliana Aparecida Povh* e Elizabeth Orika Ono

¹Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Cx. Postal 510, 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. * Autor para correspondência. e-mail: japovh@hotmail.com

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes reguladores vegetais no rendimento do óleo essencial de plantas de *Salvia officinalis* L. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, consistindo em cinco tratamentos com três repetições cada. Os tratamentos consistiram na aplicação de ácido giberélico (GA₃), benzilaminopurina (BAP) e ácido 2-cloroetil-fosfônico (ethephon) e Stimulate a 2%, comparados com plantas controle (água). A pulverização, via foliar, dos reguladores vegetais foram realizadas em três épocas, aos 15, 25 e 35 dias após o transplante de plântulas previamente germinadas em câmaras de germinação a 25°C e luz constante. A produção de massa seca da parte aérea e rendimento do óleo essencial foi avaliada aos 131 dias após o transplante. A parte aérea das plantas foi seca em estufa a 35°C determinando a massa seca e a extração do óleo foi realizada pelo método de hidrodestilação, determinando o volume de óleo. Plantas tratadas com GA₃ e Stimulate apresentaram incrementos no teor de óleo essencial, enquanto que as plantas tratadas com BAP e ethephon apresentaram diminuição no volume de óleo essencial comparado às plantas controle.

Palavras-chave: Lamiaceae, óleo essencial, reguladores vegetais, Salvia officinalis L.

ABSTRACT. Essential oil yield in *Salvia officinallis* L. under the action of plant growth regulators. This study aimed to evaluate the effect of different plant growth regulators on essential oil yield in *Salvia officinalis* L. plants. The experiment was held in a greenhouse and the experimental design was completely randomized, with 5 treatments and three replications. The Treatments consisted in the application of gibberellic acid (GA₃), benzylaminopurine (BAP), 2-chloroethyl phosphonic acid (ethephon), and Stimulate at 2%, compared with control plants (water). Applications of plant growth regulators were performed in three consecutive periods, in turn, 15, 25 and 35 days after transplanting of seeding germinating in the light at 25°C. The dry mass yield of the aerial part and the oil essential content were determined 131 days after the transplant. The aerial part of the plants was dried in an oven at 35°C; after dry mass determination, the oil was extracted by hydrodistillation and its volume was determined. Plants treated with GA₃ and Stimulate showed increase in essential oil content, while plants treated with BAP and ethephon showed decrease in essential oil volume when compared with the control plants.

Key words: Lamiaceae, essential oil, plant growth regulators, Salvia officinalis L.

Introdução

Salvia officinalis L., pertencente à família Lamiaceae, é uma planta originária do mediterrâneo e aclimatada na região Sul do Brasil. Conhecida popularmente como sálvia, é usada, principalmente, para fins medicinais e alimentícios. O cultivo dessa espécie tem grande importância econômica, devido à sua capacidade de produzir e armazenar óleo essencial cujos constituintes são utilizados em produtos de higiene bucal, fármacos, cosméticos e alimentos (Martins et al., 1998).

O óleo essencial de sálvia é obtido das folhas e

das unidades florais, tradicionalmente extraído por arraste de vapor com rendimento variando de 0,5% a 1,1%. Possui como principais componentes a α-tujona, cariofileno, 1,8-cineol, α-humuleno e cânfora (Guillen *et al.*, 1996). Esses compostos são biologicamente ativos e possuem ação tóxica e farmacológica (Duke, 2002). Lawrence *et al.* (1971) e Croteau e Karp (1976) relatam que o óleo essencial de sálvia tem a tujona e a cânfora como maiores componentes do óleo, cerca de 50 e 20%, respectivamente.

O valor comercial de plantas medicinais e aromáticas tem refletido qualitativa e

190 Povh e Ono

quantitativamente na produção de seu óleo. O óleo é um produto do metabolismo da célula vegetal, sendo a composição não estável e é dependente de diversos fatores que são regulados pelo metabolismo. A acumulação do óleo essencial depende das fases de desenvolvimento da planta. A origem da folha primordial, sua expansão, total maturação e baixa senescência são importantes para a produção de óleo de valor comercial. A ontogenia também afeta a composição do óleo.

O uso de reguladores vegetais está sendo muito utilizado na agricultura devido às suas influências positivas na quantidade e qualidade de produção. Pouco se conhece, porém, sobre os efeitos destas substâncias em plantas medicinais e aromáticas.

Alguns estudos têm mostrado que os reguladores vegetais têm sido muito utilizados em plantas medicinais visando à promoção de aumento no crescimento, na produtividade e alterações no metabolismo secundário, produzindo alterações quantitativas e qualitativas no óleo essencial (Shukla e Farooqi, 1990).

As giberelinas têm sido usadas para aumentar o crescimento e a produção de partes aéreas da planta (Shukla e Farooqi 1990). Estudos em diversas plantas medicinais demonstraram os efeitos do ácido giberélico (GA3) no aumento da altura da planta (El-Khateeb, 1989; Umesha et al., 1991; Mahmoud e Shetty, 1996; Singh e Mishra, 2001), área foliar (El-Salhar et al., 1984; Shedeed et al., 1990; Umesha et al., 1991; Mahmoud e Shetty, 1996), número de folhas (El-Salhar et al., 1984; Shedeed et al., 1990; Mahmoud e Shetty, 1996; Singh e Mishra, 2001), massa de matéria fresca e seca da planta (Shedeed et al., 1990; Umesha et al., 1991) e número de ramos secundários por planta (Farooqi et al., 1993). Outros estudos indicam que o GA3 promoveu acúmulo de óleo essencial em algumas espécies medicinais e aromáticas, sendo este aumento relatado por El-Khateeb (1989), que observou em plantas de Rosmarinus officinalis L. sob o efeito de GA3 aumento na produção de óleo essencial. Umesha et al. (1991), em plantas de Ocimum gratissimum L., também verificaram aumento na produção total de óleo essencial.

A aplicação de outros reguladores vegetais, como a citocinina, segundo El-Keltawi e Croteau (1987), promove o crescimento de *Mentha piperita*, *M. spicata e Salvia officinalis* e aumento na produção de óleo pela planta.

O etileno, quando usado em plantas medicinais, pode aumentar ou diminuir o teor de óleo essencial. Em *Mentha piperita*, o ethephon resultou em diminuição na produção de óleo essencial e na massa fresca. Em sálvia, o ethephon promoveu uma diminuição da matéria da massa seca, altura da planta e teor de óleo essencial (El-Keltawi e Croteau, 1986). Já Singh *et al.* (1999) relataram que plantas de *Mentha spicata* tratadas com ethephon apresentaram aumento no rendimento do óleo essencial comparado ao controle.

Apesar de diversos estudos demonstrarem que a aplicação de reguladores vegetais pode aumentar a produtividade vegetal e promover acúmulo ou diminuição de óleo essencial, a fisiologia de plantas medicinais é carente de informações sobre o desenvolvimento de várias espécies nativas ou cultivadas no Brasil. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar a produção de massa seca da parte aérea e rendimento do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. em plantas tratadas com diferentes reguladores vegetais.

Material e métodos

O experimento foi conduzido entre agosto e dezembro de 2003 em casa de vegetação com controle de temperatura e umidade relativa do ar, instalada no Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus de Botucatu, Estado de São Paulo.

As plantas foram obtidas de sementes já tratadas com Thiram (dissulfeto tetrametil – tiuram) previamente germinadas em câmara de germinação sob luz branca constante à temperatura de 25°C. A seguir, as plântulas com 21 dias foram transplantadas em vasos com capacidade de 4 litros, com terra corrigida (Calagem – 4,0 g vaso⁻¹ de calcáreo dolomítico) e adubada (400 mg vaso⁻¹, 6,8 g vaso⁻¹ da fórmula 4-14-8+Zn e 10% em volume de matéria orgânica). As plantas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas sempre que necessário. A temperatura máxima dentro da casa de vegetação, durante a condução do experimento, foi de 26°C e a mínima de 12°C.

Utilizaram-se cinco tratamentos, sendo quatro reguladores vegetais diferentes e estes comparados com plantas controle, conforme descrito abaixo:

- 1 controle (água);
- 2 ácido giberélico (GA₃) a 100 mg L⁻¹;
- 3 benzilaminopurina (BAP) a 100 mg L⁻¹;
- 4 ácido 2 cloroetil fosfônico (ethephon) a 100 mg L⁻¹;
- 5 ácido giberélico (GA₃) + cinetina (Kt) + ácido indolilbutírico (IBA) Stimulate[®] a 2%.

O ácido giberélico (GA₃) foi utilizado na forma do produto comercial Pro-Gibb contendo 10% de GA₃, da Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.; o benzilaminopurina (BAP) foi utilizado na forma do produto p.a. da Sigma; o ácido 2-cloroetil-fosfônico (ethephon) foi utilizado na forma do produto comercial Ethrel contendo 240 g de ácido 2-cloroetil-fosfônico por litro do produto, fabricado pela Rhodia Agro S. A.; a mistura de ácido giberélico (GA₃) + cinetina (Kt) + ácido indolilbutírico (IBA) foi utilizada na forma do produto comercial Stimulate® contendo 90 mg de cinetina (Kt), 50 mg de IBA e 50 mg de GA₃ por litro do produto, fabricado pela Stoller do Brasil S. A.

As pulverizações, via foliar, foram realizadas com pulverizador manual, adicionando-se espalhante adesivo não iônico (alquil-fenol-poliglicoléter), ou seja, o produto comercial Extravon na dose de 0,5 mL L⁻¹ de solução, fabricado pela Ciba – Geigy Química S. A.

Os tratamentos foram aplicados três vezes: a primeira 15 dias após o transplante das plantas para os vasos; a segunda e a terceira aplicações foram realizadas 10 e 20 dias após a primeira, respectivamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, consistindo de cinco tratamentos e três repetições. A coleta para obtenção de massa seca e extração do óleo essencial foi realizada aos 131 dias após o transplante (D. A. T.).

As plantas foram coletadas e a massa fresca total da parte aérea, constituída por caules e folhas mais pecíolos, foi determinada em uma única época de colheita (aos 131 D. A. T.). Para determinação da massa seca total da parte aérea, o material foi levado para secagem em estufa de aeração forçada, à temperatura de 35°C (o óleo essencial é volátil em temperaturas superiores), até obtenção de massa seca constante. A seguir, o material seco foi submetido a hidrodestilação, utilizando-se aparelho tipo Clevenger, durante duas horas para extração do óleo, possibilitando o cálculo de seu rendimento, em mL 100 g-¹ de massa seca (MS).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey, utilizando-se o nível de 5% de significância.

Resultados e discussão

O volume de óleo essencial em plantas de sálvia submetida aos diferentes tratamentos com reguladores vegetais pode ser observado na Figura 1.

De maneira geral, plantas tratadas com GA_{3,} seguida do stimulate, apresentaram maior teor de óleo essencial, enquanto que as plantas tratadas com BAP e ethephon apresentaram menor teor de óleo essencial comparado às plantas controle.

A comparação de médias entre tratamentos revela

que o volume de óleo essencial extraído de 100 gramas de massa seca das plantas submetidas aos diferentes tratamentos apresentou diferença altamente significativa ($F < 0.0004 \star \star$), indicando que plantas tratadas com GA_3 apresentaram maior aumento na produção de óleo essencial comparado com os outros tratamentos e controle, exceto o stimulate que foi estatisticamente igual ao GA_3 .

Esse aumento promovido pelo GA₃ pode ter ocorrido em resposta aos efeitos que este regulador vegetal tem sobre o crescimento das plantas, promovendo alongamento caulinar e aumento no número de ramificações (Taiz e Zeiger, 2002). Além disso, neste estudo foi observado que o GA₃ promoveu aumento na formação de folhas.

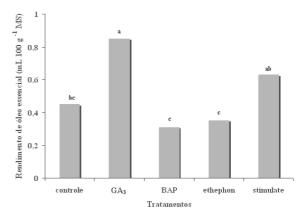


Figura 1. Efeito da aplicação foliar de GA₃, BAP, ethephon e stimulate no volume de óleo essencial (mL 100 g⁻¹ MS) de *Salvia officinalis* L., aos 131 dias após o transplante. Letras iguais indicam que os valores não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey (C.V. = 19,43 e D.M.S. = 0,27).

Os resultados encontrados neste trabalho assemelham-se aos encontrados por El-Khateeb (1989) que também observou aumento na altura da planta e produção de óleo essencial com a aplicação de GA₃ na concentração de 50 mg L⁻¹em plantas de *Rosmarinus officinalis* L. Umesha *et al.* (1991), estudando plantas de *Ocimum gratissimum* L., verificaram aumento na altura da planta, comprimento do entrenó e produção de óleo essencial com a aplicação foliar de GA₃ na concentração de 100 mg L⁻¹.

Já Mahmoud e Shetty (1996) relataram que a aplicação de GA_3 em *Ocimum basilicum* L. estimulou o crescimento vegetal, como a altura da planta, porém diminuiu o teor de óleo essencial (0,18% comparado com 0,21% do controle).

O aumento no rendimento de óleo essencial promovido em plantas tratadas com stimulate pode ser explicado pela interação entre a mistura de reguladores vegetais (ácido giberélico + cinetina + 192 Povh e Ono

ácido indolilbutírico). Vários estudos indicam que o GA_3 promove aumento no teor de óleo.

Outros estudos demonstram que a aplicação do ácido indolil-3-acético e cinetina promoveram inibição no crescimento da planta, resultando em uma diminuição na massa fresca e seca em plantas de Ocimum basilicum L., porém estes reguladores vegetais promoveram aumento na produção de óleo essencial comparado a plantas controle (0,24 e 0,27%, respectivamente). (Mahmoud e Shetty, 1996). Segundo El-Keltawi e Croteau (1987), a aplicação foliar de citocinina promoveu aumento na produção de óleo em plantas de Mentha piperita, M. spicata e Salvia officinalis. Relatam, ainda, que o aumento observado na produção de óleo pela planta é atribuído, em parte, ao crescimento induzido pela citocinina.

Com relação ao ethephon, El-Keltawi e Croteau, (1986) relatam a influência deste regulador em Mentha piperita com a aplicação foliar de 125, 250, 500 e 1.000 mg L-1 demonstrando que, com exceção da concentração de 125 mg L-1, todas as concentrações resultaram em diminuição produção de óleo essencial e na massa fresca, da mesma forma que no presente experimento. No entanto, em sálvia, o tratamento com ethephon nas mesmas concentrações resultou em aumento no teor do óleo essencial, porém diminuição de 20-30% da massa seca e altura da planta nas concentrações 200, 250 e 1.000 mg L⁻¹. Já Rao et al. (1997) relatam que a aplicação foliar de ethephon em Geranium promoveu aumento na produção de biomassa e nas substâncias químicas do óleo. Singh et al. (1999) também relatam aumento significativo no teor de óleo essencial em plantas de Mentha spicata tratadas com ethephon.

A produção de óleo essencial em plantas da família Lamiaceae está associada com a presença de estruturas secretoras especializadas denominadas tricomas glandulares (Fahn, 1979). Alguns pesquisadores já descreveram os tipos de tricomas glandulares encontrados em plantas de *Salvia officinalis* L. (Croteau *et al.*, 1984). São escassos, porém, estudos que relacionam reguladores vegetais com estas estruturas secretoras (Bosabalidis e Exarchou, 1995).

Portanto, com os resultados encontrados neste trabalho, pode-se inferir que os reguladores vegetais exerceram forte influência sobre a produção de óleo essencial, sendo que plantas tratadas com GA₃ e o produto stimulate promoveram aumento e BAP e ethephon diminuição. Futuros experimentos envolvendo os efeitos destas substâncias no desenvolvimento dos tricomas glandulares e na

composição do óleo poderão contribuir para o conhecimento mais acurado dos efeitos dos reguladores vegetais na produção de óleo essencial em espécies de *Salvia officinalis* L.

Conclusão

O regulador vegetal GA₃ promoveu aumento no rendimento de óleo essencial de plantas de *Salvia officinalis* L. comparados a plantas controle, enquanto que BAP e ethephon diminuíram. O produto comercial Stimulate tem ação intermediária.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Referências

BOSABALIDIS, A.M.; EXARCHOU, F. Effect of NAA and GA₃ on leaves and glandular trichomes of origanum x intercendens Rech.: morphological and anatomical features. *Int. J. Plant Sci.*, Chicago, v. 156, p. 488-495, 1995.

CROTEAU. R.; KARP, F. Biosynthesis of monoterpenes: enzymatic conversion of nerly pyrophosphate to 1,8-cineole, α-terpienol, and cyclic monoterpene hydrocarbons by a cell-free preparation from sage (*Salvia officinalis*). *Arch. Biochem. Biophys.*, Washington, D.C., v. 176, p. 734-746, 1976.

CROTEAU, R. et al. Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*). *Plant. Physiol.*, Washington, D.C., v. 76, p. 148-150, 1984.

DUKE, J.A. Biologically: active compounds important spices. *Egypt. J. Hortic.*, Cairo, v. 27, n. 4, p. 459-478, 2002. EL-KELTAWI, N.E.; CROTEAU, R. Influence of ethephon and daminozid on growth and essential oil content of peppermint and sage. *Phytochemistry*,

EL-KELTAWI, N.E.; CROTEAU, R. Influence of foliar applied cytokinins on growth and essential oil content of several members of Lamiaceae. *Phytochemistry*, Washington, D.C., v. 26, p. 891-895, 1987.

Washington, D.C., v. 25, n. 6, p. 1285-1288, 1986.

EL-KHATEEB, M.A. Effect of some growth regulators on the vegetative growth and essential oil of *Rosmarimus officinalis* L. plant. *Bull. Fac. Agric.*, Cairo, v. 40, n. 2, p. 333-346, 1989.

EL-SALHAR, K.F. *et al.* Effect of gibberelic acid (GA₃) on some botanical and chemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum L.*). *Ann. Agric. Sci.*, Cairo, v. 29, n. 1, p. 401-414, 1984.

FAHN, A. Secretory tissues in plants. New York: Academic Press, 1979.

FAROOQI, A.A. et al. Effect of some growth regulators and pinching on growth, yield and essencial oil content of davana (Artemisia pallens Wall). Indian Perfum., India, v. 37,

n. 1, p. 19-23, 1993.

GUILLEN, M.D. *et al.* Characterization of the essential Oliz of some cultivated aromatic plants of industrial interest. *J. Sci. Food Agric.*, Oxford, v. 70, p. 359-363, 1996.

LAUWRENCE, B.M. et al. Les huiles essentials et leurs constituents. IV. Quelques nouveaux constituents à I état de traces dans l'huile essentiale de *Salvia officinalis* L. *Parfums Cosmet. Savons Fr.*, Paris, v. 1, p. 256-259, 1971.

MAHMOUD, S.E.D.M.; SHETTY, K. Response of growth and essential oil content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) to some natural hormones. *Acta Hortic.*, I.S.H.S., v. 426, p. 629-634, 1996.

MARTINS, E.R. et al. Plantas medicinais. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1998.

RAO, E.V.S.P. *et al.* Growth, biomass production and essential oil profile of rose-scented *geranium* (Pelargonium species) as influenced by plant growth regulators. *Pafai. J.*, Índia, v. 19, p. 11-14, 1997.

SHEDEED, M.R. *et al.* Physiological studies on the growth, oil yield and chemical constituintes in basil plant, *Ocimum basilicum* L. *Ann. Agric. Sci.*, Cairo, v. 35, p. 971-79, 1990.

SHUKLA, A.; FAROOQI, A.H.A.E. Review: utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. *Curr. Res. Med. Aromat. Plants*, India, v. 12, n. 3, p. 152-177, 1990

SINGH, P.; MISHRA, A. Influence of giberellin and ethrel on growth, chlorophyll content, protein, enzyme activities and essential monoterpene oil in an efficient genotype of *Mentha spicata* var. MSS5. *J. Medic. Arom. Plant Sci.*, Índia, v. 22-23, n. 4A-1A, p. 283-6, 2001.

SINGH, P. et al. Influence of etherel and gibberellic acid on carbon metabolism, growth, and essential oil accumulation in speamint (*Mentha spicata*). *Photosynthetica*, Prague, v. 36, n. 4, p. 509-517, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant plysiology*. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.

UMESHA, K. et al. Effect of gibberellic acid and cycocel on growth, yield and quality of clocimum (Ocimum gratissimum L.). Indian Perfum., Índia, v. 35, p. 53-57, 1991.

Received on June 29, 2006. Accepted on September 06, 2006.