

Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae)

MAIANA R. PIMENTA¹, LEONARDO S. FERNANDES¹, UANDERSON J. PEREIRA¹,
LEONARDO S. GARCIA¹, STEVEEN R. LEAL¹, SUZANA G. LEITÃO³, FÁTIMA R. G.
SALIMENA¹, LYDERSON F. VICCINI² e PAULO H. P. PEIXOTO^{1,4}.

(recebido: 22 de dezembro de 2005; aceito: 15 de março de 2007)

ABSTRACT – (Flowering, germination and rooting of cuttings of *Lippia* L. (Verbenaceae)). *Lippia* species from Cadeia do Espinhaço (MG, Brazil), were collected and established at the Botanical Experimental Station, Juiz de Fora, MG. The flowering of plants was evaluated in both natural and controlled conditions. Germination test was accomplished with seeds obtained from natural conditions. The rooting of cuttings was evaluated in plants cultivated in the Botanical Experimental Station. The majority of species blossomed either in the dry or in the rainy seasons. Only one species blooms in both seasons. At controlled conditions, the flowering period increased in species that flourish in the summer. Some species presented better germination with fresh collected seeds while others when the seeds were stored, evidencing both viability loss and seed dormancy. GA₃ stimulates the germination in some species, while it inhibited or not influenced on others. Some species germinate better in the darkness, while others under white light. Some of them germinate in the light or in the darkness. Adventitious roots formation in cuttings of wild species was very low and did not vary in response to season variation and auxin concentration. On the other hand, rooting of cuttings of *L. alba* (Mill.) N.E. Br. varied in response both to season variation and to auxin types and concentration. This is the first report on physiological reproductive aspects of endemic *Lippia* species from the Cadeia do Espinhaço. The results indicate the possibility to use seeds in the propagation of wild *Lippia* species and, they also show that reproduction through conventional vegetative propagation techniques presents quite reduced efficiency.

Key words - preservation, propagation, rooting

RESUMO – (Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae)). Plantas de dez espécies de *Lippia* foram coletadas na Cadeia do Espinhaço, MG, Brasil e cultivadas em canteiros em Juiz de Fora, MG. A época de florescimento das espécies de *Lippia* foi observada nos ambientes de origem e em canteiro. A germinação foi testada com sementes coletadas em ambiente natural. Os materiais estabelecidos *ex situ* foram avaliados quanto ao enraizamento de estacas. As análises das plantas em ambiente natural e das cultivadas em canteiro evidenciaram que a maioria das espécies estudadas apresenta floração no período seco (inverno), enquanto um menor número, no chuvoso (verão). Uma única espécie floresceu nessas duas estações. Em cultivo controlado, o período de floração das espécies com floração característica no verão foi aumentado. Algumas espécies germinaram melhor quando recém coletadas enquanto outras quando armazenadas, evidenciando a ocorrência de perda de viabilidade e de dormência. O GA₃ estimulou a germinação em algumas espécies, enquanto inibiu ou não apresentou efeitos sobre outras. Sementes de algumas espécies germinaram melhor no escuro, enquanto de outras sob luz branca, existindo ainda espécies que germinaram tanto na luz quanto no escuro. O enraizamento das estacas das espécies não domesticadas de *Lippia* foi muito baixo, independente da estação do ano e da concentração da auxina. O enraizamento em estacas de *L. alba* (Mill.) N.E. Br. variou em resposta à época de coleta das estacas e quanto ao tipo e à concentração das auxinas utilizadas. Os resultados do presente trabalho constituem os primeiros relatos envolvendo a reprodução de espécies de *Lippia* endêmicas da Cadeia do Espinhaço. Eles indicam a possibilidade de utilização das sementes na propagação das plantas desse gênero e também evidenciam que a reprodução das plantas das espécies não domesticadas de *Lippia* através de técnicas convencionais de propagação assexuada apresenta eficiência bastante reduzida.

Palavras-chave - enraizamento, preservação, propagação

1. Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, CEP 36.036-900 Juiz de Fora, MG, Brasil.
2. Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, CEP 36.036-900 Juiz de Fora, MG, Brasil.
3. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Produtos Naturais e Alimentos, Bloco A, 2º andar, Ilha do Fundão, 21941-590 Rio de Janeiro, Brasil.
4. Autor para correspondência: paulo.peixoto@ufjf.edu.br

Introdução

As Verbenaceae constituem uma família de plantas presentes em praticamente todos os ecossistemas terrestres, sendo uma das cinco mais importantes entre as eudicotiledôneas dos campos rupestres (Giulietti *et al.* 1987). O gênero *Lippia* reúne aproximadamente 254 taxa, incluindo espécies e variedades, a maioria concentrada no Brasil, Paraguai e Argentina, havendo

poucas espécies endêmicas na África. No Brasil, os principais centros de diversidade específica desse gênero estão localizados na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais, e na Chapada Diamantina, na Bahia (Salimena 2002).

Na Cadeia do Espinhaço, os riscos de extinção de algumas espécies são elevados em decorrência da destruição dos seus ambientes pela ação de mineradoras e garimpos, atividades comuns na região (Menezes & Giuliatti 1986). Na Cadeia do Espinhaço ocorrem várias espécies de *Lippia*, entre elas *L. florida* Cham., *L. hermannioides* Cham., *L. lupulina* Cham., *L. sidoides* Cham., *L. lasiocalycina* Schauer, *L. diamantinensis* Glaz., *L. hederæfolia* Mart. & Schauer, *L. rosella* Moldenke, *L. rhodocnemis* Mart. & Schauer, *L. rotundifolia* Cham. e *L. pseudo-thea* Schauer. Com exceção das cinco primeiras, que têm distribuição mais ampla, as demais são endêmicas da Cadeia do Espinhaço, sendo *L. rhodocnemis* uma espécie criticamente ameaçada de extinção (Fundação Biodiversitas 2005).

Diversas espécies do gênero *Lippia* apresentam propriedades medicinais comprovadas. Os constituintes químicos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br., por exemplo, têm ação sedativa, antiespasmódica e estomáquica (Gomes *et al.* 1993). O extrato aquoso de *L. sidoides* é dotado de acentuado efeito antisséptico, antiinflamatório e cicatrizante (Pascual *et al.* 2001). *L. multiflora* Moldenke tem ação eficaz contra malária (Valentin *et al.* 1995) e no tratamento da hipertensão (Noamesi 1977). *L. dulcis* Trevir. (= *Phyla dulcis* (Trevir.) Moldenke) é principalmente usada no tratamento da tosse e bronquite (Compadre *et al.* 1986). Na lista de espécies elaborada pela Central de Medicamentos (CEME) para o Programa de Pesquisas em Plantas Medicinais (PPPM) do Ministério da Saúde (Ferreira *et al.* 1998) encontram-se citadas *L. alba* (Mill.) N.E. Br., *L. sidoides* Cham. e *L. gracilis* Schauer, sendo que as duas primeiras ocorrem na Cadeia do Espinhaço.

Embora a importância medicinal, bioquímica e ornamental das diversas espécies de *Lippia* seja relatada na literatura (Pascual *et al.* 2001), poucos trabalhos foram realizados empregando métodos de propagação vegetativa *in vivo* (Vega & Rodriguez y Pacheco 1982, Ming *et al.* 1996, Ehlert *et al.* 2002) e/ou *in vitro* (Juliani *et al.* 1999, Passera & Ambrosetti 1999, Zhang *et al.* 2005). Estudos de germinação de sementes em espécies de *Lippia* são inexistentes na literatura, o que contrasta com a importância e a intensa

utilização dessas plantas na fitoterapia e na medicina popular.

Visando ampliar as informações relacionadas à propagação de espécies de *Lippia*, o presente trabalho teve por objetivos determinar a época de floração das plantas e estudar alguns fatores envolvidos na germinação das sementes e no enraizamento de estacas de dez espécies de *Lippia* não domesticadas e endêmicas da Cadeia do Espinhaço, bem como no enraizamento de quatro quimiotipos cultivados de *L. alba*.

Material e métodos

Material vegetal – Os materiais vegetais utilizados nos experimentos consistiram de dez espécies não domesticadas de *Lippia* coletadas na Cadeia do Espinhaço, MG, Brasil (18°14'48"S - 43°36'6"W e 19°27'47"S - 43°33'10"W), de três quimiotipos cultivados de *L. alba* (Mill.) N.E.Br., disponibilizados pelo Departamento de Produtos Naturais e Alimentos da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), e de um quimiotipo cultivado de *L. alba*, estabelecido na Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Os dados climáticos e de georeferenciamento das coletas estão apresentados na tabela 1. Os três quimiotipos de *Lippia alba* foram selecionados em função das diferenças observadas na constituição química dos terpenóides majoritários isolados a partir de seus óleos essenciais: citral, no quimiotipo I, carvona, no quimiotipo II, linalol, no quimiotipo III, e geranial, no quimiotipo IV (Schwartz 2003). As plantas das dez espécies não domesticadas de *Lippia* foram estabelecidas na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da UFJF (21°45'51"S - 43°21'1"W), localizada em Juiz de Fora, MG, a partir de xilopódios ou de sementes, sendo mantidas em canteiros com mistura de areia:terra de subsolo:esterco bovino curtido, na proporção 3:1:0,5 (v/v). Nos períodos de estagem, os canteiros onde as plantas eram mantidas sofreram regas, até próximo à capacidade de campo, pelo menos duas vezes por semana. As plantas estabelecidas em canteiros foram utilizadas como fontes de estacas para os experimentos de enraizamento, bem como para a determinação do período de floração das espécies não domesticadas de *Lippia* em condições de cultivo. Nos experimentos de germinação foram utilizadas sementes coletadas em frutos de plantas estabelecidas em condições naturais na Cadeia do Espinhaço. Período de floração – A ocorrência de florescimento em plantas das espécies não domesticadas de *Lippia* foi registrada durante as campanhas de campo realizadas na Cadeia do Espinhaço nos anos de 2000 a 2004, sempre nos meses de janeiro ou fevereiro (verão) e de agosto ou setembro (inverno). As espécies foram consideradas em florescimento somente quando mais do que 90% dos

exemplares nas populações observadas encontravam-se com botões florais abertos. O número de indivíduos considerados para a determinação dos percentuais variou conforme a espécie, sendo amostrado um mínimo de 15-25 indivíduos em cada população. Para as espécies de *Lippia* mantidas sob cultivo em canteiro, a duração do período de floração foi registrada mensalmente nos anos de 2000 a 2004. As espécies foram consideradas em florescimento somente quando todos os exemplares (n=8-15) nos canteiros encontravam-se com botões florais abertos.

Germinação – Foram conduzidos três experimentos de germinação de sementes. No primeiro, foram utilizadas sementes recém-coletadas em frutos de *Lippia corymbosa* Cham., *L. diamantinensis* Glaz., *L. filifolia* Mart. & Schauer, *L. florida* Cham., *L. glandulosa* Schauer, *L. hermannioides* Cham., *L. lupulina* Cham., *L. rosella* Moldenke, *L. rotundifolia* Cham. e *L. sidoides* Cham., provenientes de plantas encontradas em ambiente natural e germinadas sob luz branca. No segundo experimento, as sementes dessas mesmas espécies e procedência foram previamente armazenadas por 60 dias em refrigerador (± 10 °C), em frascos de vidro hermeticamente fechados. As sementes foram germinadas sob luz branca e em presença de soluções de ácido giberélico (GA_3) nas concentrações 0, 87, 174 e 261 μM . No terceiro experimento, foram avaliados os efeitos do escuro e da luz branca sobre a germinação

de sementes recém-coletadas em plantas de *L. filifolia*, *L. rotundifolia* e de *L. sidoides* estabelecidas em ambiente natural.

Em todos os três experimentos, a desinfecção superficial das sementes consistiu na sua imersão em água sanitária comercial (2% de cloro ativo), durante 15 minutos, sob agitação. Foram utilizadas amostras de 100 sementes por tratamento, distribuídas em 5 repetições com 20 sementes. As sementes foram germinadas em caixas gerbox forradas com duas folhas de papel de filtro umedecidas com 10 mL de água destilada ou com solução de GA_3 . Quando necessário, o volume das soluções nas caixas gerbox foi complementado com água. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em câmara de germinação sob fotoperíodo de 16h, temperatura de 26/20 °C (dia/noite) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de 150 $\mu moles$ fótons $m^{-2}s^{-1}$ produzida por lâmpadas fluorescentes branca-fria de 40W. Ao final de 20 dias, o percentual total de sementes germinadas (x) foi registrado e os valores obtidos foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$, sendo submetidos à análise de variância (*one-way*) e comparados pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade.

Enraizamento – As estacas utilizadas nos experimentos de enraizamento foram coletadas de plantas das espécies de *Lippia* procedentes da Cadeia do Espinhaço, cultivadas

Tabela 1. Normal climatológica e coordenadas geográficas dos locais de coleta das espécies de *Lippia* utilizadas nos experimentos. ¹T = Temperatura atmosférica média; IP = Índice pluviométrico médio anual. ²Herbário CESJ/UFJF, Juiz de Fora, MG.

Table 1. Climatologic normal and georeference collection points of *Lippia* species used in the experiments. ¹T = Atmosphere temperature average; IP = Pluviometric annual average index. ²Herbarium CESJ/UFJF, Juiz de Fora, MG.

Local de coleta	Normal climatológica ¹	Coordenadas geográficas			Espécie	Registro ²
		Altitude	Latitude	Longitude		
Rio de Janeiro, RJ	T: 25,1 °C IP: 977 mm	2m	22°54'10"S	43°12'27"W	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br.:	
					- quimiotipo I	39.358
					- quimiotipo II	39.361
					- quimiotipo III	39.359
Juiz de Fora, MG	T: 19,4 °C IP: 1553 mm	695m	21°45'51"S	43°21'1"W	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br.:	
					- quimiotipo IV	32.324
Diamantina, MG	T: 18,1 °C IP: 1404 mm	1262m	18°14'48"S	43°36'6"W	<i>Lippia corymbosa</i> Cham.	34.741
					<i>Lippia diamantinensis</i> Glaz.	34.734
					<i>Lippia filifolia</i> Mart. & Schauer	34.740
					<i>Lippia glandulosa</i> Schauer	34.744
					<i>Lippia lupulina</i> Cham.	34.742
					<i>Lippia rosella</i> Moldenke	34.746
					<i>Lippia rotundifolia</i> Cham.	34.338
Jaboticatubas, MG	T: 18,3 °C IP: 1500 mm	794m	19°27'47"S	43°33'10"W	<i>Lippia florida</i> Cham.	34.738
					<i>Lippia hermannioides</i> Cham.	34.739
					<i>Lippia sidoides</i> Cham.	37.737

previamente em canteiros, e dos quatro quimiotipos cultivados de *L. alba*. O enraizamento das estacas das espécies não domesticadas de *Lippia* e do quimiotipo IV de *L. alba* foi avaliado no verão (dezembro-janeiro) e no inverno (julho-agosto) de 2000. Como agente promotor de enraizamento foi utilizado o ácido indol-butírico (AIB). Nas duas estações foram testadas as concentrações de 0, 74, 148, 222 e 296 μM de AIB. No experimento realizado no verão foram utilizadas estacas de *L. alba* (quimiotipo IV), *L. filifolia*, *L. glandulosa*, *L. hermannioides*, *L. rosella*, *L. rotundifolia* e *L. sidoides*. No inverno, por indisponibilidade de material vegetal, estacas de *L. filifolia* e de *L. rosella* não foram utilizadas.

Em 2001, os quatro quimiotipos de *L. alba* foram submetidos a dois experimentos. No primeiro (verão), as estacas foram submetidas ao tratamento com AIB. No segundo (inverno), as estacas do mesmo material vegetal foram induzidas ao enraizamento em presença de AIB, de ácido naftaleno-acético (ANA), de ácido indol-acético (AIA) ou de ácido 2,4-dicloro-fenóxi-acético (2,4-D). Nos dois experimentos com os quimiotipos de *L. alba*, para cada uma das fontes de auxina, foram utilizadas as mesmas concentrações testadas no experimento realizado no ano de 2000 com as espécies não cultivadas de *Lippia*.

Em todos os experimentos de enraizamento foram utilizadas 20 estacas apicais (herbáceas ou semi-herbáceas) por tratamento. As estacas, coletadas em plantas que já haviam apresentado pelo menos um evento reprodutivo, mediam aproximadamente 15 cm de comprimento, 0,5 cm de diâmetro e apresentavam, no mínimo, duas gemas. Em todos os experimentos, a aplicação das diferentes fontes de auxinas foi realizada pelo método da imersão lenta (Hartman *et al.* 2002), com 5 repetições. Após 24h de imersão, as estacas foram transferidas para sistema de hidroponia, contendo água destilada, sob aeração constante, sendo mantidas em ambiente controlado com fotoperíodo de 16h, temperatura de 26/20 °C (dia/noite) e luminosidade de 150 μmoles de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ao final de 20 dias, o número de raízes adventícias formadas por estaca (x) foi registrado. Os valores encontrados foram transformados para $\sqrt{x+1,0}$ sendo submetidos à análise de variância (*one-way*). As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Época de floração – As normais climatológicas e os dados de georreferenciamento dos locais de observação da época de floração das diferentes espécies de *Lippia* podem ser observados na tabela 1. Na Cadeia do Espinhaço, plantas de *L. corymbosa* Cham., *L. diamantinensis* Glaz., *L. filifolia* Mart. & Schauer, *L. glandulosa* Schauer, *L. hermannioides*

Cham. e *L. sidoides* Cham. foram observadas em estágio reprodutivo somente nas coletas realizadas na estação chuvosa (verão) (tabela 2). Por sua vez, o florescimento em plantas de *L. florida* Cham., *L. rosella* Moldenke e *L. rotundifolia* Cham. foi observado somente nas coletas realizadas no inverno/primavera (estação seca) (tabela 2). Em condições naturais, nos quatro anos de observações em campo, nenhuma planta dessas espécies foi observada em estágio reprodutivo fora da sua estação característica de florescimento. Nas visitas de campo realizadas nos anos de 2000 a 2004, *L. lupulina* Cham. foi a única espécie que foi observada em florescimento tanto no verão quanto no inverno (tabela 2).

As espécies que em condições naturais se caracterizaram por apresentarem florescimento no verão, também apresentaram reprodução nessa estação sob cultivo em canteiro (tabela 2). Todavia, ao contrário do comportamento das plantas dessas espécies em ambiente natural, a produção de flores nas plantas cultivadas em canteiros foi observada desde o verão até o início da primavera. Uma única exceção foi *L. glandulosa* Schauer, espécie que em condições de canteiro apresentou florescimento apenas até o mês de abril. As espécies que na Cadeia do Espinhaço apresentavam florescimento característico no inverno, também mantiveram a produção de flores nessa estação sob cultivo em canteiro, sendo o início do processo verificado a partir do mês de maio e o seu término, no máximo, no mês de novembro. Nenhuma planta dessas espécies apresentou florescimento durante o verão mesmo quando cultivadas em canteiro (tabela 2).

O prolongamento do período de florescimento das espécies de *Lippia* com reprodução característica no verão, quando cultivadas em canteiro, pode estar relacionado à maior taxa pluviométrica (1.553 mm ano^{-1}) e, principalmente, à maior temperatura média anual (19,4 °C) registradas na região de Juiz de Fora (tabela 1). Além disso, o fornecimento de água em canteiro foi realizado ao longo de todo o ano, com pelo menos duas regas semanais nos períodos de estiagem, o que não ocorre em ambiente natural, onde as plantas estão sujeitas às variações sazonais da disponibilidade de água, geralmente baixa durante o inverno (Menezes & Giulietti 1986, Giulietti *et al.* 2000). Para as espécies com estágio reprodutivo característico no inverno, o período de florescimento em canteiro não prolongou tanto quanto o observado para as espécies que reproduzem no verão. Mesmo com o fornecimento adicional de água e com a maior temperatura média

em condições de canteiro, o término do período de floração dessas espécies ocorreu antes mesmo do início do verão. Provavelmente, a duração do período de floração dessas espécies em condições de campo também é menor do que a das espécies que reproduzem tipicamente no verão. Estudos fenológicos realizados em ambiente natural com essas espécies poderão esclarecer essa possibilidade.

Germinação – Os percentuais de germinação das sementes de *Lippia* coletadas em plantas estabelecidas na Cadeia do Espinhaço variaram bastante. Na ausência de GA₃, sementes recém-coletadas de *L. florida*, *L. hermannioides*, *L. rosella* e de *L. sidoides* apresentaram maiores percentuais de germinação que as armazenadas a ±10 °C por 60 dias (tabela 3). Em contraste, o armazenamento das sementes de *L. diamantinensis* e de *L. filifolia* resultou em percentuais de germinação mais elevados que os observados com as sementes recém-coletadas. O GA₃ estimulou a germinação de sementes recém-coletadas de *L. hermannioides* e de *L. rotundifolia*. Para sementes armazenadas, o GA₃ estimulou, na concentração mais baixa, a germinação em *L. diamantinensis* e em *L. florida*. Sementes armazenadas de *L. hermannioides* germinaram melhor na presença de 174 µM de GA₃. Entretanto, o GA₃ provocou inibição da germinação das sementes de algumas espécies, tanto recém-coletadas quanto armazenadas (tabela 3).

Efeitos positivos da aplicação de giberelinas sobre a germinação de sementes são amplamente conhecidos (Felippe & Silva 1984, Ling *et al.* 2000, Simonovic *et al.* 2001, Baskin & Baskin 1998). A ação das giberelinas na germinação se manifesta logo após a embebição, promovendo o estímulo à síntese de proteínas relacionadas ao enfraquecimento do tegumento das sementes, bem como de enzimas que participam da quebra das reservas (Zaidan & Barbedo 2004). Contudo, tanto a insensibilidade quanto os efeitos inibitórios da adição de GA₃, bem como, a ineficiência desse regulador de crescimento em reverter a inibição da germinação já foram descritos na literatura para as sementes de algumas espécies como *Cucumis anguria* L., *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. e *Echinacea angustifolia* DC. (Felippe *et al.* 1970, Dekkers *et al.* 2004, Macchia *et al.* 2001), por exemplo, o que dá suporte aos resultados observados no presente trabalho.

Sementes recém-coletadas de *L. diamantinensis* parecem apresentar dormência, uma vez que somente as armazenadas germinaram, fenômeno similar ao observado para sementes de algumas espécies de Cerrado como *Stylosanthes macrocephala* M. B. Ferreira & S. Costa, *Andira humilis* Mart. ex Benth., *Dipteryx alata* Vogel e *Eugenia desynerica* DC. (Felippe & Silva 1984), por exemplo. Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que as sementes recém-coletadas de *L. filifolia* encontravam-se

Tabela 2. Ocorrência de floração em plantas de *Lippia* mantidas em canteiro em Juiz de Fora, MG, em quatro anos de observação.

Table 2. Bloom of *Lippia* species maintained in stonemason in Juiz de Fora, MG, during four years of observation.

Espécie	Mês											
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
<i>L. corymbosa</i> ¹	X	X	X	X	X	X	X	X				
<i>L. diamantinensis</i> ¹	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
<i>L. filifolia</i> ¹	X	X	X	X	X	X	X	X				
<i>L. glandulosa</i> ¹	X	X	X	X								
<i>L. hermannioides</i> ¹	X	X	X	X	X	X	X	X				
<i>L. sidoides</i> ¹	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
<i>L. florida</i> ²						X	X	X	X	X	X	
<i>L. rosella</i> ²				X	X	X	X	X	X	X		
<i>L. rotundifolia</i> ²					X	X	X	X	X			
<i>L. lupulina</i> ³	X	X	X	X	X	X	X	X	X			

¹ Espécie com florescimento característico em estação úmida (verão) em ambiente natural;

² Espécie com florescimento característico em estação seca (inverno) em ambiente natural;

³ Espécie com florescimento tanto na estação úmida quanto na estação seca em ambiente natural.

¹ Species with characteristic bloom in humid season (summer) in a natural environment.

² Species with characteristic bloom in dry season (winter) in a natural environment.

³ Species with bloom in humid and in dry season in a natural environment.

dormentes quando foram coletadas, uma vez que a germinação das sementes armazenadas dessa espécie foi maior que a das recém-coletadas (Baskin & Baskin 1998). Por sua vez, as sementes de *L. lupulina* apresentavam dormência por um período superior aos 60 dias de armazenamento, uma vez que elas não germinaram após o armazenamento, embora tenham respondido positivamente ao teste de viabilidade do tetrazólio (dados não apresentados). Relatos envolvendo a ocorrência de dormência e/ou de imaturidade são conhecidos na literatura para sementes de Verbenaceae. Em *Verbena officinalis* L., por exemplo, a dormência das sementes pode ser eliminada pela técnica da estratificação (Braendel & Schuetz 2003). Mathew & Vasudeva (2003) observaram grande variação nos padrões de dormência e de germinação em sementes de *Tectona grandis* L.f., uma Verbenaceae arbórea em que a germinação ou a dormência dependem da idade das plantas as quais as sementes foram coletadas.

Os resultados referentes aos efeitos do escuro e da luz branca sobre a germinação de sementes recém-coletadas de *L. filifolia*, *L. rotundifolia* e *L. sidoides* são apresentados na tabela 4. Sementes de *L. filifolia* germinaram em percentuais mais elevados no escuro, enquanto que as sementes de *L. rotundifolia* germinaram mais intensamente em presença de luz e as sementes de *L. sidoides* germinaram em percentuais muito próximos, independente da condição testada. A comparação dos resultados apresentados nas tabelas 3 e 4 sugere que a exigência de escuro para a germinação das sementes de *L. filifolia* é eliminada pelo seu armazenamento, fato semelhante ao verificado por Noronha *et al.* (1976) para sementes de *Cucumis anguria*.

Os percentuais de germinação mais elevados observados no escuro e na presença de luz branca, respectivamente, para as sementes de *L. filifolia* e de *L. rotundifolia*, sugerem a ocorrência de fotoblastismo

Tabela 3. Efeitos do armazenamento e do ácido giberélico (GA₃) sobre a porcentagem de germinação de sementes de *Lippia* coletadas em plantas estabelecidas na Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil.

Table 3. Storage and gibberellic acid (GA₃) effects on the percentage of germination of *Lippia* seeds collected from plants established at Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brazil.

Espécie	Sementes recém-coletadas				Sementes armazenadas			
	GA ₃ (µM)				GA ₃ (µM)			
	0	87	174	261	0	87	174	261
<i>L. corymbosa</i>	50 a ¹ A ²	49 aA	52 aA	62 aA	45 aA	29 bB	21 bB	5 cB
<i>L. diamantinensis</i>	0	0	0	0	30 b	66 a	35 b	31 b
<i>L. filifolia</i>	22 aB	25 aB	21 aB	16 aB	80 aA	92 aA	53 bA	32 cA
<i>L. florida</i>	16 aA	0 bB	0 bA	0 bA	0 bB	24 aA	0 bA	0 bA
<i>L. glandulosa</i>	62 aA	0 bB	0 bB	0 bB	40 aA	53 aA	25 bA	37 abA
<i>L. hermannioides</i>	5 bA	7 bA	16 aA	22 aA	0 dB	5 cA	23 aA	12 bA
<i>L. lupulina</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>L. rosella</i>	22 a	0 b	0 b	0 b	0	0	0	0
<i>L. rotundifolia</i>	35 bA	39 abA	52 aA	50 aA	40 aA	12 bB	5 bB	7 bB
<i>L. sidoides</i>	80 aA	86 aA	92 aA	97 aA	20 aB	22 aB	15 aB	18 aB

¹ As letras minúsculas comparam as percentagens médias de germinação das sementes recém-coletadas ou das sementes armazenadas de cada espécie, em resposta às diferentes concentrações de GA₃. As médias com mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade;

² As letras maiúsculas comparam as percentagens médias de germinação entre sementes recém-coletadas e as sementes armazenadas de cada espécie, em cada uma das concentrações de GA₃. As médias com as mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

¹ The small letters compare the medium percentages of germination from recently-collected seeds or stored seeds of each species, in response to GA₃ concentrations. The averages followed by the same letters do not differ statistically by Duncan test at 5% of probability.

² The capital letters compare the medium percentages of germination from recently-collected seeds or stored seeds of each species, in response to GA₃ concentrations. The averages followed by the same letters do not statistically differ by Duncan test at 5% of probability.

e a participação do fitocromo no processo. Todavia, para a comprovação dessas possibilidades, a realização de experimentos com filtros específicos de radiação e envolvendo estudos de reversibilidade de resposta (Casal 2000, Takaki 2001) são fundamentais, o que não foi realizado no presente trabalho.

Enraizamento – Tanto no inverno quanto no verão, as estacas do quimiotipo IV de *L. alba* apresentaram maior enraizamento que as estacas das espécies não domesticadas de *Lippia*, para as quais a quantidade de

raízes formadas foi muito baixa, independente da época de avaliação e da concentração testada do AIB (tabela 5). Dessas espécies, apenas *L. hermannioides* apresentou enraizamento satisfatório no período de inverno, tendo respondido positivamente ao tratamento com o AIB na menor concentração. Efeitos significativos do AIB sobre o enraizamento foram observados para as estacas de *L. alba*, sendo que, no inverno, diferenças significativas entre a menor e a maior concentração não foram observadas.

Tabela 4. Efeitos do escuro e da luz branca sobre a porcentagem de germinação de sementes recém-coletadas em plantas de *L. filifolia*, *L. rotundifolia* e *L. sidoides* estabelecidas na Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil.

Table 4. Darkness and white light effects on the percentage of germination of freshly-collected seeds from *L. filifolia*, *L. rotundifolia* and *L. sidoides* established at Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brazil.

Faixa do espectro luminoso	Espécie		
	<i>L. filifolia</i>	<i>L. rotundifolia</i>	<i>L. sidoides</i>
Escuro	75 a ¹	3 b	56 a
Luz branca	27 b	29 a	62 a

¹ As médias de cada espécie (nas colunas) seguidas por mesmas letras, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

¹ The averages of each species (in the columns) followed by the same letters, do not statistically differ by Duncan test at 5% of probability.

Tabela 5. Efeitos da época de coleta e de diferentes concentrações de ácido indol butírico (AIB) sobre o número médio de raízes formadas em estacas de *Lippia* coletadas em plantas mantidas em canteiros.

Table 5. Season and indol butiric acid (IBA) concentrations effects on the average roots number from *Lippia* cuttings collected in plants maintained in stonemasons.

	Verão					Inverno				
	AIB (µM)					AIB (µM)				
	0	123	246	369	492	0	74	148	222	296
<i>L. alba</i> (Quim. IV)	17,1 b ¹	13,8 b	29,6 a	35,8 a	39,4 a	4,2 b	20,6 a	20,3 a	25,3 a	28,5 a
<i>L. filifolia</i>	0,0 a	0,76 a	0,0 a	0,93 a	0,39 a	-	-	-	-	-
<i>L. glandulosa</i>	0,0 a	0,49 a	0,98 a	0,12 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	1,19 a	0,0 a
<i>L. hermannioides</i>	0,29 b	4,47 a	0,77 b	0,12 b	0,0 b	0,0 b	11,1 a	5,7 ab	0,46 b	0,69 b
<i>L. rosella</i>	0,0 a	0,0 a	0,25 a	0,0 a	0,25 a	-	-	-	-	-
<i>L. rotundifolia</i>	0,10 a	0,81 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>L. sidoides</i>	0,0 b	0,14 b	1,37 ab	3,84 a	0,12 b	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

¹ Em cada estação do ano, quando seguidos por mesmas letras, os números médios de raízes de cada espécie não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

- Enraizamento não avaliado por falta de material vegetal.

¹ In each season, the average root numbers of each species do not statistically differ by Tukey Test at 5% of probability, when followed by the same letters.

- Rooting was not analyzed due to lack of vegetable material.

A baixa capacidade de enraizamento observada em estacas das espécies não domesticadas de *Lippia* foi um fato inesperado, uma vez que efeitos positivos da adição de diferentes auxinas sobre o enraizamento adventício em estacas são conhecidos para outras Verbenaceae, incluindo *L. alba* (Vega & Rodriguez y Pacheco 1982, Ming *et al.* 1996, Palanisamy & Subramanian 2001, Sarma 2003). Contudo, dificuldades para a indução de enraizamento em estacas foram relatadas para *Premna mucronata* Roxb., uma Verbenaceae de uso medicinal. Bhutani (2003), trabalhando com essa espécie, teve que associar a técnica de alporquia à adição de AIB e ANA para obter enraizamento satisfatório, o que sugere a necessidade do emprego, em alguns casos, de técnicas mais complexas de propagação vegetativa para o sucesso do processo. Além disso, ao contrário do observado para *L. alba*, as espécies não domesticadas de *Lippia* utilizadas no presente trabalho, possivelmente necessitem da presença de algum cofator de enraizamento associado ao AIB e/ou a outras auxinas (Hartman *et al.* 2002), o que não foi avaliado no presente trabalho.

Ao contrário do observado para as espécies não cultivadas de *Lippia*, as estacas de *L. alba* responderam à adição das diferentes auxinas e à época de coleta das estacas (dados não mostrados). No verão, as estacas de todos os quimiotipos apresentaram enraizamento bastante elevado. Todavia, no inverno, o número de raízes adventícias formadas foi menor que o observado no verão, tanto na ausência quanto na presença das diferentes auxinas utilizadas. Nessa estação do ano, a redução na capacidade de enraizamento das estacas dos demais quimiotipos sugere a necessidade da adição de outras substâncias de natureza hormonal e/ou de cofatores de enraizamento, além da readequação das condições de manutenção das estacas durante o processo de enraizamento e/ou ainda, a identificação de uma época mais adequada para a coleta (Hartman *et al.* 2002, Sarma 2003). No inverno, o ANA e, principalmente o AIB, foram as auxinas mais eficientes na indução de rizogênese nas estacas dos diferentes quimiotipos. Em contraste, o AIA estimulou o enraizamento dos quimiotipos em menor intensidade, o que segundo Hartman *et al.* 2002, pode ser atribuído a sua estrutura química, mais propensa à ação catalítica causada pela ação das enzimas de degradação do AIA, naturalmente presentes nas estacas. Por sua vez, nenhum dos quimiotipos apresentou enraizamento na presença de

2,4-D, tendo sido observada a morte das estacas de todos os quimiotipos, o que pode ser decorrente da sua ação fisiológica característica que, mesmo em baixas concentrações, pode estimular a biossíntese de etileno e causar senescência em diversos tecidos (Grossmann 2000).

Nas condições avaliadas no presente trabalho, a propagação das espécies não cultivadas de *Lippia* por estaquia apresentou eficiência reduzida como alternativa para a produção e multiplicação em larga escala, o que contrasta com a facilidade de enraizamento observada para as estacas de *L. alba*, espécie cuja propagação vegetativa através de métodos convencionais é relatada em diversos trabalhos na literatura (Vega & Rodriguez y Pacheco 1982, Ming *et al.* 1996, Ehlert *et al.* 2002). Todavia, estudos evidenciando sucessos na propagação vegetativa *in vivo* de espécies não domesticadas de *Lippia* são raros (Verdonck *et al.* 2000), o que também contrasta com os diversos trabalhos utilizando o cultivo *in vitro* para a propagação de diferentes espécies de Verbenaceae (Juliani *et al.* 1999, Passera *et al.* 1999, Zhang *et al.* 2005). Esses fatos sugerem que a cultura de tecidos pode ser uma ferramenta alternativa à propagação vegetativa convencional para as espécies de difícil enraizamento, contribuindo de modo mais eficiente para a redução dos riscos de extinção das espécies endêmicas.

Agradecimentos – Os autores agradecem aos Programas PIBIC/CNPq/UFJF, PROBIC/FAPEMIG/UFJF e BIC/UFJF, pela concessão de bolsas; à FAPEMIG (CBB-2728/98) e à FINEP (CTInfra I), pelo financiamento do projeto de Pesquisa; à Dra. Patrícia Carneiro Lobo Faria, pelas sugestões durante a preparação do manuscrito; aos revisores dessa revista pelas sugestões apresentadas e incorporadas à versão final do artigo.

Referências bibliográficas

- BASKIN, C.C. & BASKIN, C.C. 1998. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, London.
- BHUTANI, K.K. 2003. Effect of auxins on the rooting and survival of air layers in *Premna mucronata*. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science 25:63-65.
- BRAENDEL, M. & SCHUETZ, W. 2003. Seasonal dormancy patterns and stratification requirements in seeds of *Verbena officinalis* L. Basic and Applied Ecology 4:329-337.
- CASAL, J.J. 2000. Phytochromes, cryptochromes, phototropin: photoreceptor interactions in plants. Photochemistry Photobiology 71:1-11.

- COMPADRE, C.M., ROBBINS, E.F. & KINGHORN, A.D. 1986. The intensely sweet herb, *Lippia dulcis* Trev.: historical uses, field inquiries, and constituents. *Journal Ethnopharmacology* 15:89-106.
- DEKKERS, B.J.W., SCHUURMANS, J.A.M.J. & SMEEKENS, S.C.M. 2004. Glucose delays seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 218:579-588.
- EHLERT, P.A.D., CHAVES, F.C.M., MING, L.C., SILVA, M.A.S., ZAMBORINE-NEMETH, E., CRAKER, L. & KOCK, O. 2002. Effect of substrata on the development of stem cuttings of *Lippia alba* (Mill.) N.E. BR. - limonene-carvone chemotype. *Acta Horticulturae* 576:259-262.
- FELIPPE, G.M. & SILVA, J.C.S. 1984. Estudos de germinação de espécies do cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 7:157-163.
- FELIPPE, G.M., GHERARDI, E., PENTEADO, L.B.K., ANNES, V.C.S. & SENE, C.M. 1970. Detecção de giberelinas durante a germinação de *Rumex obtusifolius* L. *Arquivos do Instituto Biológico* 37:177-187.
- FERREIRA, S.H., BARATA, L.E.S., SALLES, S.L.M., QUEIRÓZ, S.R.R., NETO, N.E.H., CORAZZA, R. & FARIAS, R. 1998. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. 2005. Lista da Flora Brasileira de Espécies Ameaçadas de Extinção. (http://www.biodiversitas.org.br/cepf/edital/flora_brasil.pdf).
- GIULIETTI, A.M., MENEZES, N.L., PIRANI, J.R., MEGURO, M. & WANDERLEY, M.G.L. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 9:1-151.
- GIULIETTI, A.M., HARLEY, R.M., QUEIROZ, L.P., WANDERLEY, M.G.L. & PIRANI, J.R. 2000. Caracterização e endemismo nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. *In* Tópicos atuais de Botânica (T.B. Cavalcanti & B.M.T. Walter, eds.). Embrapa Recursos Genéticos, Brasília, p.311-318.
- GOMES, E.C., MING, L.C., MOREIRA, E.A., MIGUEL, O.G., MIGUEL, M.D., KERBER, V.A., CONTI, A. & FILHO, A.W. 1993. Constituintes do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmácia* 72:29-32.
- GROSSMANN, K. 2000. Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. *Trends in Plant Science* 5:506-508.
- HARTMAN, H.T., KESTER, D.E., DAVIES, T.T. & GENEVE, R.L. 2002. *Plant propagation: principles and practice*. 7^a Ed. Prentice Hall, Upper Saddle River.
- JULIANI JR., H.R., KOROCH, A.R., JULIANI, H.R. & TRIPI, V.S. 1999. Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 59:175-179.
- LING, L.F., CHU, C.J. & JU, Z.Y. 2000. Effects of gibberellin and light on seed germination and seedling growth of *Arabidopsis*. *Acta Phytophysiological Sinica* 26:101-104.
- MACCHIA, M., ANGELINI, L.G. & CECCARINI, L. 2001. Methods to overcome seed dormancy in *Echinacea angustifolia* DC. *Scientia Horticulturae* 89:317-324.
- MATHEW, J. & VASUDEVA, R. 2003. Clonal variation for seed germination in teak (*Tectona grandis* Linn, f). *Current Science Bangalore* 84:1133-1136.
- MENEZES, N.L. & GIULIETTI, A.M. 1986. Campos rupestres. Paraíso botânico na Serra do Cipó. *Ciência Hoje* 5:39-44.
- MING, L.C., CRAKER, L.E., NOLAN, L. & SHETTY, K. 1996. Rooting of cuttings of *Lippia alba* (Mill) N.E.BR. – Verbenaceae. *Acta Horticulturae* 426:643-646.
- NOAMESI, B.K. 1977. Power tea (*Lippia multiflora*) a potent hypertensive therapy. *West African Journal of Pharmacology and Drug Research* 4:33-36.
- NORONHA, A., VICENTE, M. & FELIPPE, G.M. 1976. Effect of storage and growth conditions on photoblasticity of seeds of *Cucumis anguria* L. *Hoehnea* 6:7-10.
- PALANISAMY, K. & SUBRAMANIAN, K. 2001. Vegetative propagation of mature teak trees (*Tectona grandis* L.). *Silvae Genetica* 50:188-191.
- PASCUAL, M.E., SLOWING, K., CARRETERO, E., SÁNCHEZ MATA, D. & VILLAR, A. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of Ethnopharmacology* 76:201-214.
- PASSERA, C.B. & AMBROSETTI, J.A. 1999. *In vitro* propagation of “incayuyo”, *Lippia integrifolia* (Gris.) Hier. (Verbenaceae), a medicinal and aromatic plant of Monte Phytogeographical Province, Argentina. *Acta Horticulturae* 502:319-324.
- SALIMENA, F.R.G. 2002. Novos sinônimos e tipificação em *Lippia* sect. *Rhodolippia* (Verbenaceae). *Hickenia* 3:145-149.
- SARMA, T.C. 2003. Effect of growth regulators on vegetative propagation of *Amoora wallichii*, *Callicarpa arborea* and *Ficus fistulosa*. *Indian Journal of Plant Physiology* 7:375-379.
- SCHWARTZ, E. 2003. Estudos integrados em *Lippia alba* Mill. N. E. Br - uma planta de interesse medicinal. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- SIMONOVIC, A., GRUBISIC, D., GIBA, Z. & KONJEVIC, R. 2001. Interaction of giberellins and fusicoccin in growth retardant- and far-red light-inhibited germination of lettuce seeds. *Plant Growth Regulation* 32:91-97.
- TAKAKI, M. 2001. New proposal of classification of seeds based on forms of phytochrome instead of photoblastism. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal* 13:103-107.
- VALENTIN, A., PÉLISSIER, Y., BENOIT, F., MARION, C., KONE, D., MALLIE, M. & BASTIDE J.M. 1995. Composition and antimalarial activity *in vitro* of volatile components of *Lippia multiflora*. *Phytochemistry* 40:1439-1442.
- VEGA, R.B. & RODRIGUEZ Y PACHECO, A.A. 1982. Usos múltiples de los recursos forestales (Ensaio sobre propagacion de *Lippia* sp). *Revista Ciencia Florestal* 38:21-29.
- VERDONCK, O., MATHE, A., RELF, P.D., MATSUO, E., GROENING, G.D. & RAMMELOO, J. 2000. Possibilities of *Lippia citriodora* Kunth. cultivation in Slovenia. *Acta Horticulturae* 523:61-64.

ZAIDAN, L.B.P. & BARBEDO, C.J. 2004. Quebra de dormência em sementes. *In* Germinação: do básico ao aplicado (A.G. Ferreira & F. Borghetti, eds.). Artmed, Porto Alegre, p.135-146.

ZHANG, Y.L., YAO, L., SHEN, X.H., LIU, Q.L. & HAO, J.R. 2005. Tissue culture technique for rapid propagation of *Lippia triphylla*. *Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica* 25:2325-2329.