

SELEÇÃO RECORRENTE EM ERVA-CIDREIRA-BRASILEIRA PARA CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS E ATIVIDADE FORMICIDA

José Carlos Freitas de Sá Filho^{1*}, Luís Fernando de Andrade Nascimento¹, Vanderson dos Santos Pinto², Alisson Marcel Souza de Oliveira³, Daniela Aparecida de Castro Nizio⁴, Arie Fitzgerald Blank⁵

1. Estudante de Iniciação Científica do curso de Engenharia Agrônoma da UFS

2. Estudante de Doutorado do PPGAGRI- UFS

3. Professor Núcleo de Graduação de Agronomia / UFS – Campus Sertão

4. Pós-doutoranda Doutora do PPG em Agricultura e Biodiversidade da UFS

5. CCAA-UFS - Departamento de Engenharia Agrônoma / Orientador.

Resumo:

Este trabalho teve como objetivo, avaliar o desempenho morfoagronômico de progênies de *Lippia alba* providas de um ciclo de seleção recorrente e a atividade formicida de seus óleos essenciais. O ensaio de competição de clones foi realizado na fazenda experimental da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, com 3 repetições e espaçamento de 0,8 x 0,8 m. As avaliações foram realizadas 120 dias após a implantação. Analisou-se a composição química e atividade formicida dos óleos essenciais sobre *Acromyrmex balzani*. Na avaliação do desempenho, as progênies LA-56-03, LA-57-10, LA-70-01 e LA-70-03 apresentaram as médias mais promissoras de teor (2,22%; 2,84%; 2,20%; 2,44%) e rendimento (1,02; 0,71; 0,72 e 0,77 mL.planta⁻¹) de óleo essencial e mortalidade de formigas na concentração de 0,3 µL.L⁻¹ (31,0%; 26,2%; 28,6% e 38,1%). Estas progênies foram selecionadas para a realização do próximo ciclo de seleção recorrente.

Palavras-chave: *Lippia alba*; melhoramento vegetal; óleos essenciais.

Apoio financeiro: CNPq, FAPITEC/SE.

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: Universidade Federal de Sergipe (UFS).

Introdução:

Popularmente conhecida como erva-cidreira brasileira (BANDEIRA et al., 2014), *Lippia alba* é uma planta arbustiva com grande variabilidade química no óleo essencial. Ela é comumente utilizada na medicina popular devido a suas propriedades, como por exemplo: anti-hipertensiva, sedativa, reguladora de distúrbios estomacais e hepáticos (BRAGA et al., 2005; DUARTE et al., 2005; HELDWEIN et al., 2012).

Além das propriedades medicinais, foram descobertas a partir do óleo essencial de plantas de *L. alba* do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de plantas medicinais e aromáticas da UFS, as atividades carrapaticida (PEIXOTO et al., 2015 b) e inseticida sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* (PEIXOTO et al., 2015 a).

Dentre os insetos-praga de importância econômica, destacam-se as formigas cortadeiras. O Brasil apresenta grande diversidade de espécies de formigas que desfolham culturas agrícolas e plantas ornamentais, reduzindo o valor comercial e a produtividade (BOLLAZZI; ROCES, 2010). Dentre as principais espécies, as do gênero *Acromyrmex* causam prejuízos de milhões de reais por ano. Estima-se que um formigueiro pode forragear cerca de 1000 kg de folhas frescas em cultivos agrícolas e florestais (RANDO; FORTI, 2005).

Óleos essenciais extraídos de plantas medicinais e aromáticas têm-se mostrado uma alternativa eficiente frente aos danos socioambientais causados pelos pesticidas sintetizados (VIEIRA et al., 1999) no controle de insetos-praga, além de, por lei não se encontrar restrições de uso em cultivos orgânicos.

O melhoramento genético de plantas medicinais tem como objetivo, na maioria das vezes, o aumento de massa seca e/ou fresca ou, ainda, o aumento do teor de princípios ativos em determinado órgão vegetal, de modo que essas características sejam mantidas na geração seguinte, permitindo obter ganhos nas gerações subsequentes (OLIVEIRA et al., 2004). Um dos métodos de melhoramento vegetal bastante utilizado é a seleção recorrente. Este processo consiste basicamente na obtenção, avaliação, seleção e recombinação das melhores progênies durante dois ou mais ciclos, visando o aumento da concentração de alelos favoráveis para a característica de interesse, mantendo a variabilidade genética da população (SILVA, 2009).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho morfoagronômico de progênies de *L. alba* provenientes de um ciclo de seleção recorrente e a atividade formicida de seus óleos essenciais.

Metodologia:

O ensaio foi realizado na fazenda experimental da UFS, em São Cristóvão-SE. Foram selecionados 3 genitores (LA-56, LA-57 e LA-70) visando o intercruzamento entre eles. Foram obtidas 11 progênies de meios-irmãos (LA-56-01, LA-56-03, LA-56-04, LA-57-01, LA-57-02, LA-57-03, LA-57-07, LA-57-09, LA-57-10, LA-70-01, LA-70-03). As progênies obtidas (sementes) foram plantadas e posteriormente, multiplicadas por estaquia e conduzidas em ambiente protegido até serem levadas a campo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 3 repetições e 4 plantas por parcela. O espaçamento foi de 0,8m entre plantas e 0,8m entre linhas.

Ao se completarem 120 dias do transplante (dezembro de 2016), foram avaliadas as variáveis morfológicas: altura de planta (AP), diâmetro de copa (DC), hábito de crescimento (HC) (Foram atribuídas notas de 1 a 5 para as plantas das parcelas, observando-se a seguinte escala de notas: 1= nenhum galho toca o solo; 2= 25% dos galhos tocam o solo; 3= 50% dos galhos tocam o solo; 4= 75% dos galhos tocam o solo; 5= 100% dos galhos tocam o solo), área foliar (AF), comprimento foliar (CF) e largura foliar (LF). As características agrônomicas avaliadas foram: massa seca de folhas (MSF), obtida após a secagem das folhas em estufa com circulação forçada de ar a 40°C, por 5 dias.; teor (TOE) e rendimento (ROE) de óleo essencial, obtidos por hidrodestilação em aparelho Clevenger, com 50g de folhas secas e 2,0 L de água destilada, por 120 min.

A composição dos óleos essenciais foi analisada em cromatográfico gasoso acoplado à Espectrometria de Massa. A identificação dos constituintes foi feita com base na comparação com índices de retenção da literatura (ADAMS, 2007).

No bioensaio de toxicidade frente a *Acromyrmex balzani*, utilizou-se frascos de vidro (250 mL) contendo 7 soldados. Testou-se as concentrações de 0,01 e 0,3 µL de óleo essencial por litro de ar no recipiente (fumigação). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 repetições. Os frascos foram armazenados em BOD a 25°C com UR>70% e fotoperíodo de 12h de luz. A avaliação da mortalidade (MC) foi feita após 48h. Para comparação dos genótipos quanto a mortalidade de formigas, usou-se os dados da concentração de 0,3 µL.L⁻¹. A mortalidade foi corrigida em relação ao controle, utilizando-se a fórmula de Abbott (1925).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott (p<0,05) utilizando o software Sisvar[®]. Para as variáveis morfológicas, agrônomicas e químicas foi utilizado o seguinte modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij}$; em que:

Y_{ij} = observação do i-ésimo tratamento (progênie/genitor) no j-ésimo bloco;

μ = média geral;

t_i = efeito do i-ésimo tratamento (progênie/genitor);

b_j = efeito do j-ésimo bloco;

e_{ij} = erro experimental da parcela que recebeu o i-ésimo tratamento no j-ésimo bloco;

Enquanto que, para a variável mortalidade corrigida foi utilizado o seguinte modelo: $Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$; em que:

Y_{ij} = observação do i-ésimo tratamento na repetição j;

μ = média geral;

t_i = efeito do i-ésimo tratamento (progênie/genitor);

e_{ij} = erro experimental da parcela que recebeu o i-ésimo tratamento na j-ésima repetição.

Resultados e Discussão:

Foram observadas diferenças significativas entre as progênies para todas as características morfológicas (tabela 1). Quanto ao hábito de crescimento, os genótipos foram divididos em dois grupos, destacando-se no grupo com menores médias as progênies LA-56-04 e LA-57-07 com nota=1 (planta ereta). Esta característica possibilita o cultivo das plantas em espaçamentos menores, resultando em maior número de plantas por área, além de facilitar a colheita mecanizada. Para altura de planta, diâmetro de copa, comprimento foliar e largura foliar, destacaram-se as progênies LA-56-03, LA-57-01, LA-57-03, LA-57-09 e LA-70-01 que obtiveram para todas estas características, médias semelhantes ou superiores as de seus genitores (LA-56, LA-57 e LA-70) (tabela 1). Para Área Foliar, houve grande variação entre os genótipos, destacando-se as progênies LA-56-03 (5,64 cm²), LA-57-02 (3,73 cm²), LA-57-03 (6,09 cm²), LA-57-07 (7,73 cm²), LA-57-09 (3,76 cm²), LA-57-10 (7,30 cm²), LA-70-01 (6,50 cm²) e LA-70-03 (12,94 cm²) com médias superiores às de seus respectivos genitores LA-56 (4,09 cm²), LA-57 (2,92 cm²) e LA-70 (3,43 cm²) (tabela 1).

Tabela 1. Valores de altura de planta (AP), diâmetro de Copa (DC), comprimento foliar (CF), largura foliar (LF), área foliar (AF) e média de notas de hábito de crescimento (HC) de progênies de *Lippia alba* e seus acessos genitores do primeiro ciclo de seleção recorrente.

Genótipo	AP (cm)	DC (cm)	CF (cm)	LF (cm)	AF (cm ²)	HC (notas)
LA-56-01	80,57 b	75,50 b	2,48 b	1,21 b	2,18 k	1,67 b
LA-56-03	139,63 a	178,30 a	4,20 a	2,17 a	5,64 f	3,33 a
LA-56-04	105,80 b	116,50 b	3,40 b	1,73 b	3,34 i	1,00 b
LA-57-01	123,22 a	114,83 b	2,88 b	1,58 b	3,11 j	3,33 a
LA-57-02	107,00 b	124,32 b	3,65 b	1,90 b	3,73 h	2,33 a
LA-57-03	150,30 a	185,87 a	4,25 a	2,17 a	6,09 e	3,00 a
LA-57-07	79,95 b	241,78 a	4,83 a	2,78 a	7,73 b	1,00 b
LA-57-09	121,97 a	131,40 b	3,77 a	1,92 b	3,76 h	1,67 b
LA-57-10	88,33 b	222,93 a	4,52 a	2,57 a	7,30 c	1,67 b
LA-70-01	135,27 a	205,93 a	4,45 a	2,25 a	6,50 d	3,00 a
LA-70-03	100,30 b	255,10 a	5,13 a	2,93 a	12,94 a	2,67 a
LA-56	164,13 a	140,22 b	3,95 a	1,97 b	4,09 g	3,33 a
LA-57	117,22 a	86,35 b	2,65 b	1,40 b	2,92 j	2,33 a
LA-70	136,18 a	124,20 b	3,62 b	1,80 b	3,43 i	2,67 a
CV (%) =	24,03	28,11	14,80	7,60	2,38	39,11

Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Em sua maioria, as progênies estudadas obtiveram maiores médias para características morfológicas quando comparadas aos seus genitores. Rodrigues et al. (2013), explicam que esta superioridade é decorrente da alta variabilidade encontrada na geração S₁ em plantas alógamas.

Os genótipos diferiram significativamente entre si para todas as características agrônômicas avaliadas, assim como para os constituintes químicos do óleo essencial e para a mortalidade corrigida (MC) de formigas *Acromyrmex balzani* (tabela 2).

Observou-se que as progênies LA-57-01 e LA-57-03 obtiveram as melhores médias de massa seca de folhas (45,18 e 48,15 g.planta⁻¹) entre as progênies e que não diferiram significativamente de seu genitor LA-57 (42,57 g.planta⁻¹). As progênies LA-70-01 e LA-70-03 também obtiveram médias (28,72 e 28,73 g.planta⁻¹) semelhantes à de seu genitor LA-70 (31,87 g.planta⁻¹). Quanto ao rendimento de óleo essencial, destacou-se a progênie LA-56-03 com média (1,02 mL.planta⁻¹) semelhante a de seu genitor LA-56 (1,05 mL.planta⁻¹) e as progênies LA-57-01 e LA-57-03 com médias (1,12 e 0,96 mL.planta⁻¹) superiores a de seu genitor LA-57 (0,87 mL.planta⁻¹). Para teor de óleo essencial, destacaram-se as progênies LA-56-03 e LA 57-10, que obtiveram médias (2,22 e 2,48 %) semelhantes às de seus genitores LA-56 (2,46 %) e LA-57 (2,64%) (tabela 2).

No bioensaio com formigas *Acromyrmex balzani*, destacaram-se com maior toxicidade os óleos essenciais das progênies LA-56-03 e LA-56-04, ocasionando médias de mortalidades corrigidas superiores (31,0 e 38,1 %) a de seu genitor LA-56 (21,4%), as progênies LA-57-02 e LA-57-10 com médias de mortalidade corrigida superiores (28,6 e 26,2%) a de seu genitor LA-57(19,0%) e as progênies LA-70-01 e LA-70-03 que também apresentaram médias superiores (28,6 e 38,1%) a de seu genitor LA-70 (19,0%) (tabela 2).

Quanto aos constituintes químicos dos óleos essenciais observou-se que entre as progênies o composto carvona esteve presente em maior proporção na LA-56-04 (57,78%). Por sua vez, o composto mirceno foi detectado em maior proporção na LA-57-09 (12,95%), o composto limoneno apresentou maior proporção na LA-57-02 (34,21%) e o composto α -muurulone apareceu em maior proporção na LA-57-01 (4,73%) (tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de massa seca de folhas (MSF), rendimento de óleo essencial (ROE), teor de óleo essencial (TOE), Mortalidade Corrigida (MC) de formigas e concentração dos constituintes químicos dos óleos essenciais de progênies de *Lippia alba* e seus acessos genitores do primeiro ciclo de seleção recorrente.

Genótipo	MSF (g.planta ⁻¹)	ROE (mL.planta ⁻¹)	TOE (%)	MC (%) 0,3 μ L.L ⁻¹	Constituintes químicos (%)			
					Mirceno	Limoneno	Carvona	α -muurulone
LA-56-01	16,97 d	0,23 g	0,93 d	28,6 b	0,98 j	26,49 f	54,22 d	3,65 c
LA-56-03	50,42 b	1,02 b	2,22 b	31,0 a	9,04 b	10,63 k	54,28 d	2,52 f
LA-56-04	19,96 d	0,22 g	0,82 e	38,1 a	0,43 l	23,41 g	57,78 b	3,25 e
LA-57-01	45,18 b	1,12 a	1,49 c	9,50 c	0,91 j	17,54 j	17,71 h	4,73 a
LA-57-02	27,9 c	0,70 f	1,38 c	28,6 a	5,31 e	34,21 a	17,27 h	1,74 j
LA-57-03	48,15 b	0,96 c	1,53 c	0,00 c	3,90 f	27,60 e	48,65 f	1,01 k
LA-57-07	18,95 d	0,21 g	1,09 d	21,4 b	2,52 h	20,28 i	55,71 c	2,40 g
LA-57-09	30,04 c	0,71 f	0,67 e	4,80 c	12,95 a	0,83 l	0,00 i	0,34 m
LA-57-10	26,48 c	0,71 f	2,48 a	26,2 a	5,80 d	30,23 b	25,71 g	2,04 i
LA-70-01	28,72 c	0,72 f	2,20 b	28,6 a	2,54 h	20,25 i	54,49 d	3,51 d
LA-70-03	28,73 c	0,77 e	2,44 b	38,1 a	2,79 g	29,87 b	51,73 e	0,65 l
LA-56	57,45 a	1,05 b	2,46 b	21,4 b	1,69 i	28,92 d	58,00 b	2,19 h
LA-57	42,57 b	0,87 d	2,64 a	19,0 b	0,68 k	29,37 c	59,02 a	1,77 j
LA-70	31,87 c	0,85 d	2,73 a	19,0 b	6,40 c	22,78 h	57,71 b	3,98 b
CV (%) =	15,61	7,70	8,93	28,31	2,16	1,08	0,64	0,20

Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Conclusões:

As progênies do primeiro ciclo de seleção recorrente (S₁) apresentaram menor concentração de carvona em relação a seus genitores. O aumento da concentração de outros compostos em associação com a carvona proporcionou em algumas progênies (LA-56-03, LA-56-04, LA-57-10, LA-70-01 e LA-70-03) a superioridade na ação formicida de seus óleos essenciais frente à espécie *Acromyrmex balzani* quando comparadas aos acessos genitores.

O primeiro ciclo de seleção recorrente foi eficiente no aumento das médias das progênies para as características morfológicas estudadas em relação aos seus genitores e possibilitou a incorporação da característica de hábito de crescimento ereto, o que possibilita durante o cultivo, o aumento do número de plantas por área e facilita a colheita mecanizada de folhas.

Após a avaliação, recomenda-se fazer a recombinação entre as progênies LA-56-03, LA-57-10, LA-70-01 e LA-70-03, as quais se destacaram na atividade formicida, com maior toxicidade dos óleos essenciais frente a *Acromyrmex balzani* e os teores de óleos essenciais mais próximos aos dos seus parentais.

Referências bibliográficas

- ABBOTT, W. S. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], v. 18, n. 2, p. 265-267, 1 abr. 1925. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. New York: Allured, 2007. 807p.
- BANDEIRA, M. G. L.; OLIVEIRA FILHO, R. D.; SOUZA PAIVA, W.; ABRANTES, M. R.; SILVA, J. B. A.; DAMACENO, M. N. Perfil de Sensibilidade de *Staphylococcus* Spp. A Frações Proteicas Extraídas de Erva Cidreira (*Lippia Alba* (Mill.) N.E. Brown). **Proceedings of The Xii Latin American Congress On Food Microbiology And Hygiene**, [s.l.], p. 20-21, nov. 2014. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/foodsci-microal-277>.
- BOLLAZZI, M.; ROCES, F. Leaf-cutting ant workers (*Acromyrmex heyeri*) trade off nest thermoregulation for humidity control. **Journal of Ethology**, [s.l.], v. 28, n. 2, p. 399-403, 13 fev. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10164-010-0207-3>.
- BRAGA, M. E. M.; EHLERT, A. D.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction from *Lippia alba*: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s.l.], v. 34, n. 2, p. 149-156, jun. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2004.11.008>.
- DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 97, n. 2, p.305-311, fev. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.016>.
- HELDWEIN, C. G.; SILVA, L. L.; RECKZIEGEL, P.; BARROS, F. M. C.; BÜRER, M. E.; BALDISSEROTTO, B.; MALLMANN, C. A.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O. & HEINZMANN, B. M. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s.l.], v. 45, n. 5, p. 436-443, maio 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-879x2012007500052>.
- OLIVEIRA, J. E. Z.; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. Recursos genéticos e perspectivas do melhoramento de plantas. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, v. 1, n. 2, 2004.
- PEIXOTO, M. G.; BACCI, L.; BLANK, A. F.; ARAUJO, A. P. A.; ALVES, P. B.; SILVA, J. H. S.; SANTOS, A. A.; OLIVEIRA, A. P.; COSTA, A. S., ARRIGONI-BLANK, M. F. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 71, p. 31-36, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.084>.
- PEIXOTO, M. G.; COSTA-JUNIOR, L. M.; BLANK, A. F.; LIMA, A. S.; MENEZES, T. S. A.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; BACCI, L.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 210, n. 1-2, p. 118-122, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.03.010>.
- RANDO, J. S. S.; FORTI, L. C. Ocorrência de formigas *Acromyrmex* Mayr, 1865, em alguns municípios do Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, [s.l.], v. 27, n. 2, p. 129-133, 26 mar. 2005. Universidade Estadual de Maringá. <http://dx.doi.org/10.4025/actascibiols.v27i2.1322>.
- RODRIGUES, L.; POVOA, O.; BERG, C. V. D.; FIGUEIREDO, A. C.; MOLDÃO, M.; MONTEIRO, A. Genetic diversity in *Mentha cervina* based on morphological traits, essential oils profile and ISSRs markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s.l.], v. 51, p. 50-59, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2013.08.014>.
- SILVA, M. G. de M.; VIANA, A. P.; GONÇALVES, G. M.; AMARAL JUNIOR, A. T. do; PEREIRA, M. G. Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: alternativa de capitalização de ganhos genéticos. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 33, n. 1, p. 170-176, fev. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-70542009000100024>.
- VIEIRA, L. S; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 19, n. 3-4, p. 99-103, jul. 1999. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x1999000300002>.