

Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa¹

Anatomic characterization of secretory structures and essential oil production of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown in relation to harvest times in the dry and rainy seasons

Maurício Reginaldo Alves dos Santos², Renato Innecco³ e Arlete Aparecida Soares⁴

RESUMO

O objetivo do trabalho foi caracterizar anatomicamente as estruturas secretoras e avaliar o efeito de diferentes horários de colheita no teor e composição do óleo essencial de erva-cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown), quimiotipo limoneno-carvona, nas estações chuvosa e seca do Ceará. Realizou-se uma descrição anatômica da estrutura foliar e dos tricomas glandulares presentes. As folhas foram colhidas às 7; 9; 11; 13; 15 e 17 horas. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 500 g de folha fresca. Observaram-se quatro tipos de tricomas, um tector e três glandulares. Na estação seca, a obtenção de óleo essencial foi superior à estação chuvosa. Em ambos os casos, os maiores teores foram obtidos às 15 horas. Os teores de limoneno e carvona foram afetados pelo horário de colheita.

Termos para indexação: Verbenaceae, limoneno, carvona, planta medicinal, tricomas.

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize anatomically the secretory structures and evaluate the influence of harvest times in the rainy and dry seasons on the content and composition of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (limonene-carvone chemotype), at the conditions of Ceará, Brazil. An anatomical evaluation of leaves and glandular trichomes structures was made. Leaves were harvested at 7 am, 9 am, 11 am, 1 pm, 3 pm and 5 pm. The completely randomized design was used with four replications of 500 g of fresh leaves. Four types of trichomes were observed, one tector and three glandular ones. Essential oil content was higher in the dry than in the rainy season. In both seasons, the major contents of essential oil were observed at 3 pm. Limonene and carvone contents were influenced by harvest times.

Index terms: Verbenaceae, limonene, carvone, medicinal plant, trichomes.

¹ Recebido para publicação em: 11/11/2003. Aprovado em: 06/07/2004

Trabalho extraído de Tese de Doutorado do primeiro autor.

² Biólogo, D.Sc., Pesquisador/bolsista - Embrapa Agroindústria Tropical/CNPq, Fortaleza-CE. E-mail: mrasantos@zipmail.com.br

³ Engenheiro Agrônomo, D.Sc., Professor do Dep. de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE. E-mail: innecco@ufc.br

⁴ Bióloga, D.Sc., Professora do Dep. de Biologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE. E-mail: arlete@ufc.br

Introdução

Lippia alba (Mill.) N.E. Brown, conhecida como erva-cidreira, é uma espécie herbácea, amplamente distribuída e conhecida no Brasil, principalmente devido à atividade calmante do chá obtido de suas folhas. Suas propriedades fitoterapêuticas devem-se à presença, no seu óleo essencial, de sesquiterpenos e monoterpenos, monocíclicos ou acíclicos, característicos do gênero *Lippia* (Vale, 1999; Guerrero, 2002).

Atualmente, distinguem-se três quimiotipos de *L. alba*, com base em variações qualitativas e quantitativas dos teores de carvona, limoneno, mirceno, neral e geranial, as quais associam-se a características morfológicas e organolépticas. As plantas do quimiotipo limoneno-carvona, objeto deste estudo, caracterizam-se quimicamente pela presença de limoneno e carvona e ausência de neral e geranial (Matos, 1996). O limoneno é utilizado industrialmente como solvente para produtos à base de óleo e resina, aromatizante em produtos de limpeza, alimentícios e cosméticos. A carvona é usada como carminativa e em produtos cosméticos, mas em alguns estudos foi demonstrada sua atividade bactericida e fungicida (Opdyke, 1979; Karr et al., 1990; Badies, 1992).

A secreção de limoneno e carvona depende de reações do metabolismo secundário vegetal, o qual está condicionado a fatores ambientais, especialmente em gêneros pertencentes à subfamília *Verbenoideae* (Zoghbi et al., 1998). É característica desta subfamília a plasticidade fenotípica e variações morfológicas, anatômicas e fitoquímicas resultantes de adaptações às condições ambientais (Fahn, 1979; Corrêa, 1992).

Neste sentido, o horário de colheita do material vegetal pode ser um aspecto relevante na produção de óleos essenciais. As interações das condições ambientais que ocorrem ao longo do dia podem influenciar direta ou indiretamente os processos do metabolismo secundário que resultam em variações quantitativas e qualitativas dos óleos essenciais, como observado por Freitas et al. (1997) e Leal et al. (1998).

No gênero *Lippia*, a secreção de óleos essenciais tem sido associada à presença de tricomas (Bonzani et al., 1999; Nunes et al., 2000; Hassan et al., 2001). Normalmente os tricomas secretores são de formas variadas entre grupos vegetais, mas em geral uniformes dentro de um mesmo *taxon* (Esau, 1977; Peterson e Vermeer, 1983).

Considerando o acima exposto, é importante que se realizem estudos concernentes às interações entre as condições ambientais, à produção de

metabólitos secundários e às estruturas responsáveis por essa produção. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar morfológicamente as estruturas secretoras e estudar o efeito do horário de colheita das folhas de *L. alba*, quimiotipo limoneno-carvona, no teor e na composição química do seu óleo essencial, nas estações seca e chuvosa do Ceará.

Material e Métodos

Para a caracterização anatômica das folhas adultas de *Lippia alba*, amostras foram coletadas nos horários de 7 e 15 horas, na estação chuvosa, e fixadas em solução contendo glutaraldeído e paraformaldeído segundo Karnovsky (1965), desidratadas em série alcoólica e incluídas em resina glicol-metacrilato. As secções foram obtidas em micrótomato rotatório Leica 2065 e coradas com azul de toluidina 0,12% em borax 5% e fucsina básica 0,05% aquosa (Junqueira, 1990). Após banho com xilol, as lâminas foram montadas com "Entelan". Para estudo microquímico, secções do material fresco foram obtidas com auxílio de lâminas para barbear e tratadas com Sudan IV (Gahan, 1984) ou Sudan "Black B" (Johansen, 1940) para verificação da presença de lipídeos totais. Os resultados foram registrados com um fotomicroscópio Zeiss, modelo Jenalumar.

O ensaio de campo foi realizado no Horto de Plantas Medicinais da Fazenda Experimental do Vale do Curu, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, no município de Pentecoste, CE. Nesta região, a estação chuvosa (1º semestre) apresenta média anual de 711,17 mm de precipitação pluvial, 27,21°C de temperatura, 77,11% de umidade relativa do ar e 7,02 horas de luz por dia; a estação seca (2º semestre) se caracteriza por média anual de 68,12 mm de precipitação pluvial, 27,59°C de temperatura, 62,50% de umidade e 9,50 horas de luz por dia (dados do Departamento de Engenharia Agrícola/UFC - médias de 1997 a 2001).

As colheitas foram realizadas em maio e novembro de 2002, em plantas de erva-cidreira (*Lippia alba* Mill. N.E. Brown - Verbenaceae; det.: F.R.S. Pires; exsicata n° 21.806 - Herbário Prisco Bezerra/UFC; coleta: Horto de Plantas Medicinais/UFC, 21.02.1995) com oito meses de idade na primeira colheita, em fase vegetativa, mantidas sob irrigação por aspersão duas vezes ao dia, em solo arenoso (pH = 4,8; Ca = 1,4 cmol_c.dm⁻³; Mg = 1,4 cmol_c.dm⁻³; K = 0,3 cmol_c.dm⁻³; Na = 0,3 cmol_c.dm⁻³; Al = 0,10

cmol_c.dm⁻³ e P = 155,0 mg.dm⁻³) sem adubação e espaçamento de 0,50 x 0,50 m. Avaliou-se o efeito de seis horários de colheita (7; 9; 11; 13; 15 e 17 horas), nas estações chuvosa e seca. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 2, com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída de 500 g de folha fresca, colhida manualmente.

Determinou-se a quantidade de óleo essencial por quilo de matéria seca, extraído por arraste a vapor (Craveiro et al., 1981), e o teor de limoneno e carvona no óleo essencial, através da CG/EM (Alencar et al., 1984). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

As folhas caracterizam-se por epiderme simples, revestida por cutícula relativamente espessa; estômatos com ampla câmara sub-estomática, situados em ambas as faces; mesofilo formado por parênquima paliádico uni ou biestratificado e três ou quatro camadas de parênquima esponjoso (Figuras 1a e 1b). Na Figura 1a podem-se observar também tricomas tectores simples, com ápice agudo e base elevada por células epidérmicas (seta).

Há três tipos de tricomas glandulares. O primeiro tipo apresenta uma célula basal, um pedículo alongado bicelular e uma porção capitada bicelular (Figura 1c). O segundo é formado por uma célula basal, uma célula intermediária e uma porção capitada bicelular (Figura 1d). Estes dois tipos de tricomas encontram-se distribuídos nas faces abaxiais e adaxiais. O terceiro tipo, presente na face abaxial, é formado por uma célula basal estreita e uma porção capitada globosa (Figura 1e). Todos são secretores de substâncias lipídicas que foram evidenciadas por Sudan IV, como podem ser observados na Figura 1e. Esses resultados são bastante similares àqueles observados por Corrêa (1992) e Castro (2001), que estudaram um tipo predominantemente citralífero de *Lippia alba*. Nunes et al. (2002) ressaltaram a uniformidade da anatomia foliar dentro do gênero *Lippia* e mesmo entre gêneros da subfamília Verbenoidae. Aparentemente, não existem variações anatômicas relevantes entre os quimiotipos desta espécie, ao contrário de suas características organolépticas e morfológicas, cujas

variações são bastante evidentes, como observado por Matos (1996). Não se observaram diferenças morfológicas quanto à presença de óleos em células do mesofilo de folhas coletadas às 7 e 15 horas, apesar das grandes variações encontradas nas análises químicas entre esses horários, conforme discutido a seguir.

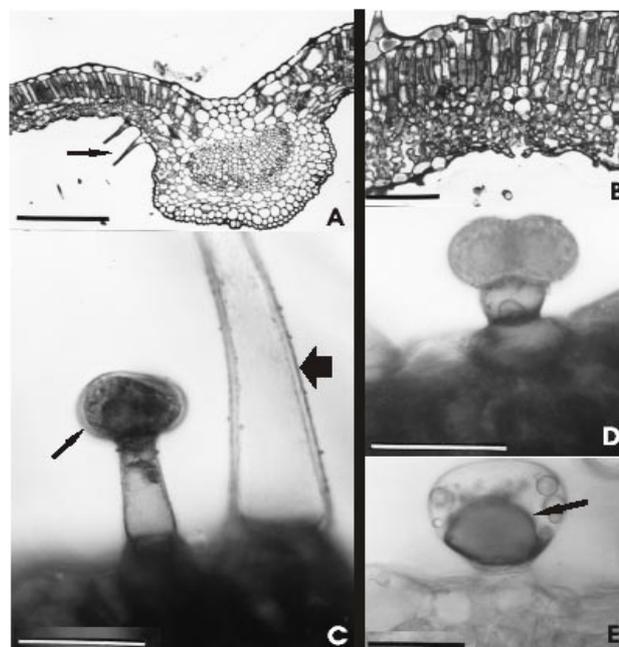


Figura 1 - Estrutura foliar *L. alba*, quimiotipo limoneno-carvona. 1a - Nervura central, em corte transversal, evidenciando dois tricomas tectores, à esquerda (seta) (barra = 200 μ m). 1b - Limbo foliar, em corte transversal, evidenciando parênquima paliádico biestratificado (barra = 50 μ m). 1c - Tricoma glandular com pedículo alongado bicelular e porção capitada bicelular (seta estreita) e tricoma tector (seta larga) (barra = 30 μ m). 1d - Tricoma com uma célula basal, uma célula intermediária e porção capitada bicelular (barra = 30 μ m). 1e - Tricoma glandular com gotículas de lipídios (seta) (barra = 30 μ m).

Na estação seca, a produção de óleo essencial pelas plantas de *Lippia alba* foi superior àquela observada na estação chuvosa (Figura 2). Cruz (1999) também verificou o aumento da produção de óleo essencial na estação seca em relação à chuvosa, trabalhando com hortelã-rasteira (*Mentha x villosa* Huds.), e Mattos (2000) obteve resultados semelhantes em relação à hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.). Pode-se atribuir este fato ao aumento da temperatura e, principalmente, da intensidade luminosa durante a estação seca. Nos trabalhos citados também considerou-se a intensidade luminosa e a temperatura como os principais fatores responsáveis pelo aumento da produção de óleo essencial na estação

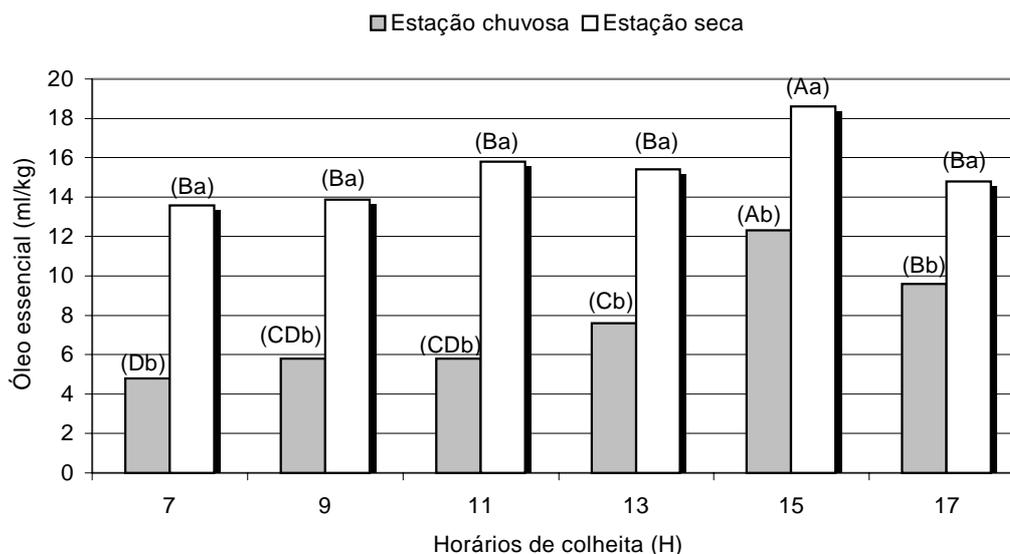


Figura 2 - Teor de óleo essencial em folhas de *L. alba*, quimiotipo limoneno-carvona, em diferentes horários de colheita, durante as estações chuvosa e seca (as letras indicam significância a 5% pelo teste de Tukey; as maiúsculas indicam diferença entre horários, em cada estação; as minúsculas indicam diferença entre estações, dentro de cada horário). Pentecoste, CE, 2002.

seca. Estes fatores ambientais atuam diretamente em processos primários, como fotossíntese e respiração, e podem influenciar indiretamente a produção de metabólitos secundários, cuja síntese depende de produtos do metabolismo primário (Bell, 1981). Além disso, a intensidade luminosa pode influenciar a produção de óleo essencial através da ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na rota do ácido mevalônico (Taiz e Zeiger, 1991).

Ainda da Figura 2, pode-se observar que a produção de óleo essencial atingiu valores máximos às 15 horas: 12,6 e 18,6 ml.kg⁻¹ de matéria seca, nas estações chuvosa e seca, respectivamente. Na estação chuvosa, pode-se observar uma tendência crescente ao longo do dia, das 7 às 15 horas; às 17 horas, os valores decresceram novamente. Na estação seca, o teor obtido às 15 horas foi superior aos outros horários, que não diferiram significativamente entre si. É provável que a variação na produção de óleo essencial, ao longo do dia, seja resultante de variações na temperatura e na intensidade luminosa. Estes fatores normalmente variam bastante ao longo do dia e podem influenciar diretamente o metabolismo primário.

Estudos referentes à influência do horário de colheita na produção de óleo essencial são raros na literatura científica. Porém, é possível perceber a diversidade das respostas de culturas produtoras de óleo essencial a este aspecto. Freitas et al. (1997), realizando colheitas em plantas de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.) às 7; 9; 11; 13 e 15 horas, obtiveram a maior produção

de óleo essencial e de seu constituinte de interesse comercial, o mentol, às 13 horas. Já Leal et al. (1998), avaliando a produção de óleo essencial às 0; 4; 8; 12; 16 e 20 horas em folhas de capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf.), não identificaram variações significativas na produção de óleo essencial nos horários estudados.

É interessante observar, na literatura científica, que há uma grande variação entre os resultados obtidos por diferentes pesquisadores, ao estudar a produção de óleo essencial em *L. alba* (Fester, 1958; Catalan et al., 1977; Craveiro et al., 1981; Stefanini, 1998; Bahl et al., 2000; Castro, 2001). É provável que grande parte desta discrepância se deva ao fato de que os autores citados não fizeram distinção entre os genótipos com os quais estavam trabalhando. As variações ambientais também podem explicar parte desta divergência de resultados.

Na estação chuvosa, os horários de colheita que resultaram nos maiores teores de limoneno foram 11 e 17 horas, quando se obteve, respectivamente, 36 e 34% do óleo essencial; para carvona, o maior teor obtido foi de 62%, às 9 horas (Figura 3). Na estação seca, o maior teor de limoneno ocorreu às 15 horas, obtendo-se 42% do óleo essencial. O maior teor de carvona foi obtido às 15 e 17 horas, equivalendo a 51%, nos dois horários (Figura 4). Blank et al. (2002), estudando o efeito de dois horários de colheita (9 e 15 horas) na produção de óleo essencial em folhas de *Melissa officinalis* L., observaram que o teor de óleo essencial

não foi influenciado pelo horário de colheita. Porém, a ocorrência de determinadas variações nos teores dos componentes nerál e geranial, entre os horários de colheita estudados, levaram os autores a recomendarem a colheita das folhas na parte da manhã, visando atender a exigências do mercado internacional para a comercialização destes compostos.

Os resultados apresentados evidenciam o dinamismo das interconversões que ocorrem no óleo essencial, entre as substâncias que o compõem. Estas interconversões resultam de variações ambientais, atuando sobre o metabolismo celular, e envolvem reações de oxidação, redução, hidratação, desidratação, ciclização e isomerização (Castro, 2001).

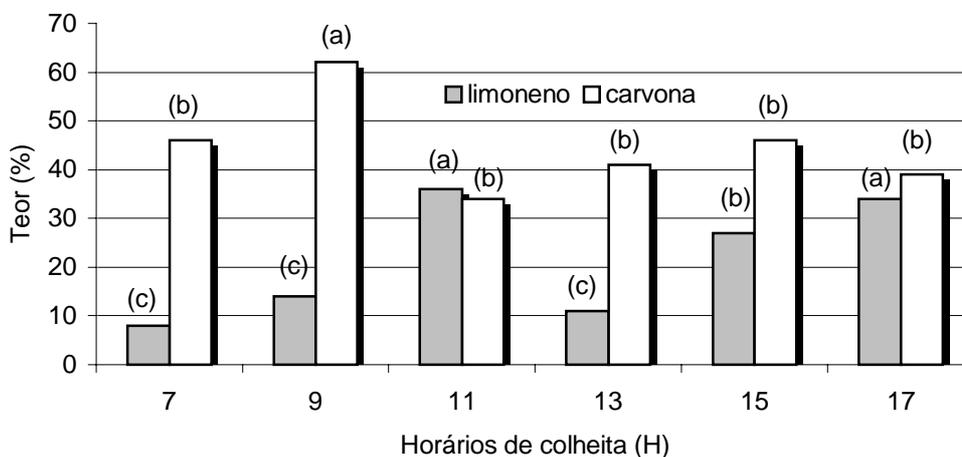


Figura 3 - Teores dos constituintes majoritários do óleo essencial extraído de folhas de *L. alba*, quimiotipo limoneno-carvona, em diferentes horários de colheita, durante a estação chuvosa (as letras indicam significância a 5% pelo teste de Tukey). Pentecoste, CE, 2002.

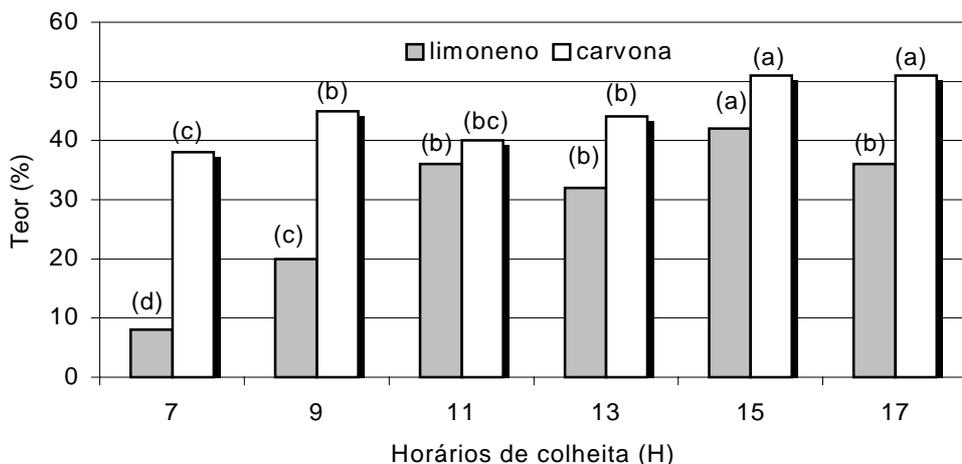


Figura 4 - Teores dos constituintes majoritários do óleo essencial extraído de folhas de *L. alba*, quimiotipo limoneno-carvona, em diferentes horários de colheita, durante a estação seca (as letras indicam significância a 5% pelo teste de Tukey). Pentecoste, CE, 2002.

Conclusões

1. Distinguem-se quatro tipos de tricomas neste quimiotipo, um tector e três glandulares.
2. O teor de óleo essencial é maior na estação seca do que na chuvosa.
3. Em relação à produção de óleo essencial, pode-se recomendar que a colheita de folhas seja feita às 15 horas.

Referências Bibliográficas

- ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A. Kovats indexes as a preselection routine in mass-spectra library searches of volatiles. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 47, n. 5, p. 890-892, 1984.
- BADIES, A. Z. Antimycotic effects of Cardamom essential oil components on toxigenic molds.

- Egyptian Journal of Food Science**, Giza, v.20, p.441-452, 1992.
- BAHL, J. R.; GARG, S. N.; SINGH, S. C.; BANSAL, R. P.; NAQUI, A. A.; KUMAR, S. Composition of linalool rich essential oil from *Lippia alba* grown in Indian plains. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v.15, n.3, p.199-200, 2000.
- BELL, E. A. The physiological role(s) of secondary (natural) products. In: CONN, E. E. (Ed.) **Biochemistry of plants**. v.7. New York: Academic Press, 1981. p.1-18.
- BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; FONTES, S. M.; SANTOS, M. F.; DANTAS, I. B.; SILVA, P. A.; MENDONÇA, M. O.; ARRIGONI-BLANCK, M. F.; COSTA, A. G.; SILVA-MANN, R. Efeito do horário de colheita e secagem no teor e na composição química de óleo essencial de erva cidreira verdadeira (*Melissa officinalis* L.). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 17., 2002, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: UNESP. 1 CD.
- BONZANI, N. E.; FILIPPA, E. M.; BARBOZA, G. E. Epidermical peculiarities of some Verbenaceae. **Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México Serie Botánica**, México, v.68, n.2, p.47-56, 1999.
- CASTRO, D. M. **Efeito da variação sazonal, colheita selecionada e temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de folhas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britt. & Wilson (Verbenaceae)**. 2001. 132 f.. Tese (Doutorado em Horticultura) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CATALAN, C.; MEREP, D. J.; RETAMAR, J. A. The essential oil of *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown from the tucuman province. **Rivista Italiana, Essenze, Profumi, Piante Officinali, Aromi, Saponi, Cosmetici, Aerosol**, Milano, v.59, n.10, p.513-518, 1977.
- CORRÊA, C. B. V. Contribuição ao estudo de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. ex Britt. & Wilson - erva cidreira. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.73, n.3, p.57-64, 1992.
- CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L.. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: EUFC, 1981. 209p.
- CRUZ, G. F. **Desenvolvimento de sistema de cultivo para hortelã-rasteira (*Mentha villosa* Huds.)**. 1999. 35 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1977. 550p.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press, 1979. 302p.
- FESTER, G. A. Estudios de essencias voláteis del litoral y de la zona andina. **Boletín Académico de Ciencias (Cordoba)**, v.40, p.189-208, 1958.
- FREITAS, J. B. S.; MATTOS, S. H.; CHAVES, F. C. M.; VASCONCELOS, G. S.; INNECCO, R.; MATOS, F. J. A. Horário de corte em hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 37., 1997, Manaus. **Resumos...** Manaus: SOB, 1997. n.35.
- GAHAN, P. B. **Plant histochemistry and cytochemistry**. London: Academic Press, 1984. 301p.
- GUERRERO, M. F.; PUEBLA, P.; CARRON, R.; MARTIN, M. L.; ARTEAGA, L.; SAN ROMAN, L. Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Pretoria, v.80, n.1, p.37-42, 2002.
- HASSAN, M. A.; BEGUM, M.; BEGUM, S. Taxonomic significance of foliar trichomes of some species of Verbenaceae from Bangladesh. **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v.30, n.1, p.75-78, 2001.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York/London: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- JUNQUEIRA, C. U. O uso de cortes finos na Medicina e na Biologia. **Meios e Métodos**, São Paulo, v.66, p.167-171, 1990.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of cellular biology**, New York, v.27, p.137-138, 1965.
- KARR, L. L.; DREWES, C. D.; COATS, J. R. Toxic effects of dextro-limonene in the earthworm *Cisenia foetida* (Savigny). **Pesticidal Biochemical Physiology**, Oxford, v.36, p.175-186, 1990.
- LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; CARVALHO, A. J. C. Teor de óleo essencial de capim-cidreira

(*Cymbopogon citratus*) em função do horário de colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: SOB, 1998. p.147.

MATOS, F. J. A. As ervas cidreiras do nordeste do Brasil: estudo de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae). Parte II – Farmacoquímica. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.77, n.4, p.137-141, 1996.

MATTOS, S. H. **Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. *Piperacens* Holmes como produtora de mentol no Ceará.** 2000. 98 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

NUNES, R. S.; XAVIER, H. S.; ROLIM NETO, P. J.; SANTANA, D. P.; ALBUQUERQUE, U. P. Botanical standardization of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, La Plata, v.19, n.2, p.115-118, 2000.

OPDYKE, D. L. Monographs on fragrance raw materials. **Food and Cosmetical Toxicology Supplement**, New York, v.17, p.695-923, 1979.

PETERSON, R. L.; VERMEER, J. Histochemistry of trichomes. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P.L.;

MEHTA, I. (Eds.) **Biology and chemistry of plant trichomes.** New York/London: Plenum Press, 1983. p.1-21.

STEFANINI, M. B.; RODRIGUES, S. D.; MING, L. C. Effects of the application at different times of gibberellic acid, CCC and Ethephon on the biomass content and essential oil yields of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. - Verbenaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.1, n.1, p.39-48, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Surface protection and secondary defense compounds. In: _____. **Plant Physiology.** Redwood City: Benjamin Cummings, 1991. p.318-345.

VALE, T. G.; MATOS, F. J. A.; LIMA, T. C. M.; VIANA, G. S. B. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. **Journal of Ethnopharmacology**, Pretoria, v.67, n.2, p.127-133, 1999.

ZOGHBI, M. D. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. H. L.; MAIA, J. G. S. Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. growing wild in the Brazilian Amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v.13, n.1, p.47-48, 1998.