

Variação da quantidade de β -cariofileno em óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae, sob diferentes condições de cultivo

Fabiola B. Carneiro,^{*1} Irinaldo D. Júnior,² Pablo Q. Lopes,¹ Rui O. Macêdo²

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, Caixa Postal 1235, 50670-901 Recife-PE, Brasil,

²Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos, Universidade Federal da Paraíba, 58059-900 João Pessoa-PB, Brasil.

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do adubo, da irrigação, da incidência solar, do horário de coleta e da idade da planta na quantidade de β -cariofileno no óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae. As plantas foram cultivadas em canteiros experimentais entre os meses de dezembro de 2006 a setembro de 2007. O substrato utilizado foi adubo orgânico (esterco bovino), adubo mineral 1 [NPK (nitrogênio, fósforo e potássio)] e adubo mineral 2 (NPK com calcário) sob diferentes tratamentos. A técnica analítica quantitativa utilizada foi a cromatografia gasosa (GC/FID). De acordo com os resultados obtidos nos meses de menor precipitação de chuvas obteve-se maior rendimento de óleo essencial, e os meses de maior precipitação de chuvas mostraram uma tendência de baixos rendimentos.

Unitermos: *Plectranthus amboinicus*, Lamiaceae, sazonalidade, β -cariofileno, cromatografia gasosa.

ABSTRACT: "Variation in the amount of β -caryophyllene in essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Lamiaceae under different conditions of cultivation". This study aimed to evaluate the influence of fertilizer, irrigation, the incidence sun, the time of collection and the plant in the amount of β -caryophyllene in the essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae. The plants were grown in experimental beds between the months of December 2006 to September 2007. The substrate was used organic fertilizer (esterco veal), fertilizer mineral 1 [NPK (nitrogen, phosphorus and potassium)] and fertilizer mineral 2 (NPK with limestone) under different treatments. The quantitative analytical technique was used to gas chromatography (GC/FID). According to the results obtained in months of lower precipitation of rainfall received are higher yield of essential oil, and the months of highest precipitation of rain showed a trend of low income.

Keywords: *Plectranthus amboinicus*, Lamiaceae, seasonality, β -caryophyllen, gas chromatography.

INTRODUÇÃO

As espécies de *Plectranthus* (Lamiaceae) são usadas na medicina popular em várias partes do mundo (Hedge, 1992). O gênero ocorre em quatro continentes: África, América, Oceania e Ásia e estudos fitoquímicos divulgaram que diterpenos abietanos e triterpenóides são os metabólitos mais comuns no gênero (Albuquerque, 2000).

O β -cariofileno, constituinte do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus*, segundo Haslam (1996), pode ser empregado na medicina tradicional como remédio para o tratamento de diversas moléstias orgânicas. O cariofileno apresentou as seguintes propriedades: antiedêmico

(Shimizu, 1990), fagorrepelente (Keeler et al., 1991), antiinflamatória (Shimizu, 1990), antitumoral (Zheng et al., 1992), bactericida (Kang et al., 1992), insetífugo (Jacobson et al., 1990) e espasmolítico (Duke, 1992). Algumas destas atividades foram conferidas ao seu óxido-derivado (Shimizu, 1990; Zheng et al., 1992).

O registro de medicamentos fitoterápicos (Anvisa, 2004) estabelece o controle de qualidade da matéria-prima vegetal como pré-requisito essencial para a obtenção de fitoterápicos com reprodutibilidade de ação. Uma das dificuldades de se desenvolver fitoterápicos que apresentem estas características de reprodutibilidade, lote a lote, da ação terapêutica é a variabilidade no teor de constituintes majoritários, decorrente dos efeitos de

sazonalidade no cultivo das plantas.

Variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas de metabólitos secundários em plantas ocorrem em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter e intraespecífica) e, apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (Lindroth et al., 1987; Hartmann, 1996). De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante (Kutchan, 2001). Os constituintes do óleo essencial são biossintetizados em tricomas glandulares principalmente de folhas e cálices florais (Lawrence, 1992) e depende, além dos fatores genéticos, também dos fisiológicos e ambientais (Freitas et al., 2004).

Considerando que a quantidade dos constituintes presentes nas plantas varia consideravelmente em função de fatores externos, incluindo: temperatura, irrigação, incidência solar, nutrientes do solo, horário de coleta, idade da planta, entre outros, faz-se necessário um estudo aprofundado destas características objetivando a qualidade da matéria-prima vegetal, garantindo a qualidade do produto final e a eficácia clínica do medicamento fitoterápico.

Neste trabalho foi estudada a relação existente entre algumas variáveis que podem estar relacionadas com a variação da quantidade de óleo essencial da espécie *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae, cultivada. Foram avaliadas as influências das seguintes variáveis: incidência solar, irrigação, horário de coleta, estágios do desenvolvimento das plantas e diferentes tipos de adubação. Para tanto foi monitorado quantitativamente, por cromatografia gasosa, o óleo essencial β -cariofileno.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O material vegetal [*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae] foi cultivado em canteiros experimentais nas dependências do Laboratório Rabelo, no município de Cabedelo que está inserido na unidade

geoambiental dos tabuleiros costeiros e apresenta altitude média de 50 a 100 m. De modo geral, os solos são profundos e de baixa fertilidade natural. O clima é do tipo tropical chuvoso com verão seco. O período chuvoso começa no outono tendo início em fevereiro e término em outubro, conforme o índice pluviométrico apresentado na Tabela 1.

Uma amostra do material vegetal foi identificada, herborizada e incorporada ao acervo do Instituto de Pesquisas Agropecuárias de Pernambuco. Identificada por: MB Costa e Silva, excicata n° 024/2006.

Local de cultivo e preparo do substrato: grupos experimentais

P. amboinicus foram cultivadas em canteiros experimentais entre os meses de dezembro de 2006 a setembro de 2007. O substrato utilizado foi adubo orgânico (esterco bovino), adubo mineral 1 [NPK (Nitrogênio, fósforo e potássio)] e adubo mineral 2 (NPK com calcário), sob diferentes tratamentos. Em cada canteiro experimental foram cultivadas oito mudas, distribuídas em grupo de três, de acordo com a Tabela 2.

Tabela 1. Precipitação de chuvas (índice pluviométrico) e temperatura.

Mês	Precipitação (mm)*	Temperatura (°C)**
Dezembro/2006	42,2	29,8
Janeiro/2007	31,7	30,0
Fevereiro/2007	162,1	30,0
Março/2007	194,0	29,9
Abril/2007	262,7	29,5
Mai/2007	224,7	28,8
Junho/2007	616,9	27,4
Julho/2007	127,8	27,3
Agosto/2007	203,1	27,0
Setembro/2007	201,2	28,0

Tabela 2. Grupos experimentais. Canteiros X Condições de plantio.

Canteiros	Sol	*Sombra	Adubo orgânico	NPK	NPK c/ calcário	Irrigação diária	**Irrigação alternada
1	X		X			X	
2	X		X				X
3		X	X			X	
4		X	X				X
5	X			X			X
6	X				X		X

* Sombra = Coberto com sombrite a 50%

** Irrigação alternada = Três vezes por semana.

Coleta do material vegetal

Foi considerada como a data de início do experimento 12 de dezembro de 2006, as coletas foram

realizadas em dois ciclos vegetativos da planta DAP (dias após o plantio ou idade da planta) de acordo com as datas da Tabela 3. Em cada tratamento foram coletadas as partes aéreas de seis mudas para a obtenção de uma amostra homogênea, às 7, 12 e 16 h.

Tabela 3. Período de coleta

Ciclo vegetativo	Dias após o plantio (DAP)			
	60	90	120	150
1	12 a 23/2/2007	12 a 23/3/2007	16 a 27/4/2007	14 a 25/5/2007
2	11 a 22/6/2007	16 a 27/7/2007	13 a 24/8/2007	10 a 21/9/2007

Extração do óleo essencial e determinação do tempo de extração

O material coletado foi submetido, separadamente, à hidrodestilação em aparato de Clevenger, seguindo os parâmetros da Farmacopéia Brasileira IV edição, utilizando aproximadamente 60 g de material vegetal. O tempo de extração foi determinado através da quantificação das frações hexânicas obtidas por Clevenger em intervalos de 1 h e analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/FID), para tanto após 7 h de análise foi observado a não mais presença de componentes voláteis, sendo dessa forma definido o tempo de 7 h para extração dos óleos essenciais.

Análise do óleo essencial

Identificação dos óleos essenciais

As análises de identificação dos constituintes voláteis foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas. Foi realizado em um sistema Shimadzu GC/MS-QP5050A equipado com uma coluna capilar DB-1 dimethylpolysiloxane (30 m x 0,25 mm; 0,25 micron). O gás de arraste utilizado foi o Hélio com fluxo de 1,6 mL/min, split 1:200, temperatura do injetor 260 °C; temperatura inicial da coluna igual a 60 °C aquecida em uma razão de 10 °C/min até 280 °C. O volume de injeção foi de 1.0 µL. O espectrômetro de massas foi operado no modo SCAN com escala de varredura de 50-400 u.m.a com impacto de elétrons (70 eV) e temperatura do detector igual a 280 °C.

Quantificação do β -cariofileno

Os estudos de quantificação foram realizados em um Cromatografo Gasoso da Shimadzu (modelo GC-17A) equipado com uma coluna capilar DB-1 dimethylpolysiloxane (30 m x 0,25 mm; 0,25 micron) e detector de ionização em chama (FID) foi usado para análises das amostras. O gás de arraste foi N₂ com fluxo de 1,3 mL/min, split 1:5, temperatura do injetor 260 °C; temperatura do detector 280 °C; temperatura inicial da

coluna igual a 60 °C aquecida em uma razão de 8 °C/min até 280 °C permanecendo por 10 min a esta temperatura. O volume de injeção foi de 1.0 µL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ciclo vegetativo 1

No período de fevereiro a maio, correspondente ao ciclo vegetativo 1 de acordo com a Figura 1, pode-se deduzir que a maior concentração de β -cariofileno em função das condições experimentais ocorreu na condição sol com irrigação alternada, seguida pelas condições sombra com irrigação alternada, sol com irrigação diária, adubo mineral 1, adubo mineral 2 e sombra com irrigação diária, respectivamente. Relacionando a melhor condição experimental (sol com irrigação alternada) em função de DAP observa-se que a maior concentração de β -cariofileno ocorreu aos 60 DAP seguida de forma decrescente por 90, 120 e 150 DAP, respectivamente. Tal fato também é observado nas demais condições.

Em relação aos diferentes horários de coleta (7, 12 e 16 h), os dados mostram que o horário que apresentou maior concentração de β -cariofileno relacionado a melhor condição experimental foi o das 7 h com concentração de (0,1005 mg/mL) 60 DAP, (0,0805 mg/mL) 90 DAP, (0,0742 mg/mL) 120 DAP e (0,0444 mg/mL) 150 DAP, seguido por 16 e 12 h, respectivamente.

Ciclo vegetativo 2

No período de junho a setembro correspondente ao ciclo vegetativo 2, de acordo com a Figura 2, observa-se que a maior concentração de β -cariofileno em função das condições experimentais ocorreu na condição adubo mineral 1 [nitrogênio, fósforo e potássio (NPK)] seguido pelas condições adubo mineral 2 (NPK com calcário), sol com irrigação alternada, sol com irrigação diária, sombra com irrigação alternada e sombra com irrigação diária respectivamente. Relacionando a melhor condição experimental (adubo mineral 1) em função de dias após o plantio (DAP) observa-se que a maior concentração de β -cariofileno ocorreu aos 60 DAP seguida de forma decrescente por 90, 120 e 150 DAP, respectivamente. Tal

fato também é observado na condição adubo mineral 2. Nas demais condições observa-se que a maior concentração de β -cariofileno ocorreu aos 90 DAP seguida de forma decrescente por 120, 60 e 150 DAP, respectivamente.

Em relação aos diferentes horários de coleta (7, 12 e 16 h), os dados mostram que o horário que apresentou maior concentração de β -cariofileno relacionado à melhor condição experimental foi o das 16 h com concentração de (0,1175 mg/mL) 60 DAP, (0,1133 mg/mL) 90 DAP, (0,0799 mg/mL) 120 DAP e (0,0493 mg/mL) 150 DAP, seguido pelos horários 12 e 7 h, respectivamente.

A Figura 3 relaciona a concentração de β -cariofileno da condição sol irrigação alternada nos diferentes ciclos vegetativos com o índice pluviométrico em função de DAP, os dados confirmam que a produção de óleo essencial apresenta aumento no rendimento nos meses de baixa precipitação e baixos rendimentos nos meses de alta precipitação. Observa-se que uma maior concentração de chuvas no mês de junho (Ciclo vegetativo 2/60DAP), com índice de 616,9 mm, registrou o menor rendimento de óleo essencial (0,0541 mg/mL), confirmando que a produção de óleo essencial é reduzida na presença de excesso de água.

De acordo com Salisbury & Ross (1991) e Bazaaz et al. (1987), fatores fisiológicos críticos, tais como fotossíntese, comportamento estomatal, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento, podem ser alterados por estresse hídrico e, conseqüentemente, levar a alterações no metabolismo secundário.

Os efeitos da chuva na vegetação devem ser considerados em relação ao índice anual, sua distribuição pelo ano, seu efeito na umidade e seu efeito conjunto com a capacidade de absorção de água do solo (Evans, 1996). Exemplos da influência do índice pluviométrico na produção de metabólitos secundários são a correlação positiva de alguns dos componentes do óleo essencial de *Santolina rosmarinifolia* (Palá-Paúl et al., 2001) e a correlação negativa entre a produção de saponinas, como a lemmatoxina em *Phytolacca dodecandra*, com os níveis de precipitação (Ndamba et al., 1994).

O efeito da seca na concentração de metabólitos é, às vezes, dependente do grau de estresse hídrico e do período em que ocorre, sendo que efeitos a curto prazo parecem levar a uma produção aumentada, enquanto a longo prazo é observado um efeito oposto (Waterman & Mole, 1989; Horner, 1990; Mattson & Haack, 1987; Waterman & Mole, 1994; Medina et al., 1986).

A idade e o desenvolvimento da planta, bem como dos diferentes órgãos vegetais, também são de considerável importância e podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura (Bowers & Stamp, 1993; Hendriks, 1997; Evans, 1996; Jenks et al., 1996; Wilkinson & Kasperbauer, 1972). Sabe-se também que tecidos mais novos geralmente possuem maiores taxas biossintéticas de metabólitos

(Hartmann, 1996), tais como óleos essenciais (Hall & Langenheim, 1986; Gershenzon et al., 1989), lactonas sesquiterpênicas (Spring & Bienert, 1987), ácidos fenólicos (Koeppel et al., 1970), alcalóides (Höft et al., 1998), flavonóides e estilbenos (Slimestad, 1998).

Duriyaprapan et al. (1986) e Tuomi et al. (1991), também afirmam que a concentração de metabólitos secundários utilizados para defesa das plantas tende a apresentar concentração inversa às taxas de crescimento, havendo então desvio de compostos do metabolismo primário (açúcares, proteínas, lipídios) para produção de metabólitos secundários, tais como os terpenoides.

Martins & Santos (1995) mencionam que, de acordo com a substância ativa da planta, existem horários em que a concentração desses princípios é maior. No período da manhã é recomendada a colheita de plantas com óleos essenciais e alcalóides, e no período da tarde, de plantas com glicosídeos. Foi notada, por exemplo, uma variação de mais de 80% na concentração de eugenol no óleo essencial da alfavaca (*Ocimum gratissimum*), o qual atinge um máximo em torno do meio-dia, horário em que é responsável por 98% do óleo essencial, em contraste com uma concentração de 11% em torno de 17 h (Silva et al., 1999). Os níveis de conina em *Conium maculatum* são maiores quando as coletas são efetuadas pela manhã que no entardecer (Fairbairn & Suwal, 1961). O conteúdo total de taxanos em *Taxus media* mostrou-se menor pela manhã, aumentando durante o dia e atingindo um máximo no final da noite (EISohly et al., 1997).

Em relação ao ciclo vegetativo 2 observa-se que os resultados apresentados fortalecem a hipótese que entre junho e setembro, com temperaturas mais amenas, o solo com adubo mineral 1 (NPK) e adubo mineral 2 (NPK com calcário) propiciam melhores condições de absorção de nutrientes do que a adubação orgânica.

De acordo com Evans (1996) a faixa em que ocorrem as variações anuais, mensais e diárias na temperatura é um dos fatores que exerce maior influência no desenvolvimento da planta, afetando, portanto a produção de metabólitos secundários. De maneira geral, a formação de óleos voláteis parece aumentar em temperaturas mais elevadas, apesar de dias muitos quentes levar a uma perda excessiva destes metabólitos. Koeppel et al. (1970) demonstrou em folhas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), um aumento de quatro a cinco vezes no conteúdo de escopolamina, ácido clorogênico e seus isômeros (compostos antioxidantes) após submissão a baixas temperaturas.

Deve-se salientar que a aplicação do adubo orgânico destina-se a melhorar as propriedades físicas (densidade, aeração e drenagem, retenção de água), químicas (fornecimento de nutrientes, correção de substâncias tóxicas, índice de pH) e físico-químicas (adsorção de nutrientes, capacidade de troca catiônica) do solo. O adubo orgânico participa na retenção de água e na regulação da temperatura do solo (Manlio, 2006).

A adubação orgânica não deve ser considerada a

principal fonte de nitrogênio, fósforo e potássio do sistema solo-planta, embora o mesmo contenha esses macronutrientes, porém em quantidade insuficiente para suprir as necessidades da planta (Roberto et al., 2007). Os adubos minerais são fornecedores de nutrientes para as plantas, embora não propiciem melhorias às propriedades físicas do solo, somente melhorando as propriedades químicas pelo fornecimento de nutrientes.

Outro fator importante relacionado ao aumento do rendimento de óleo essencial na adubação mineral está relacionado à perda de nitrogênio por volatilização na forma de amônia, sendo menor no ciclo vegetativo 2 provavelmente em virtude das temperaturas mais baixas (Tabela 1).

De acordo com Marschner (1995) e Malavolta et al. (1989), a deficiência de nitrogênio na planta está envolvida com a redução do crescimento como resultado de uma das funções que o nutriente desempenha na

planta. Normalmente, o nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas culturas, uma vez que atua como estrutural nas moléculas dos aminoácidos, proteínas, enzimas, pigmentos e produtos secundários. Corrêa (1994) afirma que a complementação da adubação orgânica com adubo mineral é capaz de garantir uma melhor concentração de princípios ativos na planta.

O adubo mineral 1 obteve índices maiores que o adubo mineral 2, pois, segundo Oliveira et al. (2005) a quantidade de óleo essencial produzida é influenciada negativamente pela calagem (aplicação de calcário). Os maiores rendimentos de óleo essencial foram obtidos nos tratamentos mineral e misto (adubo orgânico com NPK) sem calagem. Dentre os tratamentos recomenda-se a adubação mista sem calagem por aliar alto rendimento de óleo essencial.

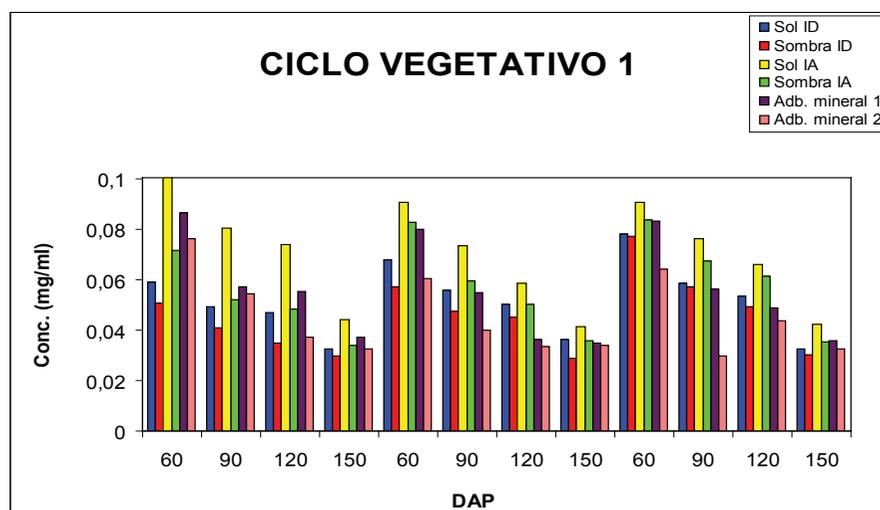


Figura 1. Gráfico de estudo da sazonalidade do β -cariofileno (Ciclo vegetativo 1). Concentração (mg/mL) x horário de coleta X DAP (dias após o plantio).

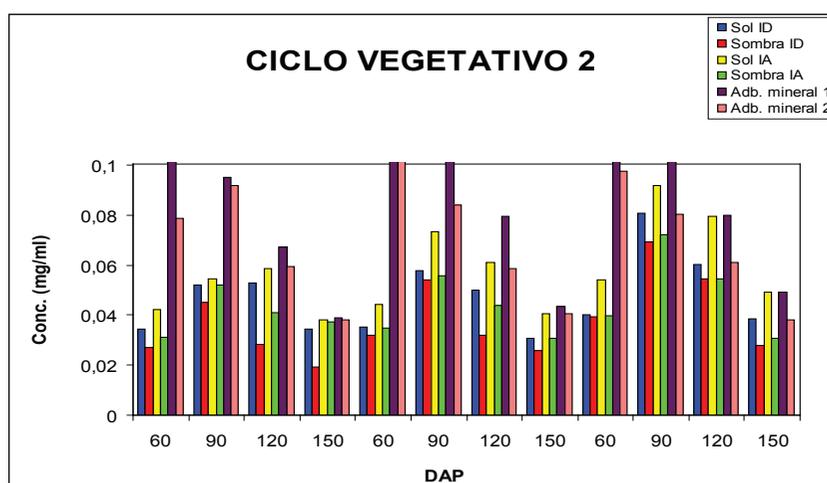


Figura 2. Gráfico de estudo da sazonalidade do β -cariofileno (Ciclo vegetativo 2). Concentração (mg/mL) x horário de coleta X DAP (dias após o plantio).

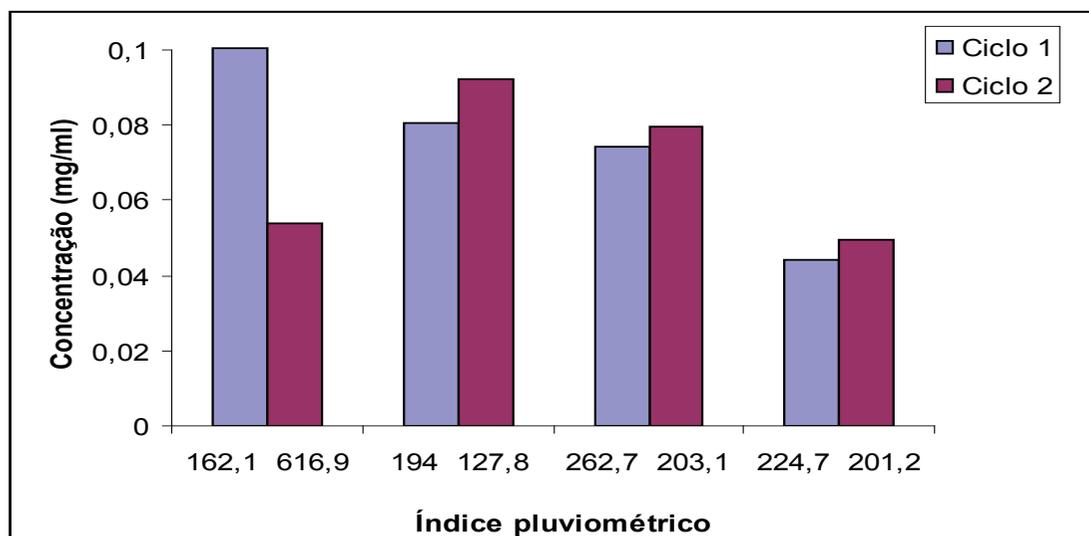


Figura 3. Concentração (mg/mL) x Índice pluviométrico em função de DAP (dias após o plantio).

CONCLUSÃO

Os parâmetros estabelecidos permitem avaliar que em relação ao teor de β -cariofileno no óleo essencial das partes aéreas de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., Lamiaceae, observa-se que nos meses de menor precipitação de chuvas obteve-se maior rendimento de óleo essencial, e os meses de maior precipitação de chuvas mostraram menor rendimento. A avaliação da quantidade de óleo essencial em diferentes horários de coleta mostrou que nos meses de menor precipitação de chuvas o melhor horário de coleta foi às 7 h onde a planta apresentou uma maior retenção de óleo, seguido por 16 e 12 h, respectivamente. No período chuvoso o melhor horário de coleta foi às 16 h onde a planta apresentou uma maior retenção de óleo, seguido por 12 e 7 h, respectivamente.

Os resultados apresentados fortalecem a hipótese que no verão o adubo orgânico obteve melhor desempenho em relação ao rendimento de óleo essencial em virtude de sua característica termo reguladora e na retenção de água. Em temperaturas elevadas a adubação mineral é menos eficiente em relação às menores temperaturas.

REFERÊNCIAS

Albuquerque RL 2000. Contribuição ao estudo químico de plantas medicinais do Brasil: *Plectranthus barbatus* Andr. e *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. Fortaleza, 166 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará.

Anvisa 2004. Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa nº 48, 16 de março.

Bazaaz F, Chiariello N, Coley P, Pitelka L 1978. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *Bioscience* 37: 58.

Bowers MD, Stamp NE 1993. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. *Ecology* 74: 54-57.

Corrêa JC, Sharma RD 1994. Produtividade do algodoeiro herbáceo em plantio direto no Cerrado com rotação de culturas. *Pesq Agropec Bras* 39: 41-46.

Duke JA 1992 Handbook of Biologically Active Phytochemicals and their Activities, CRC Press: Boca Raton.

Duriyaprapan S, Kessler RC, Foster C, Norlock FE, Calkins DR 1986. The effect of temperature on growth, oil yield and oil quality of Japanese mint. *Ann Bot-London* 58: 729-736.

ElSohly HN, Croom EM, Kopycki WJ, Joshi AS, McChesney JD 1997. The medicinal plants in our time. *Phytochem Anal* 8: 124-127.

Evans WC 1996. Trease and Evans' Pharmacognosy. 14. ed. London: WB Saunders Company.

Fairbairn JW, Suwal PN 1961. Bioactive natural products. *Phytochemistry* 1: 38-41.

Freitas MS, Souza KCB, Resende UP 2004. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesq Agropecu Bras* 39: 887-894.

Gershenzon J, Maffei M, Croteau R 1989. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Plant Physiol* 89: 1351-1352.

Hall GD, Langenheim JH 1986. Bioactive natural products. *Biochem Syst Ecol* 14: 61-64.

Hartmann T 1996. Global harmonization of herbal health claims. *Ent Exp Appl* 80: 177-179.

Haslam E 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J Nat Prod* 59: 205-215

Hedge IC 1992. Country borage (*Coleus amboinicus* Lour.): a potent flavoring and medicinal plant. *Adv Lab Sci* 6: 7-17.

Hendriks H, Anderson-Wildeboer Y, Engels G, Bos R, Woerdenbag H J 1997. Malay ethno-medico botany in Machang. *Planta Med* 63: 356-369.

Höft M, Verpoorte R, Beck E 1998. Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity. *Planta Med* 64: 148-152.

Horner JD 1990. Kannada District in Karnataka, India; plants in treatment of skin diseases. *Biochem Syst Ecol* 18: 211-

- 217.
- Jacobson M 1990. Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents, *CRC Press: Boca Raton*.
- Jenks MA, Tuttle HA, Feldmann KA 1996. The vegetable materia medica of western India. *Phytochemistry* 42: 29-33.
- Kang R, Helms R, Stout MJ, Jaber H, Nakatsu T 1992. Vietnamese culinary herbs in the United States. *J Agric Food Chem* 40: 2328-2332.
- Keeler RF, Tu AT 1991. Toxicological of Plant and Fungal Compounds; Handbook of Natural Toxins; *Marcel Dekker: Nova York*, p. 665.
- Koepe DE, Rohrbaugh LM, Rice EL, Wender SH 1970. Pharmacological screening of plant decoctions commonly used in Cuban folk medicine. *Plant Physiol* 23: 258-261.
- Kutchan TM 2001. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Plant Physiol* 125: 58-62.
- Lawrence BM 1992. Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. In: Harley RM, Reynolds T (eds.). *Advances in Labiatae science*. Kew: Royal Botanic Gardens, p. 399-436.
- Lindroth RL, Hsia MTS, Scriber JM 1987. Tropical Plants. *Biochem Syst Ecol* 15: 681-682.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA 1989. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. *Piracicaba, POTAFOS*, 201p.
- Manlio SF 2006. Nutrição Mineral de Plantas. Viçosa, MG: *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*. p. 89-114.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. *Academic Press, London, UK*.
- Martins ER, Santos RHS 1995. Plantas medicinais: uma alternativa terapêutica de baixo custo. Viçosa: *UFV Imprensa Universitária*.
- Mattson WJ, Haack RA 1987. Amazonian uses of some plants growing in India. *Bioscience* 37: 110-112.
- Medina E, Olivares E, Diaz M 1986. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Oecologia* 70: 441-443.
- Ndamba J, Lemmich E, Mølgaard P 1994. African traditional medicine. A dictionary of plant use and applications. *Phytochemistry* 35: 95-98.
- Oliveira TK, Carvalho GJ, Moraes RNS 2005 Plantas de cobertura e seus efeitos sobre o feijoeiro em plantio direto. *Pesq Agropec Bras* 37: 1079-1087.
- Palá-Paúl J, Pérez-Alonso MJ, Velasco-Negueruela A, Palá-Paúl R, Sanz J, Conejero F 2001. Plants as source of drugs. *Biochem Syst Ecol* 29: 663-665.
- Roberto CS, Francisco EAB, Câmara GMS, 2007. Estado nutricional e produção do capim-pé-de-galinha e da soja cultivada em sucessão em sistema antecipado de adubação. *Bragantia* 66: 259-266
- Salisbury FB, Ross CW 1991. Inhibition of the growth of cariogenic bacteria *in vitro* by plant flavanones. *Plant Physiol* 2: 71-75.
- Shimizu M 1990. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants. *Chem Pharm Bull* 38: 2283-2287.
- Silva MG, Craveiro AA, Matos FJA, Machado MIL, Alencar JW 1999. Efeito antioxidante de extrato fluido de *Plectranthus amboinicus*. *Fitoterapia* 70: 32-34.
- Slimestad R 1998. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: agricultural and storage practices. *Biochem Syst Ecol* 26: 225-229.
- Spring O, Bienert U 1987. Should we be concerned about herbal remedies? *J Plant Physiol* 130: 441-443.
- Tuomi J, Tallamy DW, Raupp MJ 1991. Carbon allocation, phenotypic plasticity and induced defences. In: *Phytochemical induction by herbivores*. New York: John Wiley, p. 85-104.
- Waterman PG, Mole S 1989. Insect-plant interactions. 1 ed., Boca Raton: CRS Press.
- Waterman PG, Mole S 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. 1. ed. *Oxford*: Blackwell Scientific Publications.
- Wilkinson RE, Kasperbauer MJ 1972. Screening of Indian plants for biological activity. *Phytochemistry* 11: 2439-2442.
- Zheng GQ, Kenney PM, Lam LKT 1992. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines. *Nat Prod* 55: 999-1003.