

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

ROQUE LUIZ PEGORARO

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM
PLANTAS DE *MENTHA X PIPERITA* L. VAR. *PIPERITA* (LAMIACEAE)
SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ E NUTRIÇÃO**

Florianópolis, maio de 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM
PLANTAS DE *MENTHA X PIPERITA* L. VAR. *PIPERITA* (LAMIACEAE)
SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ E NUTRIÇÃO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Biologia
Vegetal.

Orientadora:

Dr^a. Maria Terezinha Silveira Paulilo

Co-orientadora:

Dr^a. Miriam de Barcellos Falkenberg

ROQUE LUIZ PEGORARO

Florianópolis, maio de 2007.

Dedico este trabalho a minha companheira Marilene Muller Goetz pelo seu incentivo e por ter que sacrificar parte de sua construção pessoal para ajudar na minha. Dedico também ao meu primeiro filho que ainda este no ventre da mamãe, aguardado com muito amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço as orientadoras e professoras Maria Terezinha Silveira Paulilo e Miriam de Barcelos Falkenberg pela ajuda e paciência na discussão e orientação das tarefas que resultou neste trabalho.

Agradeço a professora Marisa Santos pela orientação e aprendizado que tive na parte de Anatomia Vegetal.

Agradeço a professora Áurea Randi pelas boas aulas e permitir discussões atualizadas a respeito da Fisiologia Vegetal, também a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Agradeço os colegas da Pós-graduação pelas discussões e ajuda, especialmente a Flávia Simão Lapa, o Sérgio Luiz de Almeida, a Ghislaine Maria Lobo e a Eliane Moratelli.

Agradeço aos bolsistas do laboratório de Química Farmacêutica, especialmente ao Leopoldo C. Barrato por acompanhar os protocolos realizados neste laboratório, a Maria Isabel Moritz e a Flora Maraslis.

Agradeço ao Dr. Ray Harley (Royal Botanic Gardens, Kew - Reino Unido) pela identificação das exsicatas de menta.

Agradeço a Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina) pelo fornecimento das tabelas de fotoperíodos e temperaturas.

Agradeço a CIDASC (Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de SC) pela realização das análises de solos.

Agradeço as sugestões da Banca: Vânia Helena Techio, Áurea Maria Randi, Miriam de Barcelos Falkenberg e Maria Terezinha Silveira Paulilo.

RESUMO

Mentha x piperita L. var. *piperita* (hortelã pimenta) é um híbrido europeu originado do cruzamento de *M. spicata* x *M. aquática*. As plantas desta espécie são usadas para fins medicinais, alimentícios e cosméticos. Seu uso está associado à presença de óleos essenciais, produzido nos tricomas glandulares peltados e capitados, e a de mentol, principal componente do óleo. O presente trabalho avaliou a influência da intensidade de luz e fertilidade do substrato no crescimento, concentração relativa e diversidade dos componentes do óleo essencial das plantas. As intensidades de luz utilizadas foram 100 %, 70 % e 50 % da luz solar total e dois níveis de nutrição do substrato aplicados foi solo de mata e solo de mata com adição de adubo orgânico. As plantas cultivadas em 100% de luz apresentaram maior biomassa de raízes e parte aérea, como também maiores valores de massa foliar específica (MFE), taxa de crescimento relativo (TCR), razão raiz/parte aérea (R/PA) e densidade estomática. As plantas cultivadas em substrato com adubo apresentaram maiores valores de biomassa, MFE, área foliar e TCR em relação às não adubadas. A fertilidade do substrato não influenciou a densidade estomática. A influência da luz no número de tricomas variou em função do órgão vegetal. Em caules, o número de tricomas foi maior na menor intensidade de luz aplicada (50% da luz solar), enquanto em folhas este número foi maior na maior intensidade de luz aplicada (100% da luz solar). Geralmente os órgãos jovens apresentaram maior densidade estomática e de tricomas (peltados e capitados) que órgãos adultos, independentemente dos tratamentos aplicados. O efeito das intensidades de luz e fertilidade do substrato na quantidade de óleo por unidade de massa fresca, por unidade de área foliar e por número de tricomas não foi conclusiva devido ao alto desvio padrão entre as amostras. A concentração relativa do mentol foi maior nos óleos essenciais extraídos de folhas e caules maduros de plantas cultivadas a 100% de luz e em solo adubado. Os dados mostram que plantas de *M. x piperita* são capazes de ajustar-se à variação de luz, minimizando possíveis efeitos de estresse por alta ou baixa intensidade de luz, como demonstram as variações da razão R/PA, MFE, TCR e densidade estomática. Os resultados indicaram que a alta luminosidade e a adubação do substrato podem contribuir para o aumento da produção de óleo por aumento de biomassa e de área foliar e, por conseguinte de tricomas. Também foi verificado que o mentol é o componente majoritário do óleo essencial.

Palavras-chave: *Mentha x piperita*, luz, adubação, crescimento, óleos essenciais, mentol.

ABSTRACT

Mentha x piperita L. var. *piperita* (peppermint) is a European hybrid originated of the crossing of *M. spicata* x *M. aquatic*. This species has medicinal, nutritious and cosmetics utility due the use is associated to the presence of essential oils, mainly the menthol, produced in the glandular trichomes. The present work evaluated the influence of the light intensity and the fertility of the substratum in the growth, relative concentration and diversity of the components of the essential oil of the plants. The light intensities used were 100%, 70% and 50% of the total solar light and two levels of nutrition of the substratum applied were forest soil and forest soil with addition of organic fertilizer. The plants cultivated in 100% of light presented higher root and shoot biomass, higher specific leaf mass (SLM), relative growth rate (RGR), root/shoot ratio (R/S) and stomatal density. The plants cultivated in fertilized substratum presented higher biomass SLM, RGR and leaf area related to the no fertilized plants. The fertility of the substratum didn't influence the stomatal density. The influence of the light in the trichomes number varied in function of the organ. In stems, the trichomes number was higher in the smallest intensity of applied light (50% of the solar light), while in leaves this number was higher in the highest intensity of applied light (100% of the solar light). The effect of the light intensities and fertility of the substratum in the amount of oil per unit of fresh mass, per unit of leaf area and per trichomes number was not conclusive. The relative concentration of menthol was higher in adult leaves and in stems extracts of plants cultivated at 100% of light and in fertilized soil than other treatments. The data show that plants of *M. x piperita* are capable to adjust to the light variation, minimizing possible stress effects for high or lower light intensity, as was demonstrated by the variations of R/S, SLM, RGR and stomatal density. The results indicated that the high light intensity and the fertilization of the substratum can contribute to the increase of the oil yield due the increase of biomass, leaf area and of trichomes. It was also verified that independently of the treatment the menthol was the major component of the essential oil.

Key words: *Mentha x piperita*, light intensity, organic fertilization, growth, essential oils, menthol.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Importância das plantas medicinais.....	1
1.2. Metabólitos secundários vegetais.....	2
1.3. <i>Mentha x piperita</i> L.....	4
1.4. Influência de fatores ambientais na produção dos óleos essenciais.....	7
1.5. Influência de fatores intrínsecos ao vegetal na produção dos óleos essenciais.....	9
1.6. Influência de fatores ambientais no desenvolvimento de plantas.....	9

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal.....	12
3.2. Obtenção de mudas e condições de crescimento das plantas.....	12
3.3. Coleta e análises estatísticas.....	14
3.4. Medição de variáveis de crescimento.....	15
3.4.1. Análise de crescimento.....	15
3.5. Determinação da densidade estomática e de tricomas peltados e capitados.....	16
3.6. Determinação dos óleos essenciais.....	17
3.7. Condições climáticas e composição química dos substratos de cultivo.....	18

4. RESULTADOS

4.1. Morfologia de tricomas e estômatos.....	19
--	----

4. 2. Crescimento de plantas em diferentes níveis de luz e substratos.....	20
4. 3. Número de estômatos e dimensões das células-guarda.....	21
4. 4. Densidade de tricomas glandulares e de estômatos de acordo com a idade dos órgãos.....	22
4. 5. Análise do rendimento de óleos essenciais.....	24
4. 5. 1. Rendimento dos óleos essenciais em relação à idade dos órgãos.....	24
4. 5. 2. Rendimento de óleos essenciais em relação ao número de tricomas e por área de folha.....	25
4. 6. Correlação entre massa seca da parte aérea e área foliar total.....	26
4. 7. Análise cromatográfica dos óleos essenciais.....	27
5. DISCUSSÃO	
5. 1. Morfologia dos tricomas e estômatos.....	29
5. 2. Crescimento em biomassa em diferentes níveis de luz e substrato.....	29
5. 3. Densidade estomática, dimensões das células-guarda e área foliar.....	31
5. 4. Densidade de tricomas peltados e capitados.....	33
5. 5. Rendimento e composição dos óleos essenciais.....	33
5. 6. Considerações sobre as condições de cultivo das plantas.....	35
5. 7. Considerações finais.....	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
Anexos.....	49

1. INTRODUÇÃO

1. 1. Importância das plantas medicinais

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Estudos da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que 80% da população mundial faz uso de algum tipo de erva medicinal para algum tipo de sintoma (MARTINS & SANTOS, 1995; MACIEL *et al.*, 2002; FLORES, 2006).

A OMS reforçou sua estratégia global sobre medicina tradicional e medicina complementar e alternativa entre 2002/2005 para estimular políticas públicas com o objetivo de inseri-las no sistema oficial de saúde. No Brasil, o Ministério da Saúde elaborou e aprovou em 15 de dezembro de 2005, a Política Nacional de Medicina Natural e Práticas Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS) e prevê a inserção de serviços relacionados ao uso de plantas medicinais e fitoterápicos, política que já está sendo desenvolvida em muitos municípios brasileiros (RODRIGUES, 2006).

O uso de plantas medicinais está profundamente arraigado na cultura brasileira, sendo que uma série de plantas européias, africanas e asiáticas foi introduzida no país ao longo dos anos, somando-se àquelas utilizadas pelos indígenas e cujo uso foi incorporado também pelos descendentes de europeus e africanos. Temos como exemplo às nativas, macela (*Achyrocline satureoides* (Lam.) DC.), carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) DC.), espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Reissek), ginseng-brasileiro (*Pfaffia paniculata* (Mart.) Kuntze), da Europa hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L.), do Mediterrâneo o alecrim (*Rosmarinum officinalis* L.) e a sálvia (*Salvia officinalis* L.), dos Andes a coca (*Erythroxylon coca* Lam.) e de Madagascar a vinca (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) (WILSON, 1994; LORENZI & MATOS, 2002).

CALIXTO (2001) comenta que o faturamento mundial das indústrias de fármacos ultrapassa a US\$ 300 bilhões ao ano. Destes US\$ 60 bilhões de dólares ao ano são faturados a partir de substâncias derivadas de plantas (Organização Pan-americana de Saúde, 2004). Somente dois alcalóides antitumorais extraídos da vinca (*Catharanthus roseus*), a vincristina e

a vimblastina, são responsáveis pelo faturamento anual em torno de 180 milhões de dólares (WILSON, 1994). A produção mundial de mentol extraído da hortelã ultrapassa 15.000 toneladas anuais (SINGH *et al.*, 1999) e com preços em torno de US\$ 14.00/kg na Índia e China e nos EUA em torno de US\$ 23.00/kg (TAVISH & HARRIS, 2002), levando a um faturamento em torno de US\$ 210 milhões a US\$ 345 milhões ao ano.

Os trabalhos de pesquisa com plantas medicinais geram produção de novos medicamentos em menor tempo, mais baratos e mais acessíveis à população, do que medicamentos à base de sais sintéticos importados (YUNES & CALIXTO, 2001).

As plantas medicinais variam a quantidade e a qualidade de metabólitos secundários produzidos frente a diferentes condições ambientais e de maturação. As plantas medicinais produtoras de óleo essencial possuem maior concentração na floração (SIMÕES & SPITZER, 2004) e maior teor de cumarinas em folhas jovens (CASRO, 2002). A redução do fotoperíodo sobre as plantas reduz a produção de óleos e afeta sua qualidade (LI, 1996). O teor de fenol e flavonóides aumenta com níveis crescentes de irradiação (ATROCH, 1999) e a adubação nitrogenada afeta os níveis de alcalóides (TEBET, 1996).

1. 2. Metabólitos secundários vegetais

O metabolismo vegetal gera produtos denominados metabólitos primários e secundários. Os primários, protídeos, lipídeos, glicídeos e nucleotídeos possuem funções vitais ao organismo; os secundários são derivados do metabolismo primário e têm ação biológica que garante vantagens adaptativas e estão restritos a determinados grupos vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2004; CARDOSO *et al.*, 2001). As substâncias medicinais extraídas das plantas são normalmente metabólitos secundários (SANTOS, 2004).

São inúmeros metabólitos secundários que as plantas desenvolveram ao longo de sua existência para garantir sua sobrevivência. Podem ser divididos em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, todos derivados do metabolismo da glicose via ácido chiquímico e acetato (figura 1). Os compostos terpenóides são derivados de isoprenóides via mevalonato, sintetizados a partir do acetil CoA. Os compostos fenólicos são

derivados das rotas do ácido chiquímico e mevalônico, mas principalmente do primeiro. Do primeiro derivam o triptofano, fenilalanina, tirosina e ácido gálico, moléculas base para a construção de cumarinas, lignanas, taninos e flavonóides. Os compostos nitrogenados são sintetizados a partir de lisina, tirosina e triptofano dando origem aos alcalóides pirrolidínicos e outros. As principais funções nos vegetais são para proteção contra viroses, bacterioses, infecções fúngicas, herbivoria e também atuam para atrair ou repelir outros organismos e para resistir ao estresse ambiental (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Óleos essenciais exalados por *Datura suaveolens* Humb. et Bonpl. ex. Willd. à noite atraem mariposas e morcegos para sua polinização (SIMÕES & SPITZER, 2004). O cheiro da hortelã repele lepidópteros, tipo borboleta-de-couve, sendo seu plantio recomendado em bordas de hortas e lavouras (CARDOSO *et al.*, 2001). Alguns componentes dos óleos têm função alelopática, como o citronelol que inibe a germinação do leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.) (GUSMAN *et al.*, 1990) e o óleo de canela (contendo ácido cinâmico) inibe a germinação de sementes e crescimento das raízes da alface (ALVES, *et al.*, 2004). Substâncias presentes no extrato bruto aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) reduzem a germinação do picão (*Bidens pilosa* L.) (CRUZ *et al.*, 2003). Os terpenóides têm como principais funções defesas contra herbivoria, hormônios de sinalização, agentes de atração e fitoalexinas (CARDOSO *et al.*, 2001). O óleo de *Mentha x piperita* e seu componente carvona são eficientes inseticidas (ASNARI *et al.*, 2000; GHERMAN *et al.*, 2000) e o mentol possui propriedade acaricida (NOZAL *et al.*, 2002; SÁNCHEZ *et al.*, 2001). Outras substâncias também são inseticidas, como o nerol do capim-limão, limoneno (*Citrus ssp*), pinenos (*Pinus ssp*), piperina (*Piper nigrum* L.) (EMBRAPA, 2005).

Os óleos essenciais também são úteis ao homem, para usos medicinais como aromaterápicos, antitumorais, antioxidantes, antidepressivos, antimicrobianos, vermífugos, inseticidas, acaricidas, etc. (SIMÕES & SPITZER 2004). Além do homem, outros animais podem beneficiar-se do uso dos compostos secundários. As formigas seqüestram citronelal das plantas e liberam-no na presença de inimigos e cupins seqüestram (sem alteração química) alfa e beta-pineno para causar irritação nos predadores (SIMÕES & SPITZER, 2004).

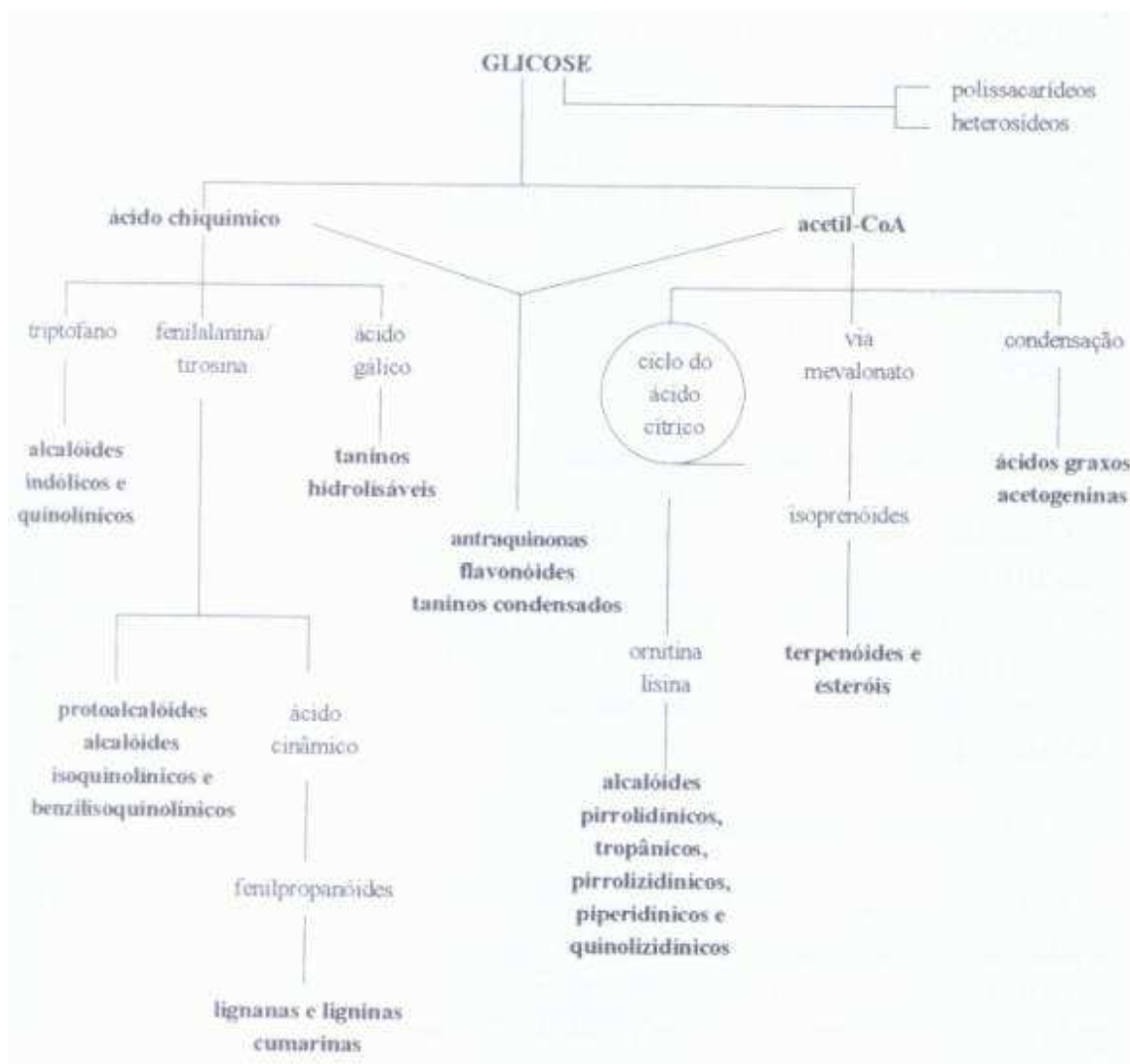


Figura 1: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários, a partir da glicose (SANTOS, 2004).

1. 3. *Mentha x piperita* L.

As plantas medicinais do gênero *Mentha*, conhecidas popularmente como hortelãs ou mentas, compreendem cerca de 30 espécies diferentes, pertencentes à ordem Tubiflorae (Lamiales) e família Lamiaceae (PATON *et al.*, 2000; DORMAN, *et al.*, 2003). As hortelãs de uso popular mais freqüente são a hortelã-verde (*Mentha spicata* L.); o mentrasto (*Mentha rotundifolia* Huds); menta-do-levante (*Mentha citrata* Ehrhart); *Mentha crispa* L., *Mentha*

arvensis L. e a hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L.) a mais famosa das hortelãs, sendo as duas últimas as mais ricas em mentol (BRUGNERA *et al.*, 1999).

Supõe-se que as hortelãs tenham sido introduzidas na Europa, via norte da África, vinda do Oriente (RUSSOMANNO *et al.*, 2005). Atualmente as espécies encontram-se em quase todo centro e sul da Europa e norte da África (SANCHES *et al.*, 1996) e nas Américas, incluindo o Brasil, onde ocorrem desde a época da colonização (LORENZI & MATOS, 2002).

Segundo CARDOSO *et al.* (2001), desde a Antigüidade as plantas do gênero *Mentha* são usadas para fins medicinais, alimentícios e cosméticos. Os efeitos medicinais da hortelã estão associados à presença de óleos essenciais. Seu uso popular está relacionado ao sistema gastrointestinal como espasmolítica, antiemética, carminativa, estomáquica, anti-helmíntica, (LORENZI & MATOS 2002) broncodilatadora (SIMÕES & SPITZER, 2004) e estimulante do sistema nervoso (CARDOSO *et al.*, 2001).

As espécies de hortelã hibridizam facilmente entre si porque gera variantes morfológicos, o que torna difícil sua identificação botânica (HALLIDAY & BEADLE, 1972). *Mentha x piperita* L. é tetraplóide ($2n = 4x = 72$) originada da hibridização natural, entre a *Mentha spicata* L. (sinonímia *Mentha viridis* L.) ($2n = 48$) e *Mentha aquatica* L. ($2n = 96$) e estéril (SATO *et al.*, 1996; AFLATUNI, 2005). As plantas de *Mentha x piperita* são perenes de crescimento rápido e fácil, possuem ramos quadriculares de coloração verde-escura a roxo-purpúrea, semi-ereta ou ramificando-se por mais de 50 cm. Possuem folhas pequenas e opostas, elíptico-acuminadas, denteadas, pubescentes e muito aromáticas (LORENZI & MATOS, 2002), de cor verde-escura. As flores estão reunidas em espigas de coloração violácea (CARDOSO, 2001) e o fruto é do tipo aquênio (JOLY, 1970).

Mentha x piperita é cultivada principalmente nas regiões de clima temperado, nos continentes da Austrália, África, Ásia, Europa e nas Américas, principalmente nos Estados Unidos da América.

O óleo de *Mentha x piperita*, cujo principal componente é o mentol, é usado na indústria de fármacos, perfumes, bebidas, higiênicas e tabaco (MAROTTI *et al.*, 1993; PICCAGLIA, 1993; MAIA, 1998) e como flavorizantes na indústria alimentícia (LAWRENCE, 1981). O óleo ou apenas o seu componente mentol também é usado como

antifúngico e antibacteriano (SINGH *et al.*, 1992), antialérgico (GHERMAN *et al.*, 2000), antiviral (SCHUMACHER *et al.*, 2003), contra candidíase (DUARTE *et al.*, 2005), bem como para combater e repelir insetos (ASNARI *et al.*, 2000).

A comercialização do mentol da *Mentha x piperita* ultrapassa 5.000 toneladas anuais com um faturamento de US\$ 50 milhões/ano, sendo 90% da produção oriunda dos EUA (TAVISH & HARRIS, 2002).

Para os pesquisadores FAHN (1979); MAFFEI *et al.* (1989); BRUN *et al.* (1991); TURNER *et al.* (2000), as plantas de *Mentha x piperita* possuem três tipos de tricomas foliares e caulinares: os não-glandulares unicelulares e multicelulares unisseriados; os tricomas glandulares peltados, formados por oito células secretoras uma célula suporte e uma basal, e os tricomas capitados, formados por uma célula secretora, uma célula suporte e uma célula basal.

O sítio da biossíntese dos óleos essenciais em *Mentha x piperita* está localizado especificamente nas células secretoras dos tricomas glandulares (GERSHENZON *et al.*, 1989; McCASKILL *et al.*, 1992). Os tricomas glandulares peltados são responsáveis pela maior produção dos óleos essenciais, enquanto os tricomas glandulares capitados apresentam pequena quantidade de óleo (TURNER *et al.*, 2000).

Dos componentes totais dos óleos essenciais, 90% são de monoterpenos formados pela junção de dois isoprenos. Os terpenóides, biossinteticamente, são derivados do acetato, pela via do ácido mevalônico. São formados por unidades de isoprenos constituídos de cinco unidades de carbono (SIMÕES & SPITZER, 2004). No caso de *Mentha x piperita*, o difosfato de geranila dá início à síntese de seus principais monoterpenos, atribuindo-se a estes as funções de defesa contra herbivoria, agentes antimicrobianos e alelopáticos. A figura 2 mostra o principal caminho da biossíntese dos monoterpenos em *Mentha x piperita* e *Mentha spicata* (RINGER *et al.*, 2005).

Os óleos essenciais extraídos da *Mentha x piperita* são constituídos principalmente de mentol (30-70%) e mentona (14-32%). Outros metabólitos secundários foram detectados neste híbrido como aminas, taninos, fenóis, triterpenóides, flavonóides, quinonas, lactonas, açúcares redutores, saponinas e princípios amargos (LEVIN, 1973; SANCHES *et al.*, 1996; CARDOSO *et al.*, 2001) sendo em torno de 200 os componentes já detectados (TAVISH & HARRIS, 2002).

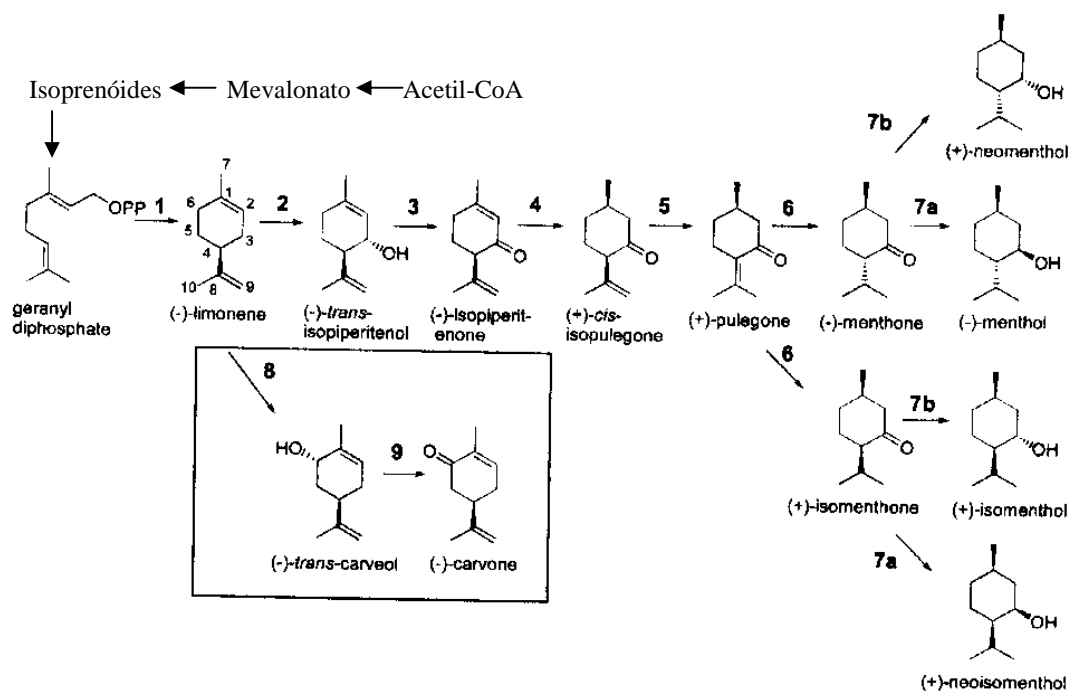


Figura 2: Principal caminho da biossíntese dos monoterpenos em *Mentha x piperita*. As enzimas indicadas são: 1) (-) limoneno sintase, 2) (-) citocromo P450-limoneno-3-hidroxilase, 3) (-) trans-isopiperitenol desidrogenase, 4) (-) isopiperitenona redutase, 5) (+) cis-isopulegone isomerase, 6) (+) pulegone redutase, 7 a) (-) mentona: mentol redutase, 7 b) (-) mentona: neomentol redutase e em *Mentha spicata* 8) (-) citocromo P450-limoneno-6-hidroxilase, 9) (-) trans-carveol desidrogenase (RINGER *et al.*, 2005).

1. 4. Influência de fatores ambientais na produção dos óleos essenciais

Fatores ambientais podem interferir na produção de metabólitos secundários (TURNER *et al.*, 2000). O teor de determinado óleo essencial, por exemplo, pode ser afetado pela hora do dia, fotoperíodo, intensidade luminosa, temperatura, localização geográfica, nutrição e água (FRANZ *et al.*, 1984; BROWN JÚNIOR, 1988; LI & CREKER, 1996; SOUSA, 1998; TURNER *et al.*, 2000; PINTO *et al.*, 2001; CASTRO, 2002).

A hora do dia interfere na produção de óleos essenciais, sendo que BARRACA & MINAMI (1999), PINTO *et al.* (2001) e SIMÕES & SPITZER (2004) recomendam que as

plantas que serão usadas para a produção de óleos essenciais ou compostos secundários deva ser colhidas pela manhã, após a secagem do orvalho, quando as concentrações de óleos essenciais são maiores em relação aos compostos primários. Em *Mentha x piperita* a exposição ao sol, a temperatura, a umidade e o regime dos ventos exercem influência direta na estocagem de óleos voláteis. (SIMÕES & SPITZER, 2004).

A produção de óleo essencial de *Mentha x piperita* é grandemente influenciada pela estação do ano, condições de cultivo e localização geográfica (FRANZ *et al.*, 1984). O cultivo com alta densidade de plantas pode reduzir a produção de óleo essencial, porque diminui a área foliar por planta devido à queda das folhas provocada pela umidade do adensamento. O tempo ensolarado nas semanas que antecedem a colheita aumenta a produção de óleos essenciais da *Mentha x piperita*, entretanto chuvas intensas diminuem a produção (TAVISH & HARRIS, 2002).

No caso específico de *Mentha x piperita*, a produção de óleos essenciais foi afetada pela intensidade luminosa e temperatura, sendo que a baixa intensidade luminosa e variações extremas de temperatura geralmente contribuem para a redução na produção dos óleos essenciais (BURBOTT & LOOMIS, 1967; WESTPHALEN, 1976; LIMA *et al.*, 2003).

A latitude também influencia a produção dos óleos essenciais. Estudos realizados por FRANZ *et al.* (1984) com *Mentha x piperita* em dois locais com latitudes diferentes, Weihenstephan na Alemanha (latitude 48,5°) e Izmir na Turquia (latitude 38°) mostraram que as melhores latitudes para a produção de óleo se encontram entre 45° a 50° de latitude e que abaixo de 40° de latitude a qualidade do óleo essencial é altamente influenciada, apresentando baixos teores de mentol e altos teores de mentofurano e pulegona, devido aos fotoperíodos máximos serem abaixo de 16 a 18 h. Para que um óleo essencial seja considerado de boa qualidade este deve conter mais que 40% de mentol, 18 a 25% de mentona e menos de 6% de mentofurano (I.T.E.I.P.M.A.I., 1989). Dias longos favorecem aumentos na produção de óleo com alto teor de mentol e mentona e baixos teores de mentofurano (MAROTTI *et al.*, 1993). BURBOTT & LOOMIS (1967) encontraram altos teores de mentol e mentona com baixos teores de mentofurano e pulegona em folhas maduras de *Mentha x piperita* submetidas a um fotoperíodo de 18 h com temperaturas diurnas de 25°C e noturnas de 8°C.

Em cultivo hidropônico, a ausência de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio podem alterar as proporções entre os componentes do óleo essencial, entre limoneno, mentona, mentol e acetato de mentila do óleo essencial em *Mentha x piperita* (MAIA, 1994).

Na Austrália a sugestão é que se colham as plantas de menta em completa floração, enquanto no Reino Unido, a colheita começa no início da floração para minimizar o conteúdo de mentofurano (TAVISH & HARRIS, 2002). BURBOTT & LOOMIS (1967), encontraram nas inflorescências de *Mentha x piperita*, altos teores de mentofurano e pulegona, mas durante o florescimento das plantas, encontraram nas folhas, maior teor de mentol e mentona.

1. 5. Influência de fatores intrínsecos ao vegetal na produção de óleos essenciais

Entre os fatores intrínsecos às plantas que influenciam na produção de óleos essenciais destacam-se a idade, o órgão vegetal e a fase de desenvolvimento (WHITE *et al.*, 1987; SANCHES *et al.*, 1996). Assim folhas de *Mentha x piperita* contêm em torno de 2% de óleo essencial e os caules, em torno de 0,8% (SANCHES *et al.*, 1996). Durante o desenvolvimento da folha, o conteúdo total de óleos essenciais em *Mentha x piperita* aumenta com a idade e a sua composição sofre mudanças significativas (MAFFEI *et al.*, 1989; BRUN *et al.*, 1991). As plantas geralmente produzem maior quantidade de óleos essenciais na fase de floração, para suas relações ecológicas; principalmente na atração de polinizadores. Os maiores teores de óleos essenciais e mentol nas folhas de *Mentha x piperita* foram obtidos em plena floração, porém diminuíram após a floração (BOUVERAT-BERNIER, 1989). (LIMA & MOLLAN, 1952; WHITE *et al.*, 1987).

1. 6. Influência de fatores ambientais no desenvolvimento de plantas

As espécies vegetais podem ter seu crescimento influenciado pelas condições ambientais, as quais muitas vezes afetam a produção de fármacos por aumentar ou diminuir a

biomassa das plantas, ou por alterar a fisiologia das mesmas. Entre os principais fatores ambientais que influenciam o crescimento de plantas estão a luz e os nutrientes minerais e a temperatura (MAROTTI *et al.*, 1993; VILELA & RAVETTA, 2000).

Segundo LARCHER, (2000), o aumento no nível de luz proporciona um aumento na espessura da folha devido ao alongamento e/ou adição de células do parênquima paliçádico. Essa alteração do aparato fotossintético das folhas ocasionará um impacto fisiológico, o qual poderá acarretar alterações no metabolismo secundário (CASTRO *et al.*, 2003; ALMEIDA CORTEZ *et al.*, 2004).

RODRIGUES *et al.* (2004), cultivando *Mentha x piperita* com diversas soluções de fósforo, obtiveram aumento na produção de massa fresca e seca com o aumento das dosagens de fósforo, mas não aumentou os teores de óleo essencial, não significando ganhos de produção de óleo por planta.

As ótimas temperaturas diárias para o bom desenvolvimento de *Mentha x piperita* são máximas de 30°C e mínima de 11°C a 18°C (WHITE, 1980; DURIYAPRAPAN *et al.*, 1986; MAROTTI *et al.*, 1993). É uma planta de dias longos e requer fotoperíodos em torno de 14 horas para o seu bom desenvolvimento vegetativo e de 16 a 18 horas para o seu florescimento (BURBOTT & LOOMIS, 1967; FRANZ *et al.*, 1984).

Embora *Mentha x piperita* seja amplamente utilizada pela população, seu cultivo comercial no Brasil quase não existe devido á baixa produtividade dos seus óleos essenciais, ficando em torno de 1,4 mL/100g de massa seca (MS) (VALMORBIDA, 2003), muito abaixo do rendimento médio da Europa de 2,4 mL/100g de MS (ROHLOFF, *et al.*, 2005).

O presente trabalho visa avaliar, em *Mentha x piperita* L. var. *piperita* a influência da luz e disponibilidade nutricional nos parâmetros de crescimento e na produção de óleos essenciais, bem como verificar se as mudanças no crescimento da planta em função da variação de tais fatores ambientais refletem na quantidade de óleos essenciais e no teor de mentol.

2. OBJETIVOS

2. 1. Objetivo geral

Avaliar em *Mentha x piperita* var. piperita a influência da intensidade da luz e nutrição mineral no crescimento e na produção de óleos essenciais com vistas a obter informações sobre o melhor ambiente para o cultivo da planta.

2. 2. Objetivos específicos

1. Determinar a influência de diferentes intensidades luminosas e nutrição mineral no crescimento de plantas através de parâmetros como massa seca de órgãos vegetais, área foliar, densidade estomática e densidade de tricomas glandulares peltados e capitados.
2. Determinar o rendimento dos óleos essenciais das folhas e dos caules de plantas submetidas a três intensidades luminosas (100%, 70% e 50% de luz solar) e dois níveis de nutrição do substrato (solo de mata e solo de mata + adubo orgânico).
3. Realizar análise qualitativa dos óleos essenciais extraídos de folhas e caules em cada tratamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. 1. Material vegetal

O espécime de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* (figura 3) foi adquirido no horto medicinal da EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina-Chapecó) e cultivado na propriedade de Roque Luiz Pegoraro no município de Xaxim, SC, numa altitude de 770 m, latitude 26° 57' 42'' e longitude 52° 32' 5'' Oeste de Greenwich (OLIVEIRA, 1992) e identificado pelo Dr. Ray Harley (Royal Botanic Gardens, Kew - Reino Unido). A exsicata foi depositada no Herbário Flor da Universidade Federal de Santa Catarina sob o nº 35851



Figura 3: *Mentha x piperita* L. var. *piperita* em estágio de pré-floração.

3. 2. Obtenção de mudas e condições de crescimento das plantas

Os caules foram posteriormente propagados em Florianópolis, cujas coordenadas geográficas são 27° 35' 36'' S e 48° 35' 60'' W. Em 13 de agosto de 2005, os caules foram seccionados em segmentos em torno de 5 cm, cada um contendo quatro gemas. Para a produção de mudas os segmentos de caule (estolões) foram submetidos à desinfecção em solução de

hipoclorito de sódio a 2% por 24 horas e plantados em caixas de 50 cm x 50 cm x 15 cm contendo areia. As mudas produzidas, com um mês de idade (13 de setembro de 2005), contendo três a quatro pares de folhas foram destacadas de seus caules iniciais e transplantadas em sacos plásticos com volume de 2 L, contendo como substratos, terra de mata + composto orgânico (húmus de minhoca vermelha da Califórnia, marca ADUPLAN – CREA – 061623-6) na proporção de 1:1 ou terra de mata. A terra de mata foi coletada em um terreno montanhoso no Bairro Vargem Grande, Ilha de Florianópolis-SC. Os substratos adubados e não adubados foram submetidos à análise dos principais nutrientes, realizadas pela empresa CIDASC (Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina). As mudas foram submetidas a três tratamentos de luminosidade: 100% (pleno sol), 70% e 50% de luz solar e dois tratamentos nutricionais: terra de mata adubada e não adubada.

Tratamento 1 (T1) – 100% de luz e terra de mata + composto orgânico.

Tratamento 2 (T2) – 70% de luz e terra de mata + composto orgânico.

Tratamento 3 (T3) – 50% de luz e terra de mata + composto orgânico.

Tratamento 4 (T4) – 100% de luz e terra de mata.

As mudas foram transferidas para tabladros de madeira (figura 4 A) e colocadas sob tela plástica preta tipo sombrite, presa à armação de madeira de 1 m³. As telas plásticas de diferentes malhas permitiram a passagem das diferentes intensidades de luz (figura 4 B). A máxima densidade de fluxo de fótons ao meio dia foi de 1800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fótons, a 70% de luz de 1250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a 50% de luz de 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, medida com um quantômetro marca LICOR 250. As mudas dos tratamentos (T1) e (T4) foram utilizadas para comparar dados sobre adubação e foram submetidas a luz solar plena ou 100 % de luz.

Para cada tratamento utilizaram-se três tabladros (três repetições). Os tabladros foram distribuídos em fileira e alternadamente de acordo com a intensidade de luz, de maneira a não ocorrer auto-sombreamento (figura 4 B). Em cada tablado foram colocadas cinco plantas, num total de 15 plantas por tratamento. As plantas foram irrigadas duas vezes por semana e nos meses de janeiro e fevereiro, devido às altas temperaturas, foram irrigadas em dias alternados.

O experimento foi conduzido em área aberta no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.



Figura 4: Plantas de *Mentha x piperita* L. var. piperita cultivadas a pleno sol (A) e a 70% e 50% de luz solar (B).

3. 3. Coletas e análise estatística

Antes do início dos tratamentos, seis mudas foram coletadas para medida inicial da massa seca e área foliar. Passados 100 dias após o início dos tratamentos, três mudas por tratamento (uma de cada repetição) foram coletadas para determinação da massa seca e área foliar. Aos 130 dias de tratamento, outras três mudas por tratamento (uma de cada repetição) foram coletadas para determinação da densidade estomática e de tricomas glandulares peltados e capitados. Aos 140 dias pós-plantio, as plantas dos tratamentos 100 %, 70 % e 50 % de luz e do tratamento em terra adubada, estavam em estágio de pré-florescimento, as plantas do T4 (sem adubação) não floresceram, sendo todas colhidas com idade de 140 dias (31 de janeiro de 2006), perfazendo nove mudas por tratamento (três de cada repetição), para a extração dos óleos essenciais

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para comparação de mais de duas médias, seguida do teste de Tukey. Para aplicar o teste ANOVA seguido de Tukey, foram aplicados inicialmente o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e o teste de homogeneidade de variâncias de Bartlett. Quando necessário os dados foram transformados em raiz quadrada para que o teste de análise de variâncias pudesse ser aplicado (SOKAL & ROHLF, 1969).

Quando foram comparadas duas médias, utilizou-se o teste t (SOKAL & ROHLF, 1969). O nível de confiabilidade foi de 95%. A análise foi feita através do programa computacional STATISTICA 6.0.

3. 4. Medição de variáveis de crescimento

A massa seca foi determinada por pesagem após a secagem do material por 48 horas a 80°C. Raízes e partes aéreas foram pesadas, separadamente, em balança analítica. A área foliar individual foi determinada em folhas da porção média do caule, através da comparação do peso do contorno das folhas desenhadas em papel com o peso de áreas conhecidas do mesmo papel. Foram utilizadas três plantas por tratamento, sendo que de cada planta retiraram-se nove folhas maduras, num total de vinte e sete folhas por tratamento.

A área foliar total das folhas maduras foi determinada pela multiplicação da área média individual de folhas maduras pelo número de folhas maduras.

Foram analisadas as taxas médias de crescimento relativo (TCR), a massa foliar específica (MFE) e razão raiz/parte aérea (R/PA), com as equações segundo HUNT (1982).

$$R/PA = M_{raiz} / M_{pa}$$

$$MFE = M_{foliar} / A$$

$$TCR = (\ln M_2 - \ln M_1) / (T_2 - T_1), \text{ onde } M_2 = \text{massa seca da coleta 2, } M_1 = \text{massa seca da coleta 1, } M_{raiz} = \text{massa das raízes, } M_{pa} = \text{massa da parte aérea, } T_1 = \text{tempo da primeira coleta, } T_2 = \text{tempo da segunda coleta, } M_{foliar} = \text{massa foliar, } A = \text{área foliar}$$

3. 5. Determinação da densidade estomática e de tricomas peltados e capitados

Para a determinação da densidade estomática e de tricomas peltados e capitados, foram retiradas impressões da região mediana da face abaxial da epiderme, com esmalte incolor de unhas, as quais foram montadas em lâmina e lamínula. Utilizou-se a região mediana das folhas por ser uma região onde as estruturas foliares não são nem tão velhas como as da base foliar, nem tão novas, como as do ápice foliar. Embora as folhas possuam estômatos e tricomas em

ambas as faces investigaram-se apenas a face abaxial da epiderme foliar para analisar o número de tricomas peltados e capitados e estômatos por serem encontrados em maior número nesta face. Folhas e parte de caules foram consideradas maduras, quando localizadas abaixo do terceiro nó a contar do ápice e jovens deste terceiro nó em direção ao ápice.

Para a contagem de tricomas e estômatos de folhas jovens foram utilizadas aquelas inseridas no terceiro nó basípeto. As contagens dos estômatos e tricomas capitados foi feita utilizando-se microscópio óptico, marca Zeiss modelo Laboval, fazendo leitura direta de 27 campos em 400 X de aumento. Com o auxílio de uma lâmina marcada em escala micrométrica, mediu-se o diâmetro do campo circular e calculou-se a área do círculo em micrômetros quadrados (μm^2) que por regra de três foram transformadas em mm^2 . Foi usado o mesmo procedimento para a contagem dos tricomas peltados, porém com 100 X de aumento.

A determinação das dimensões das células-guarda foi feita considerando o comprimento (eixo longitudinal, entre os dois pólos da célula) e largura (eixo transversal, na porção média da célula), quando em vista frontal da superfície epidérmica. As imagens foram projetadas sobre papel, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico. As dimensões foram determinadas com régua milimetrada e aferidas com escala micrometrada, para apresentação dos dados em micrômetros.

Para obter as micrografias de estômatos em microscópio óptico, foi utilizado material *in vivo*. Este foi seccionado paradermicamente, à mão-livre, com auxílio de lâmina de barbear. Para confecção de lâminas semipermanentes utilizou-se gelatina-glicerinada (KRAUS & ARDUIN, 1997).

As micrografias eletrônicas dos estômatos e tricomas foram obtidas através do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca Phillips, modelo XL30. Amostras de folhas de *Mentha x piperita* foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas, lavadas por 3 vezes em tampão fosfato de sódio e desidratadas em série etílica gradual. Após a desidratação, o material foi imerso em hexametildesilane (HMDS), por ½ hora, como meio substitutivo de ponto crítico de CO_2 que, pelo processo de sublimação, reduz a tensão superficial, evitando o colapso das estruturas (BOZZOLA & RUSSEL, 1991). As amostras secas foram aderidas sobre suportes de alumínio, com auxílio de

fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador marca Baltec, modelo CED030.

Foi determinado o número mínimo amostral através da equação $N = (t^2 \times s^2) / d^2$, onde o valor de **t** é dado pela tabela de Student (considerando n-1 para significância 0,05), **s** é o desvio padrão e **d** é igual a **E / 100 x média**, **E = 10** para 10% de probabilidade, valor considerado satisfatório (SOKAL & ROHLF, 1969).

3. 6. Determinação de óleos essenciais

Durante o último mês de cultivo observou-se o desenvolvimento de fungos nas folhas mais velhas e ataque de besouros da Subfamília Altixinae, de acordo com a classificação de BORROR *et al.* (1992). Para repelir os insetos foi aplicada uma infusão de chá de macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC), obtido por decocto, o qual foi aspergido sobre as plantas de todos os tratamentos a cada quatro dias durante 16 dias, sendo interrompido na última semana que antecedeu a colheita para a extração dos óleos (SAUPE, 2003)

Para que a extração dos óleos essenciais pudesse ser realizada com perdas mínimas por volatilização, tentou-se agilizar o processo, no sentido de reduzir o tempo decorrido desde a coleta até a extração. As plantas foram colhidas sete horas da manhã. Folhas e partes de caules foram separadas em jovens e maduras. Somente as folhas e caules sadios foram escolhidos. Todas as folhas jovens (Fj) ao serem destacadas dos caules jovens (Cj) foram misturadas e separadas em três amostras. Cada amostra foi pesada e submetida à extração do óleo por arraste de vapor d'água durante uma hora com o auxílio do aparelho de Clevenger (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 2000). A extração dos óleos essenciais das amostras foi feita simultaneamente utilizando-se três aparelhos para extração de óleo de folhas jovens e três aparelhos para extração de óleos de caules jovens.

Este procedimento ocorreu pela manhã e à tarde o mesmo procedimento ocorreu com folhas maduras (Fm) e caules maduros (Cm) do mesmo tratamento, de modo que o material de cada tratamento foi processado no mesmo dia.

O óleo volátil extraído foi acondicionado em vidro âmbar devidamente etiquetado e dessecado com Na_2SO_4 anidro e guardado em geladeira (SIMÕES & SPTIZER, 2004).

A análise semiquantitativa dos óleos foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD) para todas as amostras de óleo. Cada placa cromatográfica continha 12 amostras de um único tratamento (três amostras de óleos de folhas jovens, três de caules jovens, três de folhas maduras e três de caules maduros), juntamente com um padrão de mentol de concentração conhecida.

Os óleos essenciais e o padrão de mentol foram dissolvidos em três partes (v/v) de clorofórmio e aplicados com capilares padronizados em placas de sílica GF254, eluídas em clorofórmio/éter de petróleo (1:1). As placas foram reveladas com anisaldeído-sulfúrico a 100°C e observadas sob luz UV 254 e 365 nm (STAHL & SCHILD, 1981). Para documentação, as placas foram digitalizadas em scanner marca Genius – ColorPage-Vivid III V2. Para reavivar a cor das manchas, as placas 10 A e 10 B foram reaquecidas antes da digitalização, por isso apresentam coloração um pouco descaracterizada.

O rendimento relativo do óleo foi calculado em mL/100g de massa fresca para folhas e caules jovens e folhas e caules maduros. Também foi calculado o rendimento de óleo em mL/1000 tricomas e rendimento em mL/cm² de folhas maduras.

3. 7. Condições climáticas e composição química dos substratos de cultivo

O Anexo A apresenta as temperaturas médias máximas e mínimas mensais, temperaturas mínimas e máximas mensais absolutas e totais e valores de insolação mensal nos anos de 2005 até maio de 2006, período no qual foi feito o cultivo das plantas.

O Anexo B apresenta os fotoperíodos durante o crescimento das plantas.

O Anexo C apresenta a composição química dos substratos utilizados para o cultivo das plantas.

4. RESULTADOS

4.1. Morfologia de tricomas e estômatos

Foram encontrados tricomas glandulares peltados e capitados (figura 5) nas faces da epiderme adaxial e abaxial das folhas e nos caules. Não foram encontrados tricomas não glandulares. As folhas são anfiestomáticas com estômatos do tipo diacítico (figura 6) de acordo com a classificação de WILKINSON (1988).

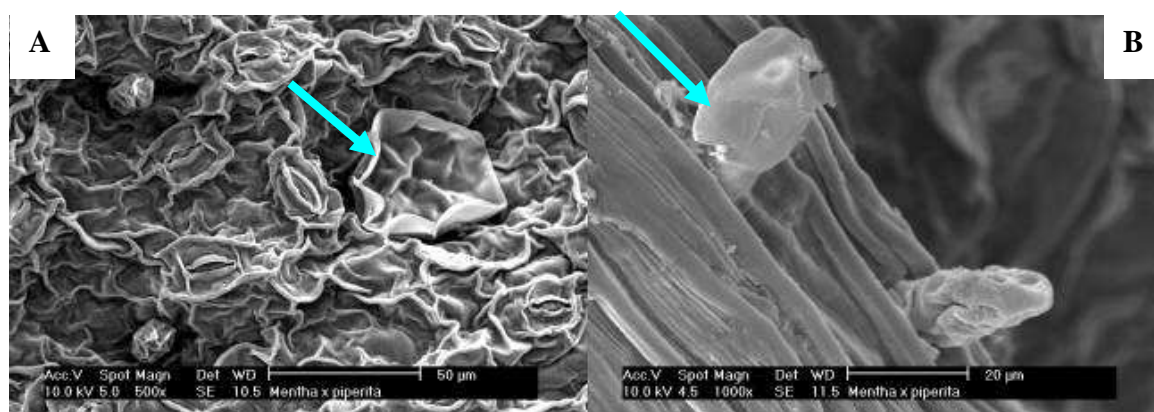


Figura 5. Micrografias eletrônicas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) da face abaxial da epiderme foliar da *Mentha x piperita* L. var. piperita. **A** - tricoma peltado (500 X - 50 µm). **B** – tricoma capitado (1000 X - 20 µm). Setas indicam tricomas.

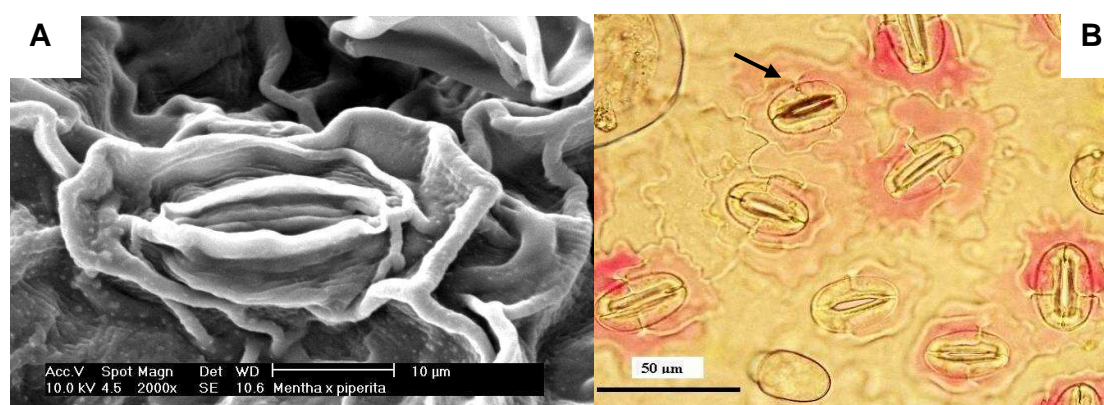


Figura 6: **A** – Micrografia eletrônica em microscópio eletrônico de varredura (MEV) de estômato diacítico (2000 X - 10 µm) de *Mentha x piperita* L. var. piperita. **B** – Micrografia em microscópio óptico (MO), (400 X - 50 µm) da face abaxial foliar de *Mentha x piperita* L. var. piperita evidenciando os estômatos (seta).

4. 2. Crescimento de plantas em diferentes níveis de luz e substratos

Os dados da tabela 1 mostram que as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram maior massa seca total (M_{total}), massa seca das raízes (Raiz) e da parte aérea (PA), massa foliar específica (MFE) e taxa de crescimento relativo (TCR) em relação ao tratamento de 50% de luz. Para os dados de M_{total} , massa das raízes e TCR, as plantas a 70 % de luz apresentaram valores intermediários entre os tratamentos de 100% e 50% de luz, nem sempre diferindo significativamente destes dois tratamentos. A área foliar média individual das folhas adultas foi menor em plantas cultivadas a pleno sol que nos demais tratamentos, porém a área foliar total (AF total) de folhas maduras foi maior em relação aos outros tratamentos de luz, evidenciando maior número de folhas neste tratamento.

As plantas cultivadas em terra adubada apresentaram maior massa seca total, massa seca das raízes e da parte aérea, MFE, área foliar individual, área foliar total de folhas maduras e TCR em relação à terra não adubada. Não houve diferenças significativas para a razão raiz/parte aérea entre os tratamentos com adubo e sem adubo. Para as plantas cultivadas em terra adubada, a área foliar média individual foi superior ao dobro das plantas cultivadas em terra sem adição de adubo e a área foliar total foi em torno de nove vezes maior.

Tabela 1: Massa seca total (Mtotal), razão raiz/parte aérea (R/PA), massa foliar específica (MFE), taxa de crescimento relativo (TCR), área foliar individual (AF individual) e área foliar total (AF total) de folhas maduras (média \pm desvio padrão) de *Mentha x piperita* L. var. piperita cultivadas sob condições diferentes de luz e nutrição do substrato.

Tratamentos	Mtotal (g)	Raiz (g)	PA (g)	R/PA	MFE (mg cm ⁻²)	TCR mg mg ⁻¹ d ⁻¹	AF	
							individual média (cm ²)	AF total (cm ²)
100% luz	24,04 a (\pm 2,9)	5,1 a (\pm 1,3)	18,96 a (\pm 2,1)	0,27 ab (\pm 0,06)	5,86 a (\pm 0,3)	0,0668 a (\pm 0,001)	7,53 b (\pm 0,27)	6466 a (\pm 639)
70% luz	16,85 a b (\pm 2,4)	4,15 a b (\pm 0,3)	12,7 b (\pm 2,2)	0,33 a (\pm 0,04)	4,53 b (\pm 0,06)	0,0632 a b (\pm 0,33)	9,12 a (\pm 0,12)	5022 b (\pm 157)
50% luz	14,60 b (\pm 3,3)	2,59 b (\pm 0,8)	12 b (\pm 2,5)	0,21 b (\pm 0,03)	4,1 b (\pm 0,3)	0,0617 b (\pm 0,002)	9,56 a (\pm 1,0)	5245 ab (\pm 621)
s/adubo	5,24 B (\pm 3,3)	1,14 B (\pm 0,6)	4,1 B (\pm 2,7)	0,30 A (\pm 0,09)	4,5 B (0,6)	0,0504 B (\pm 0,005)	3,04 B (\pm 0,7)	681 B (\pm 195)
c/adubo	24,04 A (\pm 2,9)	5,1 A (\pm 1,3)	18,96 A (\pm 2,1)	0,27 A (\pm 0,06)	5,86 A (\pm 0,3)	0,0668 A (\pm 0,001)	7,53 A (\pm 0,27)	6466 A (\pm 639)

Valores seguidos de letras minúsculas distintas nas colunas para os tratamentos de luz, diferem ao nível de 5% pela ANOVA seguida de teste de Tukey. Nos tratamentos com substratos diferentes valores seguidos de letras maiúsculas distintas diferem pelo teste t (Student) com $p < 0,05$. s/adubo = terra sem adubo; c/adubo = terra com acréscimo de adubo.

4. 3. Número de estômatos e dimensões das células-guarda

Observa-se, na tabela 2, que a densidade estomática para folhas maduras é maior para as plantas cultivadas em luz solar plena e 70% de luz, que para as plantas em 50% de luz; no entanto para o número total de estômatos por folha não diferiu significativamente para os três tratamentos. Para os tratamentos de terra com adubo e sem adubo, as plantas não apresentaram diferenças significativas na densidade estomática, mas o número total de estômatos por folha foi maior nas plantas cultivadas em terra adubada, devido à maior área das folhas neste tratamento (tabela 1). O comprimento e largura das células-guarda não foram influenciados pelos tratamentos.

Tabela 2: Densidade estomática, número de estômatos por folha madura, comprimento e largura das células-guarda estomáticas (média \pm desvio padrão), de *Mentha x piperita* var. piperita cultivadas sob condições diferentes de luz e nutrição do substrato.

Tratamento	Densidade estomática (n ^o /mm ²)	N ^o de estômatos por folha (x 10 ²)	Comprimento da célula guarda (µm)	Largura da célula guarda (µm)
100% luz	328,56 a (\pm 45)	2475 a (\pm 89)	26,50 a (\pm 2,2)	6,91 a (\pm 1,2)
70% luz	317,36 a (\pm 39)	2899 a (\pm 38)	25,14 a (\pm 2,9)	7,62 a (\pm 1,5)
50% luz	282,26 b (\pm 39)	2700 a (\pm 295)	26,78 a (\pm 2,8)	6,98 a (\pm 1,2)
s/adubo	312,88 A (\pm 40)	954 B (\pm 235)	26,49 A (\pm 2,7)	6,91 A (\pm 1,1)
c/adubo	328,56 A (\pm 45)	2475 A (\pm 89)	27,14 A (\pm 2,2)	7,26 A (\pm 1,2)

Valores seguidos de letras minúsculas distintas nas colunas para os tratamentos de luz diferem ao nível de 5% pela ANOVA seguida do teste de Tukey. Nos tratamentos com substratos diferentes, valores seguidos de letras maiúsculas distintas nas colunas diferem pelo teste t (Student) com $p < 0,05$. s/adubo = terra sem adubo; c/adubo = terra com acréscimo de adubo.

4. 4. Densidade de tricomas glandulares e de estômatos de acordo com a idade dos órgãos

A tabela 3 mostra o número de tricomas glandulares por mm² em caules e folhas de acordo com a idade dos órgãos e condições de cultivo da planta. As folhas jovens apresentaram maior número de tricomas quando as plantas foram cultivadas em 100% de luz. Para os tratamentos de 70% e 50% de luz não houve diferença significativa no número de tricomas. As folhas adultas não apresentaram diferença significativa no número de tricomas em todos os tratamentos de luz. Os caules jovens e maduros apresentaram maior número de tricomas em menor luminosidade (50%), sendo que os tratamentos de 100% e 70% de luz não apresentaram diferenças significativas entre si.

A nutrição do substrato afetou a densidade de tricomas em folhas, sendo maior em plantas cultivadas em terra adubada. A nutrição também afetou a densidade de tricomas em

caules maduros, mas não em caules jovens. A densidade estomática de folhas jovens foi afetada pela nutrição do substrato, mas não na de adultas, sendo que as folhas jovens apresentaram maior densidade estomática em substrato não adubado. A densidade estomática em folha jovem foi sempre maior que em folha madura, independente do tratamento dado.

Nas folhas, há redução na densidade de estômatos e tricomas com o aumento da idade do órgão, exceto para o número de estômatos no tratamento de 50 % de luz. Nos caules a densidade de tricomas também reduziu com a maturação do órgão.

Foi constatado que no tratamento com substrato sem acréscimo de adubo os caules e folhas desenvolveram pigmentação roxo-avermelhada mais intensa (figura 7) do que nos outros tratamentos. Isto pode ser devido a substâncias terpenóides com estruturas de quinonas que são relativamente comuns na família Lamiaceae (FALKENBERG, 2004).

Tabela 3: Densidade de tricomas (peltados + capitados) e estômatos em órgãos jovens e maduros (média \pm desvio padrão) de *Mentha x piperita* var. piperita cultivadas sob condições diferentes de luz e nutrição dos substratos.

Tratamentos	Densidade de tricomas (n°/mm ²)				Densidade estomática (n°/mm ²)	
	FOLHAS		CAULES		FOLHAS	
	Fj	Fm	Cj	Cm	Fj	Fm
100% de luz	86,03 a A (± 17)	59,27 a B (± 16)	111,16 ab A (± 18)	56,98 b B (± 9)	356,93 a A (± 35)	328,56 a B (± 45)
70% de luz	73,6 b A (± 21)	60,66 a B (± 13)	95,8 b A (± 22)	57,74 b B (± 11)	343,49 a A (± 46)	317,36 a B (± 39)
50% de luz	63,76 b A (± 16)	49,45 a B (± 22)	115,90 a A (± 26)	91,85 a B (± 17)	299,44 b A (± 31)	282,26 b A (± 39)
s/adubo	70,84 z Y (± 19)	43,72 z Z (± 12)	103,64 y Y (± 16)	27,49 z Z (± 5)	424,89 y Y (± 63)	312,88 y Z (± 40)
c/adubo	86,03 y Y (± 17)	59,27 y Z (± 16)	111,16 y Y (± 18)	56,98 y Z (± 9)	356,93 z Y (± 35)	328,56 y Z (± 45)

Letras (a – b) minúsculas comparam valores nas colunas pela ANOVA seguida pelo teste de Tukey para os tratamentos de luz e letras (y – z) para os tratamentos com substratos diferentes. Letras maiúsculas (A – B) comparam órgãos jovens e maduros (linhas) para os tratamentos de luz e letras maiúsculas (Y – Z) para os tratamentos de substratos diferentes pelo teste “t” onde $p < 0,05$. s/adubo = terra sem adubo, c/adubo = terra com acréscimo de adubo. Fj = folha jovem, Fm = folha madura, Cj = caule jovem, Cm = caule maduro.

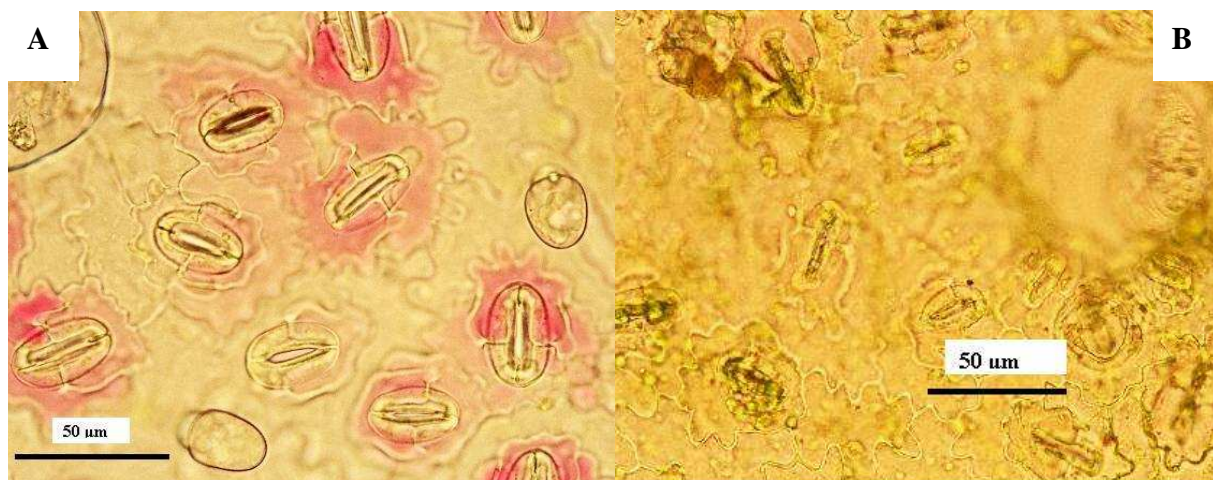


Figura 7: Micrografia em microscópio óptico da face abaxial da epiderme das folhas de *Mentha x piperita* L. var. *piperita* cultivadas em substrato sem adubo (A), evidenciando coloração roxo-avermelhado e substrato com adubo (B) (400 X - 50 µm).

4. 5. Análise do rendimento de óleos essenciais

4. 5. 1. Rendimento dos óleos essenciais em relação à idade dos órgãos

A tabela 4 compara o rendimento de óleo em mL/100 g de massa fresca (MF) entre tratamentos e idade de folhas e caules. Não houve diferença significativa no rendimento dos óleos essenciais em quaisquer dos tratamentos de luz e nutrição aplicados.

O estágio de maturação do órgão também não afetou no volume de óleo essencial extraído, salvo para caules de plantas a 50% de luz, onde caules jovens apresentaram maior rendimento de óleos essenciais que caules maduros.

Tabela 4: Volume de óleo extraído de folhas e caules jovens e maduros (média \pm desvio padrão) de *Mentha x piperita* L. var. piperita, cultivadas sob diferentes condições de luz e nutrição do substrato.

Tratamentos	FOLHAS (mL/100 g de MF)		CAULES	
	Fj	Fm	Cj	Cm
100% de luz	1,64 a A (± 2)	1,12 a A ($\pm 1,2$)	0,91 a A ($\pm 1,4$)	0,034 a A ($\pm 0,01$)
70% de luz	0,96 a A ($\pm 0,14$)	1,42 a A ($\pm 0,8$)	0,36 a A ($\pm 0,2$)	0,13 a A ($\pm 0,1$)
50% de luz	0,90 a A ($\pm 0,12$)	0,96 a A ($\pm 0,6$)	0,32 a A ($\pm 0,1$)	0,075 a B ($\pm 0,03$)
s/adubo	1,07 y Y ($\pm 0,5$)	0,49 y Y ($\pm 0,6$)	0,18 y Y ($\pm 0,1$)	0,37 y Y ($\pm 0,5$)
c/adubo	1,64 y Y (± 2)	1,12 y Y ($\pm 1,2$)	0,91 y Y ($\pm 1,4$)	0,034 y Y ($\pm 0,01$)

Letras (a – b) minúsculas comparam valores nas colunas pela ANOVA seguida pelo teste de Tukey para os tratamentos de luz e letras (y – z) para os tratamentos com substratos diferentes. Letras maiúsculas (A – B) comparam órgãos jovens e maduros (linhas) para os tratamentos de luz e letras maiúsculas (Y – Z) para os tratamentos de substratos diferentes pelo teste “t” onde $p < 0,05$. s/adubo = terra sem adubo, c/adubo = terra com acréscimo de adubo. Fj = folha jovem, Fm = folha madura, Cj = caule jovem, Cm = caule maduro.

4. 5. 2. Rendimento dos óleos essenciais em relação ao número de tricomas e por área de folha

A tabela 5 apresenta o rendimento de óleo em relação ao número de tricomas glandulares (peltados + capitados) e em relação à cm^2 de área de folha madura. Não foram encontradas diferenças significativas para os tratamentos de luz e nutrição do substrato.

Tabela 5: Rendimento de óleo por número de tricomas e por cm² de área foliar, em folhas maduras (média \pm desvio padrão) de *Mentha x piperita* L. var. piperita, cultivadas sob condições de luz e nutrição do substrato

Tratamentos	FOLHAS MADURAS	
	mL/1000 tricomas (x 10 ⁻⁵)	mL/cm ² (x 10 ⁻⁴)
100% de luz	0,993 a ($\pm 0,94$)	0,656 a ($\pm 0,7$)
70% de luz	0,993 a ($\pm 0,56$)	0,656 a ($\pm 0,43$)
50% de luz	0,743 a ($\pm 0,50$)	0,405 a ($\pm 0,28$)
s/adubo	0,386 A ($\pm 0,41$)	0,244 A ($\pm 0,33$)
c/adubo	0,993 A ($\pm 0,94$)	0,656 A ($\pm 0,7$)

Valores seguidos de mesma letra minúscula nas colunas para os tratamentos de luz, não diferem ao nível de 5% pela ANOVA seguida do teste de Tukey. Nos tratamentos com substratos, valores seguidos de mesma letra maiúscula não diferem pelo teste t (Student) com $p < 0,05$. s/adubo = terra sem adubo; c/adubo = terra com acréscimo de adubo.

4. 6. Correlação entre massa seca da parte aérea e área foliar total

A figura 8 mostra a correlação entre a massa seca da parte aérea e área total das folhas maduras, indicando alta correlação ($r = 0,96$) entre o aumento da área foliar e o aumento da massa seca da parte aérea. Este dado indica que conhecendo o teor de óleo essencial por área foliar pode-se extrapolar o teor de óleo por massa seca e vice-versa.

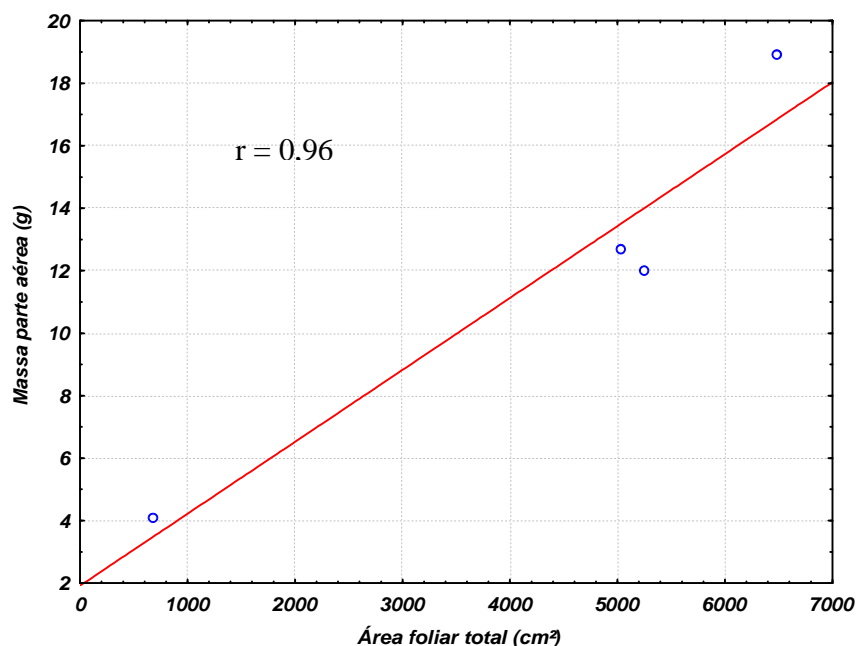


Figura 8: Correlação entre massa seca da parte aérea e área foliar total de folhas maduras de plantas de *Mentha x piperita* var. *piperita* cultivadas sob diferentes condições de luminosidade e substratos.

4. 7. Análise cromatográfica dos óleos essenciais

Os resultados das análises semi-quantitativas dos óleos (figura 9) mostram que o tamanho das manchas em fator de retenção (Rf) correspondente ao mentol nas placas cromatográficas são maiores e mais intensas que todos os outros componentes dos óleos extraídos das folhas. Isto sugere que o mentol é o componente majoritário dos óleos extraídos de folhas. O teor de mentol foi maior em folhas do que em caules. As folhas maduras do tratamento um (100 % de luz), produziram maior teor de mentol que as folhas jovens, quando comparadas aos outros tratamentos. Nos caules maduros as manchas de mentol foram maiores a 100 % de luz que nos demais tratamentos. Os caules maduros apresentaram manchas ligeiramente maiores que caules jovens nas plantas cultivadas a 100 % de luz.

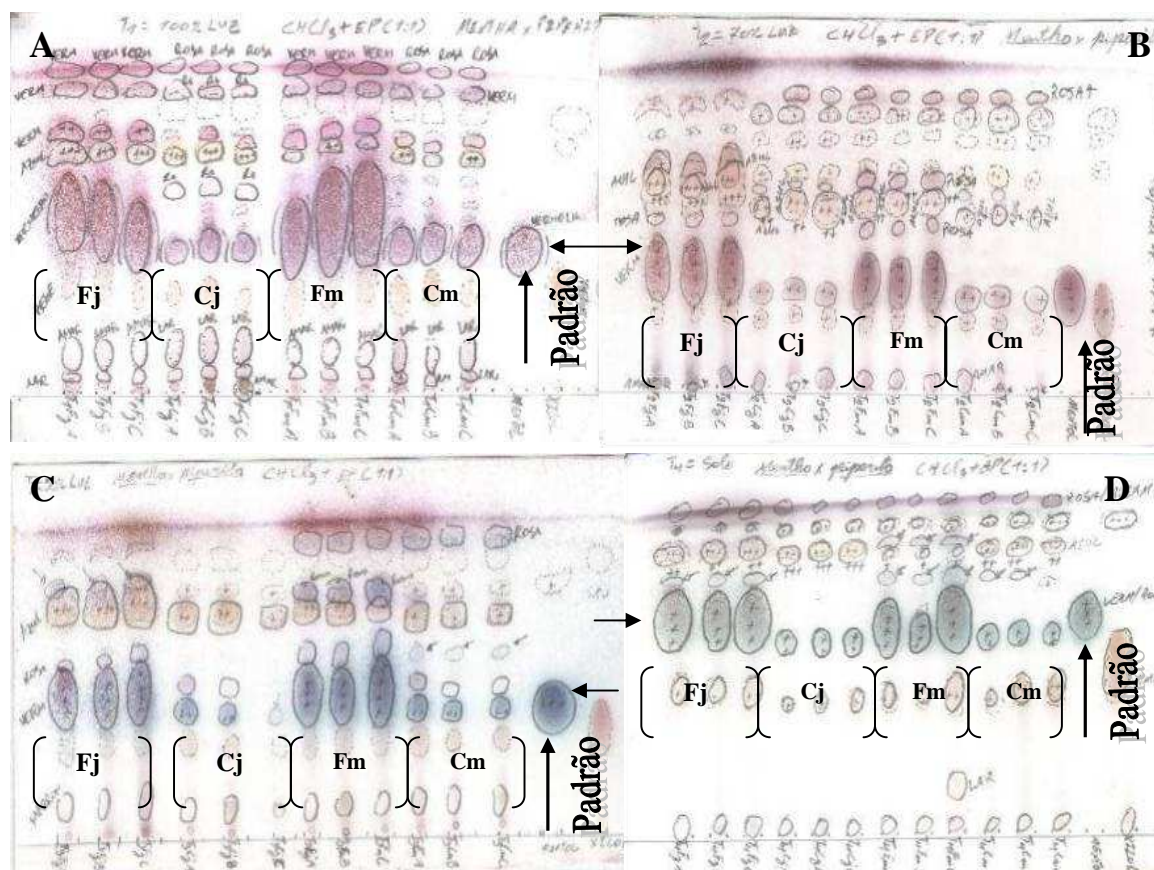


Figura 9: Cromatografia em Camada Delgada (CCD) das amostras dos óleos essenciais de *Mentha x piperita* L. var. piperita, cultivadas em: A - 100 % de luz, B - 70 % de luz, C - 50 % de luz e com solo adubado e D - solo não adubado em 100 % de luz. As setas indicam manchas correspondentes ao mentol e o padrão mentol. Os parênteses indicam as 3 amostras de Fj = folhas jovens, Cj = caules jovens, Fm = folhas maduras e Cm = caules maduros.

5. DISCUSSÃO

5. 1. Morfologia dos tricomas e estômatos

Mentha x piperita var. *piperita* apresentou dois tipos de tricomas foliares e caulinares: 1) tricoma glandular peltado, formado por oito células secretoras uma célula suporte e uma basal; 2) tricoma capitado, formado por uma célula secretora, uma célula suporte e uma célula basal. Não foram encontrados tricomas não-glandulares nos caules e nas faces abaxial e adaxial foliar para todos os tratamentos.

Segundo FAHN (1979) e TURNER *et al.* (2000) em *Mentha x piperita* são encontrados três tipos de tricomas: 1) não-glandulares unicelulares e multicelulares unisseriados; 2) tricomas glandulares peltados, formados por oito células secretoras uma célula suporte e uma basal, 3) tricomas capitados, formados por uma célula secretora, uma célula suporte e uma célula basal. Os óleos voláteis contendo na sua maioria monoterpenos são sintetizados pelas células secretoras e armazenados em espaço sub-cuticular das células do disco que compõe o tricoma peltado. O tricoma capitado possui limitada capacidade de armazenagem, acumulando uma mistura complexa de carboidratos, lipídios e proteínas (MAFFEI *et al.*, 1989; BRUN *et al.*, 1991; TURNER *et al.*, 2000).

Os estômatos encontrados são do tipo diacítico, isto é duas células subsidiárias circundam o estômato com sua parede comum em ângulo reto com as células-guarda, conforme descrição de WILKINSON (1988) para a família Lamiaceae.

5. 2. Crescimento em biomassa em diferentes níveis de luz e substrato

O crescimento da planta em termos de biomassa foi favorecido nas maiores intensidades luminosas, as quais proporcionaram maiores taxas de crescimento relativo (TCR). A razão raiz/parte aérea (R/PA) foi maior a 70 % de luz seguida pelo tratamento de 100 % de luz, mostrando que as plantas de menta nesta faixa de luz investiram no sistema radicular, o que favorece a captação de água e nutrientes (POORTER, 1999).

Quando as plantas são expostas a altas intensidades luminosas elas reduzem a transpiração por redução da área foliar, aumentam as taxas fotossintéticas pelo aumento da absorção de carbono devido ao acréscimo das camadas de células do mesófilo foliar aumentando a espessura da folha (MFE). A redução da área foliar ocasiona menor contato das folhas com a atmosfera, permitindo menor transpiração e maior perda de calor para a atmosfera (WIEBEL *et al.*, 1994; CASTRO, 2002; ILLENSEER & PAULILO, 2002; DUZ *et al.*, 2004). Este comportamento foi observado neste experimento com as plantas de menta.

Com relação à fertilidade do substrato, as plantas responderam bem à adubação, aumentando em torno de cinco vezes a biomassa em comparação com os solos não adubados. Todos os dados de crescimento avaliados como M(total), M(raízes), M(pa), MFE, TCR, área foliar individual e área foliar total foram maiores para as plantas cultivadas em substratos com acréscimo de adubo.

De acordo com o laudo de análise (Anexo C) os substratos sem acréscimo de adubo revelaram baixos níveis de fósforo e potássio em relação ao substrato adubado. O fósforo é incorporado nas moléculas de ATP ricas em energia que regulam o ciclo de Calvin e o transporte de metabólitos e de compostos assimilados. O íon potássio regula as relações hídricas da planta (LARCHER, 2000; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Em estudos de PRASZNA & BERNÁTH (1993) com *Mentha x piperita*, a ausência de N e P, reduziu o crescimento das plantas desde o início do seu desenvolvimento. VALMORBIDA (2003) encontrou redução na TCR e massa seca em cultivo de *Mentha x piperita* com baixos níveis de potássio. RODRIGUES *et al.* (2004) encontraram redução de massa seca e fresca, com redução de fósforo em solução de cultivo de *Mentha x piperita*.

As plantas cultivadas com adubo iniciaram precariamente o seu florescimento no final do cultivo aos 140 dias após o replantio e as não adubadas não floresceram. GHOSH & CHATIERJEE (1976), obtiveram o florescimento da *Mentha x piperita* em Budwan (Índia) aos 125 dias de cultivo em solos bem nutridos, enquanto que as plantas com deficiência nutricional somente floresceram 155 dias após o plantio.

5. 3. Densidade estomática, dimensões das células-guarda e área foliar

A densidade estomática tanto para folhas jovens quanto para as folhas maduras foi maior para as plantas cultivadas em intensidade de luz mais alta (70 % e 100 %). Entretanto não houve diferenças significativas para o total de estômatos por folha nos tratamentos de luz.

Assim, para ocorrer maior número de estômatos por unidade de área foliar em plantas cultivadas sob maior intensidade de luz, possivelmente ocorreu pouca expansão das células da epiderme e os estômatos permaneceram mais agrupados. A densidade dos estômatos é maior quando os tamanhos das células epidérmicas são menores e a densidade é menor quando as células da epiderme são maiores (WILKINSON, 1988). À medida que a intensidade de luz foi diminuída de 100 % para 70 % e 50 % de luz, houve aumento da área foliar e conseqüente redução da densidade estomática. Sugere-se que a intensidade de luz propiciou a expansão foliar, mas não alterou a diferenciação das células epidérmicas em novos estômatos, concordando com dados obtidos por KNECHT & O'LEARY (1972), para *Phaseolus vulgaris* L. SILVA & ANDERSON (1985), também trabalhando com *Phaseolus vulgaris* em diferentes intensidades luminosas, encontraram maior densidade estomática em maiores intensidades luminosas, mas constataram que não houve variação no índice estomático, considerando desta forma que a luz interfere na expansão foliar, mas não tem influência sobre a formação dos estômatos.

O aumento da densidade estomática em alta intensidade de luz é entendido como mecanismo que as plantas usam quando há baixa disponibilidade de água no solo (MEDRI & LLEDRAS, 1980; NAVES *et al.*, 1994). A proximidade dos estômatos permite que através da transpiração forme-se uma camada contínua de vapor de água sobre a lâmina foliar, impedindo o contato direto com o ar seco, permitindo que o estômato permaneça por mais tempo aberto, logo, melhorando a eficiência fotossintética da folha de sol (LARCHER, 2000). Estes resultados também foram encontrados em outras plantas herbáceas como *Fragaria virginiana* Duchesne (JURIK *et al.*, 1982) e *Phaseolus vulgaris* . (SILVA & ANDERSON) e, em plantas arbóreas como *Cecropia glazioui* Sneth., *Cedrela fissilis* Vell. e *Bathysa australis* (St. Hil.) Hook. Ex Sch. por DUZ *et al.* (2004) e *Garcinia mangostana* L. por WIEBEL *et al.* (1994).

A área foliar total da planta considerando apenas as folhas maduras foi maior na maior intensidade de luz (100 % de luz).

Nos tratamentos com substratos diferentes, o número de estômatos por folha foi maior em plantas cultivadas em substrato com acréscimo de adubo, mas a densidade estomática foi similar. A área foliar individual e área foliar de toda a planta foram maiores do que nas plantas cultivadas em substratos sem adubo; aqui a nutrição afetou a expansão foliar e o número de estômatos por folha pela diferenciação das células epidérmicas em novos estômatos. Estes dados concordam com aqueles obtidos por JURIK *et al.* (1982) com *Fragaria virginiana* os quais indicam que o fator nutricional possui grande influência para as respostas de área foliar e número de estômatos por folha.

Folhas jovens apresentaram maior densidade estomática que folhas maduras em quaisquer tratamentos; provavelmente pela expansão das células epidérmicas ainda não estar completa nessas folhas (WILKINSON, 1988). CASTRO (2002), trabalhando com cultivo de *Mikania glomerata* Sprengel. em diferentes sombreamentos, obteve independentemente dos sombreamentos maior densidade estomática para as folhas da região apical (mais jovens) em relação as basais (mais velhas). Também foi obtida maior densidade estomática em folhas jovens (regiões apicais) em outro estudo com *Mentha x gracilis* Sole cultivada em pleno sol, 30 % e 60 % de sombreamento (PEGORARO *et al.*, no prelo).

Para os tratamentos com substratos diferentes, as folhas maduras das plantas de menta não apresentaram diferenças significativas na densidade estomática, mas folhas jovens de plantas cultivadas em substratos sem adubo apresentaram maior densidade estomática que as folhas jovens cultivadas em solo com adubo, provavelmente pela menor velocidade de expansão celular em folhas de plantas sem adubo.

O comprimento e largura das células-guarda permaneceram sem alterações significativas para todos os tratamentos de luz e de substratos. O efeito da intensidade luminosa sobre as dimensões das células-guarda depende da espécie. DUZ (2001) estudando três espécies arbóreas da Mata Atlântica encontrou efeito da luminosidade nas dimensões das células-guarda em *Cecropia glazioui* e *Cedrella fissilis*, mas não em *Bathisa australis*.

O nível de ploidia das espécies também influencia no tamanho das células-guarda, das células epidérmicas e na densidade estomática. Trabalhos de MISHRA (1997) com gênero *Coffea*, mostrou que espécies com maior ploidia, apresentava maior tamanho das células-guarda e células epidérmicas, com redução na densidade estomática e índice estomático. Isto ocorreu devido a menor diferenciação das células epidérmicas em células-guarda.

5. 4. Densidade de tricomas peltados e capitados

MAFFEI *et al.* (1986); MAFFEI *et al.* (1989) e TURNER *et al.* (2000) encontraram cerca de três a dez vezes mais tricomas peltados na face abaxial da epiderme do que na adaxial, razão pela qual no presente estudo avaliou-se apenas a epiderme abaxial de folhas.

A densidade de tricomas decresce com o desenvolvimento da folha e do ápice para a base da folha (MAFFEI *et al.*, 1989; TURNER *et al.*, 2000). No presente trabalho, folhas jovens apresentaram maior densidade de tricomas que as maduras independentemente da intensidade de luz ou da fertilidade do substrato concordando com os dados da literatura.

A intensidade de luz não influenciou a densidade de tricomas em folhas maduras, mas influenciou em folhas jovens, com maior densidade de tricomas naquelas expostas a pleno sol. A explicação para este fato poderia ser proteção das folhas jovens da alta intensidade luminosa, para evitar a perda de água por transpiração comentada por WOODMANN & FERNANDES (1991) e proteção química contra herbívoros e patógenos (LEVIN, 1973).

Plantas adubadas apresentaram folhas jovens e maduras com maior densidade de tricomas, quando comparado com as não adubadas.

Embora nas folhas adultas das plantas de *Mentha x piperita* objeto do nosso estudo, não tenham variado significativamente a densidade de tricomas nos tratamentos de luminosidade, pode-se esperar que plantas com maior área foliar total tenham maior número de tricomas e maior rendimento de óleo essencial.

5. 5. Rendimento e composição dos óleos essenciais

A colheita das plantas para análise do rendimento de óleos foi feita pela manhã já que a quantidade e a qualidade dos óleos essenciais de *Mentha x piperita* podem variar diariamente e/ou de hora em hora. Em *Mentha x piperita* o rendimento e qualidade do óleo essencial da colheita da manhã são melhores do que da colheita no período da tarde, ocorrendo alterações também se houver murchamento das folhas e caules (TAVISH & HARRIS, 2002; ROHLOFF *et al.*, 2005).

Em relação aos resultados obtidos, os tratamentos de luz e nutrição do substrato não interferiram no rendimento de óleo por tricomas ou por cm² de área foliar. No entanto, como a quantidade de área foliar por planta aumentou com maior intensidade luminosa, é possível supor que o rendimento de óleo por planta seja aumentado em virtude do aumento do número de tricomas por planta. Estes resultados são consistentes com os dados encontrados na literatura, onde se encontra variação no rendimento de óleo por planta em diferentes intensidades de luz e nutrição do substrato em virtude da maior produção da planta (BURBOTT & LOOMIS, 1967; VALMORBIDA, 2003).

As diferenças na quantidade de óleo essencial extraído por 100 g de massa fresca também não foram significativas entre os tratamentos de luz e nutrição do substrato. VALMORBIDA (2003), cultivando *Mentha x piperita* em diferentes níveis de potássio, não obteve diferenças significativas na quantidade de óleo essencial por 100 g de massa seca. Maior rendimento de óleo por planta foi encontrado por vários autores que utilizaram tratamentos que resultaram em aumento de massa seca da parte aérea. Aumento do rendimento absoluto de óleo em *Mentha x piperita* e *Mentha spicata* com o aumento da massa seca devido a elevação do teor de nitrogênio, potássio e fósforo no solo foi relatado por GHOSH & CHATIERJEE (1976). Estes autores obtiveram também retardo na floração em plantas não adubadas. Os dados de floração estão de acordo com os dados encontrados no presente trabalho.

RODRIGUES *et al.* (2004) cultivando *Mentha x piperita*, obtiveram redução no rendimento relativo de óleo em massa fresca com o aumento das dosagens de fósforo. Os autores concluem que a diluição do teor foliar de óleo foi proporcional ao crescimento das folhas, obtendo praticamente a mesma quantidade de óleo por planta nos diferentes tratamentos.

As análises semi-quantitativas dos óleos de menta realizadas pela técnica da CCD indicam que o teor de mentol foi maior nas folhas e caules maduros cultivados em luz solar plena e substratos adubados, quando comparadas com os outros tratamentos, o que concorda com os dados de MAFFEI *et al.* (1969) que também encontraram maior concentração relativa de mentol em folhas maduras.

Ao comparar o tamanho de todas as manchas (substâncias) produzidas em todas as amostras de óleo das folhas, pode-se concluir que a concentração relativa e o teor de mentol são maiores que todos os outros componentes do óleo essencial para todos os tratamentos.

5. 6. Considerações sobre as condições de cultivo das plantas

As temperaturas a que as plantas de menta foram submetidas durante o período de cultivo estiveram em torno de máximas de 30 e 35°C e mínimas de 7,5°C e 8,5°C, consideradas próximas da faixa normal para o cultivo da espécie, de acordo com dados de WHITE, 1980; DURIYAPRAPAN, S. *et al.*, 1986; MAROTTI *et al.*, 1993, que observaram que as melhores temperaturas diárias para o bom desenvolvimento das plantas de *Mentha x piperita* ficam em torno das máximas de 30°C e mínimas de 11°C a 18°C.

Comparando-se o número de horas de brilho solar (Anexo A) com o total de horas de luz diária (fotoperíodo), no período do experimento (Anexo B) verificou-se que a insolação foi reduzida, provavelmente em virtude de nebulosidade e em consequência a temperatura. O fotoperíodo máximo de 14 h 46 min. obtidos em Florianópolis na latitude 27° 36' S, mostrou-se abaixo do exigido pela espécie *Mentha x piperita* relatados na literatura, que é de 16 a 18 h de luz para seu bom desenvolvimento, floração, rendimento e qualidade dos óleos essenciais, sendo a espécie considerada de dias longos (CLARK & MENARY, 1980; FRANZ, *et al.*, 1984). Entretanto BURBOTT & LOOMIS (1967) ao cultivar *Mentha x piperita* em fotoperíodo de 14 horas obtiveram plantas com bom desenvolvimento, menor floração e menor rendimento de óleo essencial. Embora os experimentos feitos neste trabalho não tenham sido montados nas condições ideais de fotoperíodos, este fator não interferiu para o alcance do objetivo proposto o qual foi verificar o efeito de diferentes intensidades luminosas e níveis nutricionais do substrato no crescimento e produção de óleos essenciais em *Mentha x piperita*.

5. 7. Considerações finais

Tendo em vista que: a) a alta intensidade de luz (100% da luz solar plena) e adubação orgânica do solo favoreceram a produtividade de plantas tanto em termos de massa seca como de óleo essencial por aumentarem a biomassa e área foliar total da planta; b) em maior intensidade de luz houve aumento do teor de mentol; c) esta espécie possui a capacidade de fazer ajustes na morfologia e fisiologia para adequar-se a mudanças na intensidade luminosa e nutrição do solo, minimizando ou evitando os possíveis estresses causados pela variação desses fatores, indica-se o cultivo *Mentha x piperita* L. var. piperita (hortelã pimenta) em condições de luminosidade a pleno sol e em solo adubado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFLATUNI, A. 2005. **The yield and essential oil content of mint (*Mentha spp*) in northern Ostrobothnia**. Dissertation, University of Oulu. Oulun Yliopisto, Oulu. 50 p.

ALMEIDA-CORTEZ, J. ; SHIPLEY, B. ; ARNASON, J. T. 2004. Growth and chemical defense in relation to resource availability: tradeoffs or common responses to environmental stress? **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 2, p. 187-194.

ALVES, M. da C. S.; FILHO, S. M.; INNECCO, R.; TORRES, S. B. 2004. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1083-1086.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Eds.). 2003. **Anatomia Vegetal**. Viçosa, Ed. Folha de Viçosa Ltda. 438 p.

ASNARI, M. A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. K. 2000. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**, v. 71, n.3, p. 267-271.

ATROCH, E.A.C. 1999. Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forticata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiação. Dissertação de Mestrado em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Lavras, Lavras., MG. 62 p.

BARRACA, A. S. & MINAMI, K. 1999. Manejo e produção de plantas medicinais e aromáticas. Relatório do estágio supervisionado, produção vegetal II. ESALQ, Piracicaba. 49 p.

BORROR, J. D.; TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. 1992. **An introduction to the study of insects**. 6ª ed. Saunders College Publishing: Harcourt Brace College Publishers. 875 p.

BOUVERAT-BERNIER, J. P. 1989. Effect of frequency and stage of cutting on yields and quality of essential oil of Hungarian peppermint. **Herba – Gallica**, v. 17, p. 49-64.

BOZZOLA, J. J. & RUSSEL, L. D. 1991. **ElectronMicroscopy. Principles and Tecniques for Biologistys**. Boston, Jones and Barlett Publishers. 54 p.

BROWN Jr., K. S. 1988. Engenharia ecológica: perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. **Acta Amazônica**, v.18 n.1-2, p. 291-303.

BRUGNERA, A.; CARDOSO, D.; BOUERI, M. A.; MALUF, W. R. 1999. Cultivo e propriedades medicinais da hortelã. **Boletim Técnico de Hortaliças** – Departamento de Agricultura da UFLA, Lavras – Minas Gerais, N^o 34, 1^a. ed, Julho. Disponível em:<<http://www2.ufla.br/~wrmaluf/bth034/bth034.html>> Acesso em : 21 maio. 2003.

BRUN, N; COLSON, M; PERRIN, A; VIRIN, B. 1991. Chemical and morphological studies of the effects of aging on Monoterpene composition in *Mentha x piperita* leaves. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, p. 2271-2278.

BURBOTT, A. J. & LOOMIS, W. D. 1967. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. **Plant Physiology**, v. 42, n.1, p.20-28.

CALIXTO, J. B. 2001. Estudo farmacológico pré-clínico de plantas medicinais. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. (Org). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos. p. 77-99.

CARDOSO, M. G.; SHAN, A. Y. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; FILHO, N. D.; BERTOLUCCI, S. K. V. 2001. **Metabólitos secundários vegetais: visão geral química e medicinal**. Lavras: UFLA. 81 p.

CASTRO, E. M. de. 2002. Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em *Mikania glomerata* Sprengel. (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento. Tese de Doutorado em Fitotecnia. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 221 p.

CASTRO, E. M de.; PINTO, J. E. B. P.; ALVARENGA, A. A.; LIMA Jr., E. C.; BERTOLUCCI, S. K. V.; SILVA-FILHO, J. L.; VIEIRA, C. V. 2003. Crescimento e anatomia foliar de plantas jovens de *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) submetidas a diferentes fotoperíodos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1293-1300.

CLARK, R.J. & MENARY, R.C. 1980. Environmental effects on Peppermint (*Mentha piperita* L.) I. Effects of day length, photon flux density, night temperature and day temperature on the yield and composition of peppermint oil. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.7, n. 6, p. 685-692.

CRUZ, E. da S.; NOZAKI, M. de H; BATISTA, M. A. 2003. Plantas Medicinais: plantas medicinais e alelopatia. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, n. 15, p. 28-34.

DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4563-4569.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELINA, C. 2005. Anti – *Candida* Activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 9, p. 305–311.

DURIYAPRAPAN, S.; BRITTEN E. J.; BASFORD, K. E. 1986. The effect of temperature on growth, oil yield and oil quality of japanese mint. **Annals of Botany**, v. 58, nº 5, p. 729-736.

DUZ, S. R. 2001. Respostas de crescimento de três espécies arbóreas da floresta atlântica à variação na quantidade de luz. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 77 p.

DUZ, S. R.; SIMINSKI, A.; SANTOS, M.; PAULILO, M. T. S. 2004. Crescimento inicial de três espécies arbóreas da floresta atlântica em resposta à variação na quantidade de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 3, p. 587-596.

EMBRAPA. As plantas praguicidas. Disponível em <http://www.cnpma.embrapa.br/informativo/mostra_informativo.php3?id=241>. Acesso em: 05 de junho de 2005.

FAHN, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press. 302p.

FALKENBERG, M. B; SANTOS, R. I; SIMÕES, C. M. O. 2004. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* (org.). **Farmacognosia – da planta ao medicamento**: 5^a Ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC. p. 229-245.

FALKENBERG, M. B. 2004. Quinonas. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* (org.). **Farmacognosia – da planta ao medicamento**: 5^a. Ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC. p. 657-683.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV. 2000. ed. 4, parte I, São Paulo: Ateneu, v. 4, p. 2-7.

FLORES, D. 2006. Legislação de plantas medicinais e fitoterápicos. In: **V Jornada Catarinense e I Jornada Internacional de Plantas Mediciniais: diversidade na unidade**, 2006, Joinville SC/Brasil. Livro de Resumos. UNIVILLE – ACPM – CSPM – CEDERURAL/SAR.

FRANZ, C.H.; CEYLAN, A.; MÖLZEL, I.; VOMEL, A. 1984. Influence of the growing site on the quality of *Mentha piperita* L. oil. **Acta Horticulturae**, v. 144, p. 145-148.

GERSHENZON, J.; MAFFEI, M.; CROTEAU, R. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). **Plant Physiology**, v. 89, p. 1351-1357.

GHERMAN, C.; CULEA, M.; COZAR, O. 2000. Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. **Talanta**, v. 53, n.1, p. 253 – 262.

GHOSH, M. L. & CHATIERJEE, K. 1976. Effect of N:P:K fertilizers of growth, development & essential oil content of *Mentha spp.* **Indian Journal of Experimental Biology**, v.14, p. 366-367.

GUSMAN, A.B.; MUCILLO, G.; PIRES, M.H. 1990. Efeito do citrionelol sobre a germinação e desenvolvimento do amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.). **Semina**, v.11, n.1, p. 20-24.

HALLIDAY, G. & BEADLE, M. 1972. **Flora Europea**. London: Cambridge, v. 3, p. 185-186.

HUNT, R. 1982. **Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis**. London: Edward Arnold. 248 p.

ILLENSEER, R. & PAULILO, M. T. S. 2002. Crescimento e eficiência na utilização de nutrientes em plantas jovens de *Euterpe edulis* mart. Sob dois níveis de irradiância, nitrogênio e fósforo. **Acta Botânica Brasilica**, v. 16, n. 4, p. 385-394.

I.T.E.I.P.M.A.I. 1989. **Fiches Techniques Chemille**, France, nº 4. p. 1-11.

JOLY, A. B. 1970. **Botânica: chaves de identificação**. 3 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, v. 22. 159 p.

JURIK, T.W.; CHABOT, J. F.; CHABOT, B. F. 1982. Effects of light and nutrients on leaf size, CO₂ exchange, and anatomy in wild strawberry (*Fragaria virginiana*). **Plant physiology**, v. 70, p. 1044 – 1048.

KNETCHT, G.N. & O'LEARY, J. W. 1972. The effect of light intensity on stomatal density of *Phaseolus vulgaris* leaves. **Botanical Gazette**, v.133, n. 2, p.132-134.

KRAUS, J.E & ARDUIN, M. 1997. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Universidade Rural. 194 p.

LARCHER, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: RiMa Artes e Textos. 531 p.

LAWRENCE, B. M. 1981. Monoterpene inter-relationships in the *Mentha* genus: a biosynthetic discussion. In: MOOKHERJEE, B. D.; MUSSINAN, C. G. (eds). **Essential oils**, Allured Publishing Company, Wheaton, I.L. p. 1-81.

LEVIN, D. A. 1973. The role of trichomes in plant defense. **The Quarterly Review of Biology**, v. 48, n. 1, p. 3-15.

LI, Y. & CREKER, E.1996. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*), **Acta Horticulturae**, v. 426, p. 419-426.

LIMA, A. R. & MOLLAN, T. R. M. 1952. Nova variedade de *Mentha arvensis* L. **Bragantia**, v. 12, n. 7-9, p.277-284.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. de M. 2003. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Floresta e Ambiente**, v.10, n. 2, p. 71-77.

LORENZI, H. & MATTOS, F. J. A. 2002. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512 p.

MACIEL, M. A M.; PINTO, A. C.; VEIGA Jr., V. F. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438.

MAFFEI, M.; GALLINO, M.; SACCO, T. 1986. Glandular trichomes and essential oils of developing leaves in *Mentha viridis lavanduliodora*. **Planta medica**, v. 52, p. 187-193.

MAFFEI, M.; CHIALVA, F.; SACCO, T. 1989. Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves: Variation of peltate trichomes number and terpene distribution within leaves. **New Phytologist**, v.111, p. 707-716.

MAIA, N. B. 1998. **Produção e qualidade de óleo essencial de duas espécies de menta cultivadas em solução nutritiva**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. 105 p.

MAIA, N. B. 1994. **Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva**. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. 69 p.

MAROTTI, M.; DELLACECCA, V.; PICAGLIA, R.; GIOVANELLI, E. 1993. Effect of harvesting stage on the yield and essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **Acta Horticulturae**, v. 344, p. 370 – 379.

MARTINS, E. R.; SANTOS, R. H. S. 1995. **Plantas medicinais: uma alternativa terapêutica de baixo custo**. Viçosa: Imprensa Universitária, 26 p.

MARTINS, M. B. G. 2002. Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e *Mentha spicata x suaveolens* (Lamiaceae). **Bragantia**, v. 61, n.3, p. 205-218.

Mc CASKILL, D.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. 1992. Morphology and monoterpene biosynthetic capabilities of secretory cell clusters isolated from glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita* L.). **Planta**, v.187, p. 445-454.

MEDRI, M. E. & LLEDRAS, E. 1980. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muel. Arg. **Acta Amazônica**, v. 10, n. 3, p. 463-493.

MISHRA, M. K. 1997. Stomatal characteristic at different ploidy levels in *Coffea* L. **Annals of Botany**, v. 80, p. 689-692.

NAVES, V. L.; ALVARENGA, A. A. de; OLIVEIRA, L. E. M. de. 1994. comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas à diferentes níveis de radiação fotossinteticamente ativa. **Ciência e Prática**, v. 18, n. 4, p. 408-414.

NOBEL, P. S.; ZARAGOZA, L. J.; SMITH, W. K. 1975. Relationship between mesophyll surface area, photosynthetic rate, and illumination during development for leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel. **Plant Physiology**, v. 55, p. 1067 – 1070.

NOZAL, M. J.; BERNAL, J. L.; JIMÉNEZ, J. J.; GONZÁLEZ, M. J.; HIGES, M. 2002. Extraction of thymol, eucalyptol, menthol, and camphor residues from honey and beeswax: Determination by gas chromatography with flame ionization detection, **Journal of Chromatography A**, v. 954, p. 207-215.

OLIVEIRA, M. de. 1992. **Xaxim conta sua história**: Prefeitura Municipal de xaxim. 136 p.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). 2004. OMS lança diretrizes de boas práticas para plantio, coleta e manuseio de plantas medicinais. Disponível em: <http://www.opas.org.br/medicamentos/noticias/ver_not.cfm?codigo=114>. Acesso em: <11 de outubro de 2006>.

PATON, A.; HARLEY, R.; HARVEY, T. 2000. A newsletter for Lamiaceae & Verbanaceae research. **VITEX, Herbarium, Royal Botanic Gardens Kew**. UK. Disponível em: <http://www.rbgekew.org.uk/data/vitex/jan00.pdf> . Acesso em: 12 de outubro de 2006.

PEGORARO, R. L.; TECHIO, V. H.; BARP, E. A. 2006. Variações morfo-anatômicas em hortelã-pimenta (*Mentha x gracilis* Sole, Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Acta Botânica Brasileira** (no prelo).

PEREIRA, A M. S. 1997. **Propagação e co-cultivo de células como fatores predisponentes à produção de cumarinas em *Mikania glomerata* Sprengel (guaco)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, SP. 82p.

PINTO, J. E. B. P.; LAMEIRA, O. A.; SANTIAGO, E. J. A. de; SILVA, F. G. 2001. Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares. **Textos Acadêmicos**. Lavras, MG: UFLA/FAEPE. 185 p.

PICCAGLIA, R.; DELLACECCA, V.; MAROTTI, M.; GIOVANELLI, E. 1993. Agronomic factors affecting the yields and the essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **Acta Horticulturae**, v. 344, p. 29-40.

POORTER, L. 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. **Ecological Society**, v. 13, p. 396-410.

PRASZNA, L. & BERNÁTH, J. 1993. Correlations between the limited level of nutrition and the essential oil production of peppermint. **Acta Horticulturae**, v. 344, p. 278 – 289.

RINGER, K. L.; DAVIS, E. M.; CROTEAU, R. 2005. Monoterpene metabolism. Cloning expression, and characterization of (-) isopiperitonol, (-) carveol desidrogenase of peppermint and spearmint. **Plant Physiology**, v. 137, p. 863-872.

ROBBERS, J. E.; SPEEDLE, M. K.; TYLER, V. E. 1996. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Williams & Wilkins. 337 p.

RODRIGUES, A. G. 2006. Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. In: **V Jornada Catarinense e I Jornada Internacional de Plantas Mediciniais: diversidade na unidade**, 2006, Joinville SC/Brasil. Livro de Resumos. UNIVILLE – ACPM – CSPM – CEDERURAL/SAR.

RODRIGUES, C. R.; FAQUIN, V.; TREVISAN, D.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; RODRIGUES, T. M. 2004. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta (*Mentha x piperita* L.) em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e época de coleta. **Horticultura brasileira**, v. 22, n. 3, p. 573-578.

ROHLOFF, J.; DRAGLAND, S.; MORDAL, R.; IVERSEN, T. H. 2005. Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil yield, and quality of peppermint (*Mentha x pipeita* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4143-4148.

RUSSOMANNO, O. M. R.; KRUPPA, P. C.; FIGUEIREDO, M. B. 2005. *Oidium asteris-punicea* em plantas de hortelã-pimenta. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 551.

SÁNCHEZ, J.; ALCAIDE, M.; CARRÓN, A.; FRONTERA, E.; NAVARRETE, I. 2001. Estudio Del efecto acaricida de três aceites esenciales sobre *Tyrophagus putrescentiae* (SCHRANK, 1781). In: **Congresso Internacional Virtual, Ciência, Biodiversidad y Tecnología Agropecuária**, 02/04 a 06/04/2001.

SANCHES, E.; GARCIA, D.; CARBALLO, C.; CRESPO, M. 1996. *Mentha x piperita*. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**. v. 1, n. 3, p. 40-45.

SANTOS, R. I. 2004. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org). **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5^a. ed. Porto Alegre, Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 403-434.

SATO, H.; YAMADA, K.; MIJ, M.; HOSOMI, K.; OKUYAMA, S.; USAWA, M.; ISHIKAMA, H.; ITO, Y. 1996. Production of an interspecific somatic hybrid between peppermint and gingermint. **Plant Science**, v. 115, p. 101-107.

SAUPE, A. C. 2003. O chá de macela *Achyrocline satureioides* (LAM) DC no controle do pulgão verde *Myzus persicae* (SULZER, 1776) em cultivo protegido – uma alternativa ao uso de agrotóxicos. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 47 p.

SCHUMACHER, A.; REICHLING, J.; SCHNITZLER, P. 2003. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*. **Phytomedicine**, v.10, p. 504–510.

SILVA, E. A M. & ANDERSON, C.E. 1985. Influência da luz no desenvolvimento foliar do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v. 32, n. 179, p. 1-11.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. 2004. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* (org). **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5^a. ed. Porto alegre, Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 467-495.

SINGH, S. P.; CHAND, L.; NEGRI, S.; SINGH, A. K. 1992. Antibacterial and antifungal activities of *Mentha arvensis* essential oil. **Fitoterapia**, v. 63, n. 1, p. 76-78.

SINGH, A. K.; SRIVSTAVA, R. K; KUMAR, S. 1999. Production and trade of menthol in Indian. **Tafai J.** April – June, p. 28-32.

SOARES, G. L. G.; SCALCON, V. R.; PEREIRA, T. de O.; VIEIRA, D. de A. 2002. Potencial alelopático do extrato aquoso de folhas de algumas leguminosas arbóreas brasileiras. **Floresta e Ambiente**, v. 9 n. 1, p. 119-126.

SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. 1969. **Biometry**. San Francisco: Freeman and Company. 776 p.

SOUSA, M. M. 1998. Crescimento e metabolismo secundário em duas condições de luminosidade e cultura *in vitro* de *Plantago major* L. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 106 p.

STAHL, E & SCHILD, W. 1981. **Pharmazeutische Biologie Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen**. New York: Gustav Fischer Verlag-Stuttgart. 461 p.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Art Med. 719 p.

TAVISH, H. M.; HARRIS, D. 2002. An economic study of essential oil production in the UK: a case study comparing non-UK lavender/lavandin production and peppermint/spearmint production with UK production techniques and costs. **For the Government Industry, Forum for Non-Food Crops**. 58 p.

TEBET, M. S.; DEMATTÊ, M. E. S. P.; BASTOS, J. K.; SARTI, S, J.; CHURATAMASCA, M. G. C. 1996. Crescimento de *Cataranthus roseus* e concentração de alcalóide vincristina sob influencia de adubação nitrogenada, quantidade de luz e idade da planta. **Cientifica**, v. 24, n.2, p. 407-418.

TURNER, G. W.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. B. 2000. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v. 124, p. 655 – 663.

VALMORBIDA, J. 2003. Níveis de potássio em solução nutritiva, desenvolvimento de plantas e a produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L. Dissertação de Mestrado. Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, SP. 128 p.

VILELA, A. E.; RAVETTA, D.A. 2000. The effect of radiation on seedling growth and physiology in four species of *Proposes* L. (Mimosaceae). **Journal of Arid Environments**, v. 44, n. 4, p. 415-423.

VOIRIN, B. & BAYET, C. 1996. Developmental changes in the monoterpene composition of *Mentha x piperita* leaves from individual peltate trichomes. **Phytochemistry**, v. 43, p. 573-580.

WESTPHALEN, S. L. 1976. A *Mentha piperita*. **Revista da agricultura e pecuária brasileira**, v. 1, n. 10, p. 32-33.

WHITE, J. G. H.; ISKANDAR, S. H.; BARNES, M. F. 1987. Peppermint: effect of time of harvest on yield and quality of oil. **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**, v. 15, p. 73-79.

WHITE, J. G. H. 1980. Peppermint growing in Oregon. **Report to New Zealand Mint Oil Industries Ltd.** 19 p.

WILSON, E. O. 1994. **Diversidade da vida**. São Paulo: Companhia das Letras. 447 p.

WIEBEL, J.; CHACKO, E. K.; DOWNTON, W. J. S.; LÜDDERS, P. 1994. Influence of irradiance on photosynthesis, morphology and grown of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) seedlings. **Tree Physiology**, v. 14, n.3, p. 263-264.

WILKINSON, H. 1988. The plant surface (mainly leaf). In: METCALFE, C.R.; CHALL, L. **Anatomy of the dicotyledons**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press. p. 97-165.

WOODMANN, R. L. & FERNANDES, G. W. 1991. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf-hairs, **Oikos**, v. 60, p. 11-19.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Org). 2001. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos. 523 p.

ANEXOS

Anexo A: Temperaturas médias máximas e mínimas mensais, temperaturas mínimas e máximas mensais absolutas e totais de insolação mensal, nos meses de agosto de 2005 a janeiro de 2006.

Total insolação mensal (horas de brilho solar)						
ANO	JAN	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2005		178,7	106,2	124,6	212,4	191,3
2006	235,1					

Temperatura média mensal (°C)						
ANO	JAN	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2005		18,51	17,22	20,4	22,17	23,23
2006	25,89					

Temperatura mínima mensal absoluta (°C)						
ANO	JAN	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2005		8,5	7,5	14,5	12,9	14,5
DATA		25/ago	03/set	31/out	01/nov	03/dez
2006	19,3					
DATA	03/jan					

Temperatura máxima mensal absoluta (°C)						
ANO	JAN	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
2005		35	26,2	30,4	30,9	30
DATA		29/ago	11/set	22/out	16/nov	19/dez
2006	32					
DATA	30/jan					

Fonte: Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina).

Anexo B: Fotoperíodos entre 13/08/05 a 31/01/06

Data	Fotoperíodo H e Dec.	Data	Fotoperíodo H e Dec.	Data	Fotoperíodo H e Dec.	Data	Fotoperíodo H e Dec.
13/08/05	11,88	26/09/05	12,97	09/11/05	14,15	23/12/05	14,77
15/08/05	11,92	28/09/05	13,02	11/11/05	14,2	25/12/05	14,77
17/08/05	11,97	30/09/05	13,08	13/11/05	14,25	27/12/05	14,77
19/08/05	12,01	02/10/05	13,14	15/11/05	14,3	29/12/05	14,76
21/08/05	12,06	04/10/05	13,2	17/11/05	14,34	31/12/05	14,75
23/08/05	12,10	06/10/05	13,25	19/11/05	14,38	02/01/06	14,73
25/08/05	12,15	08/10/05	13,31	21/11/05	14,42	04/01/06	14,72
27/08/05	12,2	10/10/05	13,36	23/11/05	14,46	06/01/06	14,7
29/08/05	12,25	12/10/05	13,42	25/11/05	14,5	08/01/06	14,67
31/08/05	12,3	14/10/05	13,48	27/11/05	14,54	10/01/06	14,65
02/09/05	12,33	16/10/05	13,53	29/11/05	14,57	12/01/06	14,62
04/09/05	12,38	18/10/05	13,59	01/12/05	14,61	14/01/06	14,59
06/09/05	12,43	20/10/05	13,64	03/12/05	14,64	16/01/06	14,56
08/09/05	12,48	22/10/05	13,7	05/12/05	14,66	18/01/06	14,52
10/09/05	12,54	24/10/05	13,75	07/12/05	14,69	20/01/06	14,48
12/09/05	12,59	26/10/05	13,81	09/12/05	14,71	22/01/06	14,45
14/09/05	12,64	28/10/05	13,86	11/12/05	14,73	24/01/06	14,4
16/09/05	12,69	30/10/05	13,91	13/12/05	14,74	26/01/06	14,36
18/09/05	12,75	01/11/05	13,95	15/12/05	14,75	28/01/06	14,32
20/09/05	12,8	03/11/05	14	17/12/05	14,76	30/01/06	14,27
22/09/05	12,86	05/11/05	14,05	19/12/05	14,77	31/01/06	14,25
24/09/05	12,91	07/11/05	14,11	21/12/05	14,77		

Fonte: Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina).
H = hora, Dec. = décimo de hora.

Anexo C: Laudo da análise dos solos sem acréscimo e com acréscimo de adubo orgânico.

Determinação	Terra de mata		Terra de mata com adubo orgânico		Unidade
	Res	Ref	Res	Ref	
Textura	26,00	classe 3	22,00	classe 3	% Argila
pH	5,60	médio	6,10	alto	
Índice SMP	5,80		6,40		
Fósforo	6,70	baixo	>50,00	muito alto	ppm
Potássio	92,00		1064,00		ppm
M. orgânica	6,50	alto	9,60	alto	% (m/v)
Alumínio	0,00		0,00		cmolc/L
Cálcio	7,00	alto	7,50	alto	cmolc/L
Magnésio	5,00	alto	7,90	alto	cmolc/L
Sódio	60,00		294,00		ppm
H + Al	5,49		2,75		cmolc/L
pH CaCl ₂	5,10	Médio	6,10	baixo	
Soma Bases-S	12,80	alta	19,45	alta	cmolc/L
CTC	18,29	alta	22,20	alta	cmolc/L
Saturação Bases-V	69,98	média	87,61	alta	%

Fonte: CIDASC (Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de SC).

ppm (partes por milhão) cmolc/L (centimol de carga por Litro), m/v (massa por volume), CTC (capacidade de troca de cátions).

Interpretação conforme recomendação de adubação e calagem para os Estados do RS e SC, SBCS-Núcleo Regional Sul/ EMBRAPA - CNPT, 2004.