

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO

**Produção de Biomassa e Rendimento de Óleos
Essenciais de Plantas de Hortelã (*Mentha piperita*)
em Cultivo Hidropônico com Diferentes
Concentrações de Nitrogênio e Fósforo**

Marco Andre Alves de Souza

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E RENDIMENTO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE PLANTAS DE HORTELÃ (*Mentha piperita*) EM
CULTIVO HIDROPÔNICO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES
DE NITROGÊNIO E FÓSFORO**

MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA

Sob a Orientação do Professor
Sonia Regina de Souza

e Co-orientação do Professor
Manlio Silvestre Fernandes

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2006

633.88387

S729p

T

Souza, Marco Andre Alves de, 1975-

Produção de biomassa e rendimento de óleos essenciais de plantas de hortelã (*Mentha piperita*) em cultivo hidropônico com diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo / Marco André Alves de Souza. – 2006.

87 f. : il.

Orientador: Sonia Regina de Souza.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia.

Bibliografia: f. 74-83.

1. Menta (Planta) - Cultivo – Teses. 2. Hidroponia - Teses. 3. Biomassa vegetal – Teses. 4. Essências e óleos essenciais – Teses. 5. Plantas medicinais – Teses. 6. Plantas aromáticas – Teses. I. Souza, Sonia Regina de, 1962-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO

MARCO ANDRE ALVES DE SOUZA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 21/02/2006

Sonia Regina de Souza. Dra. UFRRJ

Manlio Silvestre Fernandes. Ph.D. UFRRJ

Rosane Nora Castro. Dra. UFRRJ

José Guilherme Marinho Guerra. Dr. EMBRAPA/CNPAB

José Ronaldo Magalhães. Dr. EMBRAPA/CNPGL

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra em memória do meu pai, José Augusto Alves de Souza, um bom homem que escapou da ignorância e da pobreza, que perseguiu o sucesso por toda a sua vida – que não durou muito, mas foi intensa. Um pai querido que soube amar seus filhos tanto, tanto... que seu intenso amor ocultou as mágoas que um dia surgiram. Um pai que foi amigo, que sempre esteve ao lado nos momentos difíceis. Ficam as lembranças...

Dedico esta obra a minha mãe, Dilza Alves de Souza, uma mulher excepcional que foi minha amiga em momentos difíceis e que possibilitou minha caminhada até os dias de hoje. Obrigado!

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço àquele que me criou, que me colocou ao lado de pessoas que amo e que me amam, que me deu como moradia este lindo universo, este Ser que infelizmente não posso ver, apenas sentir, mas tenho certeza, está sempre ao meu lado: Deus.

Aos meus pais, José Augusto de Souza e Dilza Alves de Souza, os quais se dedicaram a mim incansavelmente, me abastecendo de amor, carinho e educação, sem os quais não seria possível minha caminhada até os dias de hoje.

Ao meu irmão e amigo José Augusto Alves de Souza Filho, que sempre me apoiou nos momentos difíceis, acreditou em mim e me incentivou a buscar os meus sonhos.

À minha esposa, Rejane Smênia de Oliveira Saturnino Borges, companheira fiel, sem a qual minha jornada seria inexecutável. Que me apoiou nas adversidades do dia-a-dia, que brindou comigo nos momentos de alegria e me ergueu o entusiasmo nos momentos de tristeza.

Ao meu amado filho Lucas Oliveira de Souza, que no exato momento do nascimento me transformou, deu-me propósito para crescer e vencer, que constantemente me estimula a felicidade e por quem daria a minha existência.

À Professora Sonia Regina de Souza, minha orientadora e amiga, que com muito entusiasmo e paciência soube me guiar e ensinar os assuntos relacionados à pesquisa científica e por quem tenho grande admiração e respeito.

Ao Professor Manlio Silvestre Fernandes pelo apoio e confiança que me deu, pelos contatos sempre muito proveitosos, os quais me possibilitaram valiosas e construtivas mudanças neste trabalho.

À minha amiga Mariam pelas sugestões preciosas que facilitaram o desenvolvimento de inúmeras atividades, pelo incentivo e apoio constante.

A Dra. Rosane Nora Castro pelos ensinamentos e pela colaboração nas análises cromatográficas dos óleos essenciais.

Ao bolsista Osmário Araújo pelo seu constante entusiasmo durante a condução dos trabalhos, pelo seu auxílio e por sua fiel amizade.

Aos estagiários do Laboratório de Bioquímica de Plantas – ICE: Diego de Mello Conde Brito, Márcio Alcântara Ferreira, Marcela Jacques de Lemos, Rafael Gonçalves Ramos, Gabriela Soares e Milena Silva Pinto pelo auxílio em diversas atividades laboratoriais.

Aos pós-graduandos Leandro de Azevedo, Carlos Alberto Bucher, Wallace Luís de Lima, Sergio André e aos estagiários do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas – DS: Walterliny Almeida Santos, Victor Hugo Criado Berbert e Natália Pereira Zatorre pela ajuda durante as três coletas que se realizaram neste laboratório.

Ao CPGA-CS e sua coordenação.

A CAPES pela bolsa de mestrado.

A FAPERJ pelo suporte financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para elaboração deste trabalho.

BIOGRAFIA

Marco Andre Alves de Souza nascido em 10 de setembro de 1975, em Botafogo, na cidade de São Sebastião do Rio de Janeiro. cursou o ensino médio e fundamental na cidade do Rio de Janeiro na Associação Brasileira de Ensino Universitário, formando-se no ano de 1993. No ano de 1996, ingressou no curso de graduação em Agronomia da UFRRJ. Em 1998, durante a graduação, realizou um curso onde teve contato com sua futura orientadora, Sonia Regina de Souza. Em 1999 ingressou no seleto grupo de Bolsistas CNPq/PIBIC, permanecendo por quatro anos consecutivos até sua formação em fevereiro de 2004, quando recebeu o título de Engenheiro Agrônomo. Durante este período, desenvolveu trabalhos no Laboratório de Bioquímica de Plantas - ICE, participou de eventos e publicou trabalhos que possibilitaram sua entrada, em março de 2004, no mestrado do Curso de Pós-Graduação em Ciências do Solo da UFRRJ. Foi bolsista CAPES durante os dois anos de mestrado.

RESUMO

SOUZA, Marco Andre Alves de. **Produção de biomassa e rendimento de óleos essenciais de plantas de hortelã (*Mentha piperita*) em cultivo hidropônico com diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo.** 2006. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

O cultivo de plantas medicinais assume importância de proporções mundiais, devido à demanda exercida por diferentes setores comerciais, o que justifica o incremento nos trabalhos de pesquisa com plantas medicinais, principalmente na busca por novas ferramentas de investigação, determinação e sínteses de produtos naturais. Considerando o aspecto agrônomo, estudar e entender os mecanismos nutricionais envolvidos com a produção e qualidade das plantas medicinais pode gerar conhecimentos importantes para otimizar a produção dessas plantas. Dessa forma, buscou-se, neste trabalho estudar a planta de hortelã (*Mentha piperita*), principalmente, pela sua importância econômica para as indústrias de alimento, cosmética e química. Estudou-se, também, a atividade biológica do óleo essencial e das substâncias químicas presentes no óleo de hortelã na germinação de sementes e de alface e tomate e no crescimento de algumas espécies de fungos fitopatogênicos. Em experimento feito em sistema hidropônico, foi avaliada a influência exercida pela nutrição mineral sobre o crescimento vegetal e a produção de óleos essenciais de *Mentha piperita* (hortelã). As plantas foram cultivadas em soluções nutritivas, variando os teores de N e P (120mg N e 16mg P/L; 60mg N e 16mg P/L; 120mg N e 4mg P/L e 60mg N e 4mg P/L, que foram, respectivamente, denominados: tratamentos 1, 2, 3 e 4). O maior rendimento em óleos essenciais ocorreu aos 29 dias após o transplante das mudas (DAT) para as plantas cultivadas nas condições do tratamento 4; em contrapartida, houve maior produção de biomassa aos 64 DAT de cultivo (em todos os tratamentos). As plantas sob maiores doses de N apresentaram menor rendimento de óleo essencial, no entanto, houve maior ganho de biomassa. Observou-se uma diminuição gradual no rendimento de óleo essencial ao longo do ciclo da planta e uma relação indireta entre o peso de folhas e o rendimento de óleo. Os resultados deste trabalho mostram que aos 29 DAT em cultivo hidropônico as plantas de hortelã estão aptas para serem coletadas, com o objetivo de produção de óleo essencial, o que significa redução no tempo de coleta e economia no processo de produção. Observou-se que as plantas apresentaram diferentes teores de frações solúveis com a idade e quando submetidas a diferentes tratamentos e que isto teve relação com o rendimento e a qualidade do óleo essencial. O óleo essencial de hortelã, bem como alguns dos seus componentes químicos, possui atividade biológica sobre o desenvolvimento dos fungos *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* e sobre a germinação de sementes de alface e tomate.

Palavras-chave: *Mentha piperita*, sistema hidroponico, metabólitos secundários.

ABSTRACT

SOUZA, Marco Andre Alves de. **Production of biomass and performance of plant with mint essential oils (*Mentha piperita*) in hydroponic cultivation with different concentrations of nitrate and phosphate.** 2006. 87f. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006

The medicinal plants cultivation assumes world proportions importance, due to the demand exercised by different commercial sectors. This growth in the demand has been justifying the strong investment in researches with medicinal plants, mostly, in the search by investigation new findings, natural products determination and syntheses. In the agronomical aspect, study and to understand the nutrition mechanisms involved with the medicinal plants production and quality can generate important knowledges to optimize the production of these plants. Thus, in this work it sought to study the Mint plant (*Mentha piperita*), mostly by its economic importance for the aliments, cosmetics and chemical industries. It studied, also, the essential oil biological activity and of the chemical substances present in the mint oil on the seeds germination and the fungic growth. Then, an experiment was made, using hydroponic system, to study the effect of plant nutrition regimes on plant growth and the production of essential oils in *Mentha piperita* (mint). Plants were grown in nutrient solutions with varying N and P levels (120 mg N:16 mg P; 60 mg N:16 mg P; 120 mg N:4 mg P and 60 mg N:4 mg P, named treatments respectively 1, 2, 3 and 4). Plants of the treatment 4, 29 days after the transplanting (DAT), had the highest production of essential oils. However, plants had the highest biomass production at 64 DAT. The higher the N levels in the nutrient solution, the lower the production of essential oils. Higher N inputs resulted in higher total biomass. There was a negative relationship between the length of the plant cycle and the production of essential oil. This paper show that mint plants grown in hydroponics systems can be harvested when 29 DAT, for the production of essentials oils. This means savings in both time and costs of production. It observed that the plants presented soluble fractions different proportions with age and when submitted to different treatments and that this had relationship with the efficiency and the essential oil quality. The mint essential oil, as well as some of your chemical components, owns biological activity on the fungis development *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* and on the lettuce and tomato seeds germination.

Key words: *Mentha piperita*, Hydroponic system, secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Rotas ou vias metabólicas. À esquerda, a possibilidade de competição pelo substrato intermediário. À direita, a possibilidade da regulação via Feedback ou pelo controle da expressão gênica (adaptado de MOYNA & MENÉNDEZ, 2001). 6
- Figura 2.** Diferentes rotas biossintéticas do metabolismo primário. O eixo central está representando as vias da glicólise, gliconeogênese e o complexo piruvato desidrogenase, seguido pelo ciclo de Krebs, associados a outras rotas biossintéticas, inclusive a de metabólitos secundários. 7
- Figura 3.** Biossíntese de metabólitos primários e sua relação com os eventos que ocorrem com a planta. 8
- Figura 4.** Esquema hipotético de utilidades ecológicas, fisiológicas e adaptativas dos compostos secundários para o estabelecimento da planta no ambiente. Associação dos compostos secundários a diferentes estratégias: nutricionais, reprodutivas, interativas e defensivas. 9
- Figura 5.** Principais rotas metabólicas para a biossíntese de compostos secundários, formados principalmente por dois precursores: o ácido chiquímico e o acetato. Outras vias e compostos secundários derivam desses intermediários e da combinação entre eles (adaptado de SANTOS, 2001 e DI STASI, 1996). 10
- Figura 6.** Via metabólica do acetato/mevalonato para formação do isopentenilpirofosfato, unidade básica com cinco carbonos, utilizado para a biossíntese de terpenóides. Compostos: 1 – Acetil-CoA; 2 – Acetoacetil-CoA; 3 – 3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA; 4 – Ácido mevalônico; 5 – Ácido mevalônico 5-fosfato; 6 – Ácido mevalônico 5-pirofosfato; 7 – Isopentenilpirofosfato. Enzimas: A – Tiolase; B – HMG-CoA sintase; C – HMG-CoA redutase; D – MVA kinase; E – MVAP kinase; F - MVAPP decarboxilase (Adaptado de CROTEAU et al. (2000)). 19
- Figura 7.** As principais subclasses de terpenóides são biossintetizadas a partir de unidades básicas de cinco carbonos (isopentenilpirofosfato ou seu isômero dimetilalilpirofosfato) em reações catalisadas por preniltransferases que de acordo com o número de unidades básicas irão formar monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e assim por diante (Adaptado de CROTEAU et al. (2000)). 20
- Figura 8.** Casa de vegetação do Departamento de Solos, Seropédica -RJ, local onde o experimento foi conduzido no período entre 11 de outubro de 2004 e 21 de janeiro de 2005. 23
- Figura 9.** Ilustração de uma planta de Hortelã (*Mentha piperita*) em fase reprodutiva segundo Thomas Schoepke (<<http://www.plant-pictures.de>>). 24
- Figura 10.** A – Funcionamento do sistema hidropônico. B – Croqui do experimento. As calhas inclinadas representam os canais por onde passa a solução nutritiva e possui capacidade para vinte plantas. Cada tanque de solução nutritiva abastece quatro calhas. T1, T2, T3 e T4 representam soluções nutritivas com diferentes teores de N e P. 25

- Figura 11.** Mudanças de *Mentha piperita* no período de aclimação (11 de outubro de 2004 e 17 de novembro de 2004) dentro da casa de vegetação. As setas brancas indicam as mudas com maior tamanho e as setas pretas as mudas com menor tamanho. 26
- Figura 12.** Mudanças de *Mentha piperita* após a padronização no dia 16 de novembro (imagem obtida no dia 18 de novembro de 2004) dentro da casa de vegetação. 27
- Figura 13.** Momento da medição do pH e da temperatura na solução nutritiva contida nos reservatórios. Após a medição o volume de água é ajustado e o pH corrigido para 6. O aparelho utilizado foi o pH Meter da WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, modelo 320. 28
- Figura 14.** Aparelho de Clevenger. 1) manta aquecedora; 2) balão pirex de 2 litros; 3) reservatório para o material vegetal; 4) vidraria de clevenger; 5) condensador; 6) balão de fundo redondo de 250 mL e 7) suporte. 30
- Figura 15.** Temperatura máxima do dia e radiação fotossinteticamente ativa dentro da casa de vegetação, no período do experimento. Seta contínua: indica os dias de coleta. Seta pontilhada: indica o início da floração. O aparelho utilizado para medição da radiação (modelo: Basic Quantum Meter QMSW da Apogee Instruments Inc.) tem sensibilidade para comprimentos de ondas compreendidos entre 400 e 700 nm e sua capacidade de absorção vai de zero a 2000 $\mu\text{moles.cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 33
- Figura 16.** Regressão linear dos valores de pH em relação à idade da planta, com 1% de significância (A) e valor de pH das soluções nutritivas nos diferentes tanques no decorrer do experimento (B). Setas longas: indicam os dias de troca da solução nutritiva. Setas curtas: indicam os dias de coleta. Seta pontilhada: indica o início da floração. 35
- Figura 17.** Relação entre o rendimento de óleo essencial e a produção de massa seca (g/5plantas). Dados obtidos durante as três coletas nos quatro tratamentos em que as plantas de *Mentha piperita* (hortelã) foram submetidas. 41
- Figura 18.** Biossíntese de monoterpenóides em plantas de hortelã, (-)-isopiperitenone como substrato central da via de formação do mentol e seus isômeros (adaptado de CROTEAU 1987). 60
- Figura 19.** Imagens do fungo *Fusarium oxysporum* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 mg.L⁻¹ dos compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã. Imagem de capturada no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo, pulegona, mentofurano e neomentol. 62
- Figura 20.** Imagens do fungo *R.solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 mg.L⁻¹ dos compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã. Imagem de capturada no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo e os compostos químicos 64
- Figura 21.** Imagem das placas de Petri contendo sementes de alface comercial submetidas a tratamento com óleo essencial de hortelã diluídos em diclorometano na concentração de 1,2 g.L⁻¹. 66

- Figura 22.** Imagem das placas de Petri contendo as sementes de tomate submetidas a tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de 5,0 g.L⁻¹..... 68
- Figura 23.** Imagem das placas de Petri contendo as sementes de alface submetidas ao tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de 5,0 g.L⁻¹..... 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das soluções nutritivas utilizadas no experimento, com variações nas doses de nitrogênio e fósforo.	24
Tabela 2. Composição da solução nutritiva utilizada no período de crescimento e aclimação das mudas de hortelã *.....	25
Tabela 3. Cronograma do experimento e das principais atividades realizadas.	29
Tabela 4. Reposição de água destilada, volume de ácido e de base para correção do pH das soluções nutritivas T1, T2, T3 e T4, durante o cultivo da hortelã.	34
Tabela 5. Massa fresca total de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	36
Tabela 6. Massa seca total de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	37
Tabela 7. Massa Fresca de raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	38
Tabela 8. Massa seca de raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	39
Tabela 9. Rendimento e produção de óleo essencial em folhas de plantas de Hortelã cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, avaliados em três coletas (ao 29, 49 e 64 DAT).	40
Tabela 10. Conteúdo total de N-nitrato ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	42
Tabela 11. Conteúdo total de N-nitrato ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	43
Tabela 12. Teor de N-nitrato ($\mu\text{moles.g}^{-1}\text{m.f}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	44
Tabela 13. Conteúdo total de N-amônio ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	45
Tabela 14. Conteúdo total de N-amônio ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	45

Tabela 15. Teor de N-amônio ($\mu\text{moles.g}^{-1}\text{m.f}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	46
Tabela 16. Conteúdo total de N-amino (mmoles/5 plantas) em plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	47
Tabela 17. Conteúdo total de N-amino (mmoles/5 plantas) em plantas de raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	48
Tabela 18. Teor de N-amino ($\mu\text{moles.g}^{-1}\text{m.f}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	49
Tabela 19. Conteúdo total de açúcar solúvel (g/5 plantas) em plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	50
Tabela 20. Conteúdo total de açúcar solúvel (g/5 plantas) em plantas de raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	50
Tabela 21. Teor de açúcar solúvel (mg.g ⁻¹ m.f) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	51
Tabela 22. Conteúdo total de N-total (mg/5 plantas) em plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	52
Tabela 23. Conteúdo total de N-total (mg/5 plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	53
Tabela 24. Teor de N-total (mg.g ⁻¹ m.s) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	54
Tabela 25. Conteúdo total de P (mg/5 plantas) em plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).	55
Tabela 26. Conteúdo total de P (mg/5 plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	55
Tabela 27. Teor de P (g.kg ⁻¹ m.s.) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de <i>Mentha piperita</i> (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.	56
Tabela 28. Compostos químicos (percentual médio do conteúdo volátil total) encontrados em folhas de <i>Mentha piperita</i> cultivadas em sistema hidropônico de fluxo laminar com diferentes teores de N e P na solução nutritiva, coletadas aos 29 DAT.	57

Tabela 29. Compostos químicos (percentual médio do conteúdo volátil total) encontrados em folhas de <i>Mentha piperita</i> cultivadas em sistema hidropônico de fluxo laminar com diferentes teores de N e P na solução nutritiva, coletadas aos 49 DAT.	58
Tabela 30. Compostos químicos (percentual médio do conteúdo volátil total) encontrados em folhas de <i>Mentha piperita</i> cultivadas em sistema hidropônico de fluxo laminar com diferentes teores de N e P na solução nutritiva, coletadas aos 64 DAT.	59
Tabela 31. Crescimento miscelial do fungo <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo óleo essencial de hortelã diluído em dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 1,0 g.L ⁻¹	61
Tabela 32. Crescimento miscelial do fungo <i>Fusarium oxysporum</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 1,0 mg.L ⁻¹ do compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã.	61
Tabela 33. Crescimento miscelial do fungo <i>Rhizoctonia solani</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 1,0 g.L ⁻¹ do compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã.	63
Tabela 34. Crescimento miscelial do fungo <i>Sclerotium rolfsii</i> em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL ⁻¹) na concentração de 1,0 g.L ⁻¹ do compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã.	65
Tabela 35. Percentual de germinação de sementes de alface comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com óleo essencial de hortelã diluídos em diclorometano na concentração de 1,2 g.L ⁻¹	66
Tabela 36. Percentual de germinação de sementes de tomate comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de 5,0 g.L ⁻¹	67
Tabela 37. Percentual de germinação de sementes de alface comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de 5,0 g.L ⁻¹	69

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Plantas Medicinais	3
2.1.1. Aspectos culturais e sociais	3
2.1.2. Demanda por plantas medicinais	4
2.1.3. Aspectos mercadológicos e econômicos	4
2.2. Metabolismo de Plantas.....	5
2.2.1. Aspectos do metabolismo primário	7
2.2.2. Aspectos do metabolismo especial (secundário)	8
2.3. Cultivo Hidropônico de Plantas Medicinais: Uma Alternativa Viável.....	11
2.4. Atividade Biológica de Produtos de Origem Vegetal.....	12
2.4.1. Uso medicinal.....	13
2.4.2. Uso agrônômico das plantas medicinais	14
2.5. Fitopatógenos	15
2.6. Hortelã (Mentha piperita)	16
2.6.1. Aspectos agrônômicos	16
2.6.2. Aspectos econômicos.....	17
2.6.3. Cultivo hidropônico	17
2.6.4. Produção e qualidade do óleo essencial da hortelã.....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Condução do Experimento	23
3.2. Germinação das Sementes e Aclimação das Plântulas de Hortelã	24
3.3. Sistema Hidropônico	27
3.4. Coleta de Dados.....	28
3.4.1. Obtenção do óleo essencial.....	30
3.4.2. Análises laboratoriais.....	31
3.5. Avaliação da Atividade Biológica do Óleo Essencial e Seus Componentes.....	31
3.5.1. Atividade sobre a germinação de sementes	31
3.5.2. Atividade sobre o desenvolvimento de fungos em placas de Petri.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Condições Ambientais Durante o Cultivo em Casa de Vegetação.....	33
4.2. Correção do Volume de Água dos Tanques e pH da Solução Nutritiva.	33
4.3. Produção de Biomassa.....	35
4.4. Produção e Rendimento de Óleo Essencial.....	39
4.5. Biomassa x Rendimento e Produção de Óleo Essencial	41
4.6. Frações Solúveis	42
4.6.1. N-nitrato.....	42
4.6.2. N-amônio	44
4.6.3. N-amino	47
4.6.4. Açúcares solúveis	49
4.7. Resultados das Análises em Material Seco	52
4.7.1. N-total.....	52

4.7.2. Fósforo	54
4.8. Cromatografia em Fase Gasosa Acoplado ao Espectrômetro de Massa.....	56
4.9. Ensaio Biológicos	60
4.9.1. Ensaio com fungos fitopatogênicos	60
4.9.2. Ensaio com germinação de sementes	65
5. CONCLUSÕES.....	72
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
8. ANEXOS	84

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o cultivo de plantas medicinais assume importância de proporções mundiais, devido à demanda exercida pelas indústrias químicas, farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos.

A expansão na demanda tem justificado o forte investimento em trabalhos de pesquisa com plantas medicinais, principalmente, na busca por novas ferramentas de investigação, determinação e síntese de produtos naturais (DI STASI, 1996). Contudo, têm-se estudado pouco, os mecanismos relacionados à produção qualitativa e quantitativa desses produtos naturais, principalmente, sobre os aspectos ecológicos e os processos bioquímicos, que conduzem a planta à produção desses metabólitos secundários.

Deste modo, a hipótese desenvolvida para este trabalho foi: diferentes condições nutricionais, com especial atenção aos efeitos do N e P, alteram aspectos do metabolismo primário e a produção de compostos do metabolismo secundário, na planta de hortelã

O gênero *Mentha* pertence à família Lamiaceae (antiga Labitae) e compreende um número grande de espécies, dentre elas a hortelã. Essas plantas são originárias da Europa, suportam temperaturas muito baixas, mas são bem adaptadas ao clima tropical. Porém, temperaturas elevadas podem diminuir o rendimento de óleo essencial. A espécie *M. piperita* é um híbrido de *M. viridis* e *M. aquática*, tem porte herbáceo, é pouco aveludada, tem raiz fibrosa, caule ereto e ramoso. A composição do seu óleo varia muito no decorrer do ano e nas diversas fases do seu desenvolvimento (CORRÊA JUNIOR et al., 1994; MARTINS, 2002 e DI STASI, 2002).

O tempo ideal para se proceder à coleta das plantas de hortelã varia conforme a época do ano, o clima da região e o destino que se dará à planta (extração de óleo essencial ou produção de material fresco). A composição do óleo essencial de hortelã varia em função de diferentes fatores, como o tipo de solo, temperatura, latitude, altitude, época de colheita e nutrição (MAIA, 1998). SACRAMENTO & CAMPOS et al. (2002) observaram que o ponto de máxima produção de matéria seca ficou acima dos 135 dias de cultivo, indicando um comportamento característico de planta perene. Em contrapartida, CZEPAK (1998) observou que em colheitas aos 60 a 70 dias houve melhor rendimento de mentol cristalizável, no óleo essencial de *M. arvensis*.

A grande maioria dos óleos essenciais voláteis é constituída quimicamente de derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides, com preponderância desses últimos. A ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor de água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. Os óleos voláteis podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pelos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (SIMÕES & SPITZER, 2001).

O sistema hidropônico NFT (Técnica do Fluxo Laminar) é um sistema de cultivo de plantas sem a presença de solo, em calhas suspensas, por onde ocorre a passagem de um fluxo laminar de uma solução nutritiva, contendo os elementos essenciais à sobrevivência das plantas.

Atualmente, diferentes hortaliças são produzidas por hidroponia e têm sido comprovados os benefícios econômicos e mercadológicos, para os produtores (CASTELLANE et al., 1994; FURLANI et al., 1999; FURLANI, 1999; TEIXEIRA, 1996; VITAL et al., 2001). Utilizar a hidroponia para produzir plantas medicinais, torna-se uma

ferramenta de interesse científico e comercial. Através do sistema hidropônico pode-se efetuar diferentes estudos relacionados à nutrição de plantas medicinais, estabelecendo com maior certeza a importância que um determinado elemento pode assumir na produção de biomassa ou de metabólitos especiais.

O cultivo hidropônico entre outras formas de cultivo, pode apresentar vantagens que o sistema tradicional não apresenta, como observado por OCAMPOS et al. (2002) que ao comparar a hortelã rasteira cultivada em diferentes sistemas, observou que o hidropônico foi o que apresentou maior rendimento (produção de biomassa e óleo essencial), sem alteração na qualidade do óleo essencial.

Outros resultados, como os obtidos com manjeriço, permitiram a JUNIOR et al. (2004) concluir que a hidroponia foi superior como técnica de cultivo. MAIA (1999) cultivando *M. crispata* no sistema hidropônico, também observou que a produção de folhas foi cerca de três vezes maior que a produção obtida no sistema de cultivo convencional.

Deste modo, o cultivo hidropônico torna-se uma ferramenta de pesquisa precisa e de fácil manuseio, onde fatores como pH e teores de nutrientes podem ser controlados e seus efeitos e sintomas sobre a planta podem ser analisados.

Portanto, um dos objetivos deste trabalho foi verificar através do cultivo hidropônico da hortelã, conhecida por produzir óleos essenciais de grande interesse comercial, a influência exercida pela nutrição mineral, com especial atenção aos efeitos do nitrogênio e do fósforo sobre a produção de biomassa e do óleo essencial, e desta forma poder contribuir para questões envolvendo a nutrição mineral e a produção de hortelã.

Atualmente, tem-se observado também, um grande número de trabalhos tentando validar a utilização de produtos ou subprodutos de origem vegetal para o controle de doenças e pragas agrícolas. Por isso, outro objetivo deste trabalho diz respeito a utilização de produtos naturais de origem vegetal na agricultura sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos e sobre a germinação de sementes (DEFFUNE, 2001, GHINI & KIMATI, 2000 e SAITO & LUCHINI, 1998)

Para que os objetivos deste projeto pudessem ser alcançados foi proposto, primeiramente, avaliar o crescimento da hortelã, cultivada em sistema hidropônico de fluxo laminar, variando os teores de N e P da solução nutritiva.

Em seguida, determinar o rendimento e a qualidade do óleo essencial produzido pela planta de hortelã durante o seu crescimento, como também a produção de biomassa na sua totalidade e nas partes da planta.

Por seguinte, avaliar o acúmulo de N, P e de frações solúveis nas partes da planta. Bem como, verificar o efeito do óleo essencial de *Mentha piperita* sobre o crescimento de fungos e sobre a germinação de sementes.

Além de utilizar os dados obtidos (produção de biomassa, rendimento e qualidade do óleo essencial, teores das frações solúveis e quantidade total de N e P na planta), para então, relacionar alguns aspectos da nutrição mineral da planta de hortelã e sua relação com a produção de metabólitos especiais.

Finalizando, pretende-se responder as questões levantadas na hipótese de trabalho com relação a produção de hortelã em cultivo hidropônico sob diferentes condições nutricionais, na produção de biomassa e metabólitos essenciais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Plantas Medicinais

2.1.1. Aspectos culturais e sociais

A relação entre o homem e as plantas é milenar. Através do conhecimento das características e utilidade das plantas o homem primitivo, aos poucos, conseguiu fixar moradia e abandonar os hábitos nômades. As plantas tornaram-se o alimento principal na dieta dos homens e passaram a ter diferentes finalidades. Com o desenvolvimento de comunidades mais organizadas, aos poucos, os homens foram selecionando aquelas plantas que lhe eram úteis, seja como utensílio, alimento ou medicamento (MING, 1997; LEÃO & RIBEIRO, 1999).

Com o crescimento e organização das sociedades, o conhecimento mais profundo e detalhado das propriedades e utilidades das plantas tornou-se particular a alguns homens, denominados curandeiros, pajés, feiticeiros, alquimistas etc. Entre as suas atribuições esses homens possuíam a responsabilidade de repassar o conhecimento para as gerações futuras e garantir a sobrevivência de uma ciência, na época primitiva, mas de fundamental importância para a manutenção da sociedade e do saber (MARTINS, 2000; GUARIM NETO, 1997).

O surgimento de comunidades mais populosas, a alteração do modo de vida e a convivência entre as pessoas, tornaram essas sociedades um ambiente propício ao surgimento e a proliferação de doenças e pragas. A partir desse momento, um grupo de plantas passou a assumir papel importante para prevenir e restaurar a saúde das pessoas, e receberam a denominação de plantas medicinais, como ainda são conhecidas (OLIVEIRA et al., 2004).

Segundo RODRÍGUEZ & MÉNDEZ (1997), as plantas medicinais fazem parte do patrimônio cultural de cada país e envolve práticas que são transmitidas de geração a geração, há centenas de anos, muito antes do desenvolvimento da medicina atual. Por isso, em qualquer lugar do mundo, onde haja uma comunidade vivendo, são encontrados, sejam por fatos históricos ou folclóricos, vestígios que apontam para a importância que as plantas possuem na cura de males que assolam as comunidades (SAVASTANO & DI STASI, 1996). Esses fatos demonstram como as plantas tornaram-se importantes, não apenas como fonte de alimento, mas como medicamento para o homem.

Contudo, com o progresso da ciência, o surgimento da química moderna e de novas tecnologias, a medicina evoluiu e as plantas foram substituídas por drogas semi-sintéticas ou sintéticas e terapias mais eficientes. Muito do conhecimento natural adquirido sobre essas plantas, perdeu-se, principalmente nas grandes cidades, onde o poder aquisitivo da população e o acesso aos remédios e aos hospitais são mais fáceis.

Ao contrário, em lugares onde prevalece o baixo poder aquisitivo e o acesso à medicina é restrito, as pessoas continuaram recorrendo às plantas medicinais. Segundo ELISABETSKY (2001) são nestes ambientes que muitos pesquisadores buscam informações sobre as plantas e suas propriedades químicas, que podem servir como matéria-prima para a síntese de novos compostos bioativos. Geralmente, esses ambientes tropicais ou subtropicais, possuem biodiversidade alta (ECHEVERRIGARAY et al., 2001) e lá estão estabelecidas algumas comunidades primitivas ou descendentes diretos dessas comunidades, que herdaram conhecimentos sobre as propriedades curativas das plantas, como: as benzedadeiras, as parteiras, os ervateiros e os pajés (DI STASI, 1996; ELISABETSKY, 2001; AMOROZO, 1996; AMOROZO, 2002).

2.1.2. Demanda por plantas medicinais

Há algumas décadas atrás começaram a surgir movimentos naturalistas em contraposição ao estilo de vida artificial do homem moderno. Estes movimentos abrangeram diferentes setores como: arte, política, agricultura e também os setores ligados à medicina.

Dentro de um contexto individual, as pessoas acreditam que os medicamentos alopáticos possuem um efeito rápido e eficiente no combate a determinadas doenças, principalmente, as mais graves (PLETSCH, 1998), o que não deixa de ser verdade. Contudo esta percepção vem sendo alterada, principalmente por motivos relacionados aos custos e aos efeitos paralelos, prejudiciais a saúde, que por sua vez, conduzem o homem à alternativa do medicamento fitoterápico (SOUZA & MIRANDA, 2003).

Problemas de menor gravidade, como cólicas, cefaléia, febre, problemas com piolhos, vermes e outros, são comumente resolvidos com a aplicação de medicamentos naturais e, atualmente, problemas mais graves com colesterol, pressão alta e diabetes, também, têm sido resolvidos, com resultados eficientes, por meio de fitoterápicos (PLETSCH, 1998; FERREIRA, 1998; DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002; DI STASI, 1996).

Segundo SOUZA E MIRANDA (2003), o crescimento do mercado mundial de fitoterápicos é estimado em 10 a 20% ao ano e as principais razões que impulsionaram esse grande crescimento nas últimas décadas foram: a valorização de uma vida de hábitos mais saudáveis e, conseqüentemente, o consumo de produtos naturais; os evidentes efeitos colaterais dos medicamentos sintéticos; a descoberta de novos princípios ativos nas plantas; a comprovação científica de fitoterápicos; e o preço que, de maneira geral, é mais acessível à população com menor poder aquisitivo.

Deste modo, as plantas tornaram-se objeto de investigação em todos os grandes centros de pesquisa. A possibilidade de se encontrar um novo medicamento, um modelo estrutural para a síntese de novos compostos ou simplesmente a demanda pela utilização de um fitoterápico, tem justificado investimentos de milhões de dólares por todo o mundo. (NEVES, 2001; MARTINS, 2000; DI STASI, 1996).

Vale ressaltar que as empresas farmacêuticas, na maioria dos casos, não esperam somente "descobrir" novos compostos de uso terapêutico, a partir de plantas medicinais, ainda que isso tenha uma pequena chance de ocorrer. Elas procuram, também, modelos na natureza, que possam ser utilizados como ponto de partida para o desenho de novas drogas sintéticas. (SANDIS & DI BLASI, 2000).

Um importante indicador do aumento da demanda por plantas medicinais seja por comunidades carentes ou por grandes empresas farmacêuticas, está no crescimento do número de trabalhos inscritos nos seminários e congressos da área e no crescente aumento no número de dissertações de mestrado e teses de doutorado sobre o assunto (MATTOS, 1997).

Mais recentemente, o estudo das plantas medicinais e aromáticas está sendo abordado também sob o enfoque agrícola, servindo como alternativa de produção para pequenos, médios e grandes produtores (MARTINS, 2000). Como resultado disso, pode-se esperar melhoria na qualidade dos produtos fitoterápicos.

Muito do misticismo que envolve a utilização das plantas medicinais está sendo deixado de lado, dando lugar ao uso seguro e eficaz dessas plantas. Hoje, as plantas medicinais são produzidas e comercializadas dentro de padrões de alta qualidade, garantindo ao consumidor a compra de um produto registrado.

2.1.3. Aspectos mercadológicos e econômicos

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento fazem uso de algum tipo de medicina tradicional para cuidados básicos da saúde, e 85% destes envolvem plantas medicinais (NEVES, 2001).

Sendo assim, a OMS, a partir de 1978, começou a definir diretrizes para que o uso de plantas medicinais tivesse a devida importância no contexto mundial, criando programas específicos e estimulando os países na sua utilização, uma vez que mais de 75% da população dos países em desenvolvimento as utilizam nos tratamentos primários da saúde. (OLIVEIRA et al., 2002).

Para exemplificar, recentemente, o Fundo Internacional de Desenvolvimento Agrícola (FIDA), das Nações Unidas, aprovou a liberação de US\$ 1 milhão (cerca de R\$ 3 milhões) para um programa de produção de plantas medicinais e fitoterápicos como suporte à pesquisa aplicada e transferência de tecnologia para a agricultura familiar dos países do cone sul, entre eles o Brasil (INCRA, 2004). Segundo NEVES (2001), a participação do Brasil no mercado internacional de plantas medicinais é bastante expressiva, pois, segundo dados da Carteira de Comércio Exterior, o Brasil exportou no ano de 1984 um valor estimado de US\$ 20 milhões em produtos naturais obtidos de plantas. E em 1996, FERREIRA (1998) cita que foram US\$ 53,9 milhões, o que corresponde a um aumento superior a 200% em 12 anos. FERREIRA (1998) cita que no Brasil, em 1994, as vendas de medicamentos em farmácias somaram US\$ 3,8 bilhões, dos quais 5,5% (US\$ 212 milhões) correspondiam a produtos contendo exclusivamente princípios ativos de origem vegetal.

Segundo SIMÕES & SCHENKEL (2001), houve um entusiasmo, exposto principalmente pela imprensa, quanto à potencialidade da utilização dos recursos naturais, onde expressivos valores estavam em jogo. Para esses autores, o mercado para terapias à base de plantas medicinais movimentava em torno de US\$ 500 milhões, somente no Brasil. E acrescenta que estes valores são pequenos se comparados aos valores publicados para a Europa e EUA, no ano de 2000, de respectivamente, US\$ 8,5 e 6,3 bilhões.

GARCIA et al. (1994) alertaram que os registros no IBGE dos produtos comercializados no Brasil inspiram dúvidas por causa do imenso comércio não documentado. Por este motivo, as informações, com relação ao Brasil sobre o comércio interno e externo, são descontraídos e pouco confiáveis.

A União Européia (UE) representa atualmente o principal mercado consumidor de fitoterápicos, com aproximadamente 50% do mercado mundial. Dentre os países da União Européia, a Alemanha é a maior consumidora de medicamentos fitoterápicos, com 50% de todo o mercado movimentado na UE. Os maiores consumidores de fitoterápicos são Alemanha, Japão e Estados Unidos da América (FERREIRA, 1998).

Mesmo com a tendência crescente de utilização de fitoterápicos, o mercado internacional de medicamentos alopáticos é imensamente maior. Isto porque o custo de produção é muito elevado, pois, tem-se que considerar os altos investimentos em pesquisa e desenvolvimento.

Segundo estimativas de SOUZA & MIRANDA (2003), o desenvolvimento de um medicamento sintético custa em torno de US\$ 500 milhões, caindo para US\$ 50 milhões no caso de um fitoterápico, que pode chegar ao mercado num tempo dez vezes menor. Em seguida, os autores estimam que o mercado mundial para medicamentos é de US\$ 300 bilhões.ano⁻¹, sendo US\$ 20 bilhões derivados de substâncias ativas de plantas medicinais e o mercado nacional de medicamentos é de aproximadamente US\$ 8 bilhões.ano⁻¹, com os derivados de plantas medicinais correspondendo a US\$ 1,5 bilhão desse total.

2.2. Metabolismo de Plantas

O metabolismo é o conjunto de reações químicas que continuamente estão ocorrendo em cada célula na presença de enzimas específicas que garantem certa direção a essas reações, estabelecendo o que se denomina de rotas metabólicas.

As rotas metabólicas podem ser inibidas ou ativadas pela presença de estímulos externos ou internos, como a concentração exógena e/ou endógena de determinados

nutrientes, que envolvem a ativação de genes relacionados às enzimas que controlam as rotas metabólicas (Figura 1).

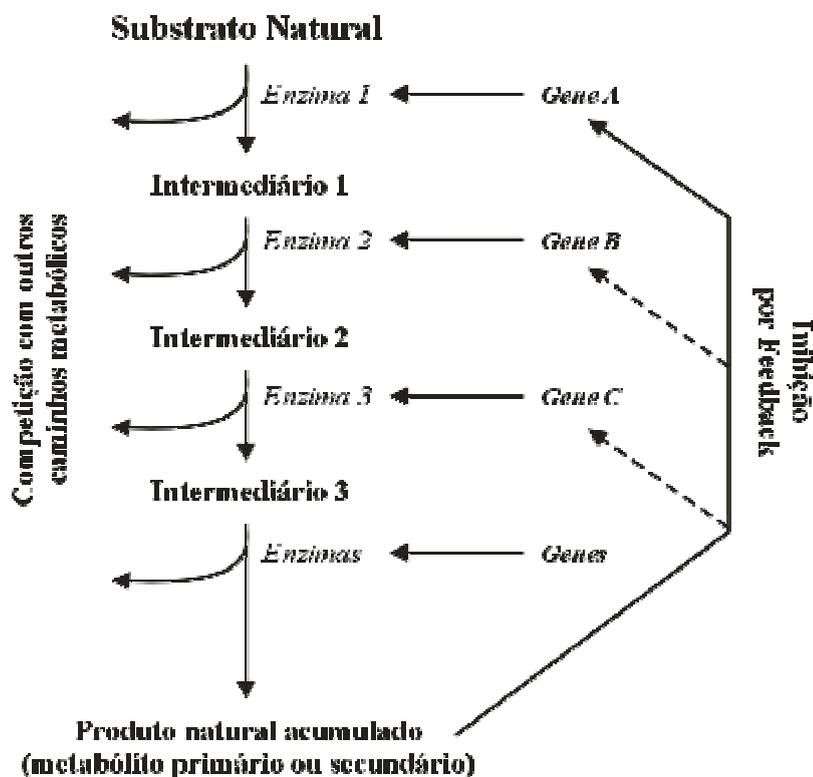


Figura 1. Rotas ou vias metabólicas. À esquerda, a possibilidade de competição pelo substrato intermediário. À direita, a possibilidade da regulação via Feedback ou pelo controle da expressão gênica (adaptado de MOYNA & MENÉNDEZ, 2001).

A complexidade do metabolismo vegetal é o principal obstáculo para que se compreenda realmente como, quando e porque certos compostos químicos são produzidos.

O metabolismo vegetal envolve a biossíntese de compostos denominados primários e secundários. Os primários são comuns a todas as plantas e estão relacionados com a vida do indivíduo, os secundários são específicos de um determinado grupo de plantas, e estão relacionados com a capacidade de sobrevivência num dado ambiente (MOYNA & MENÉNDEZ, 2001).

É importante salientar que os metabólitos primários e secundários estão intimamente ligados. Os metabólitos primários, uma vez produzidos, tornam-se substratos para a formação de compostos secundários, estes por sua vez, permitem que a espécie sobreviva no ambiente sobre forte pressão de agentes competitivos e nocivos a sua perpetuação, o que indiretamente permite à planta uma condição homeostática, garantindo melhores condições para a produção de metabólitos primários. Desta maneira, os dois grupos de compostos sintetizados pelas plantas são interdependentes, quando avaliados dentro das condições naturais em que se encontram os vegetais.

Avaliando-se as relações entre as duas vias biossintéticas, numa visão reduzida, fora do contexto natural em que está inserido o vegetal, não se espera uma interferência das rotas secundárias sobre as rotas primárias, e sim o contrário, visto que as vias metabólicas primárias são as fontes de substrato para as vias secundárias.

As plantas após converterem a energia luminosa em energia química, podem reduzir o CO₂ formando carboidratos, que serão utilizados como substrato para a formação das

substâncias fundamentais do metabolismo, cujo eixo central envolve a via glicolítica e o ciclo de Krebs. (STRYER, 1996).

A partir dessas vias metabólicas todas as outras são supridas, direta ou indiretamente, dando início a biossíntese de compostos, sejam eles do metabolismo primário, para formação de lipídeos, aminoácidos, nucleotídeos, glicídeos, ou secundário, para a formação de alcalóides, flavonóides, terpenóides, cumarinas e etc (SANTOS, 2001; MOYNA & MENÉNDEZ, 2001) (Figura 2).

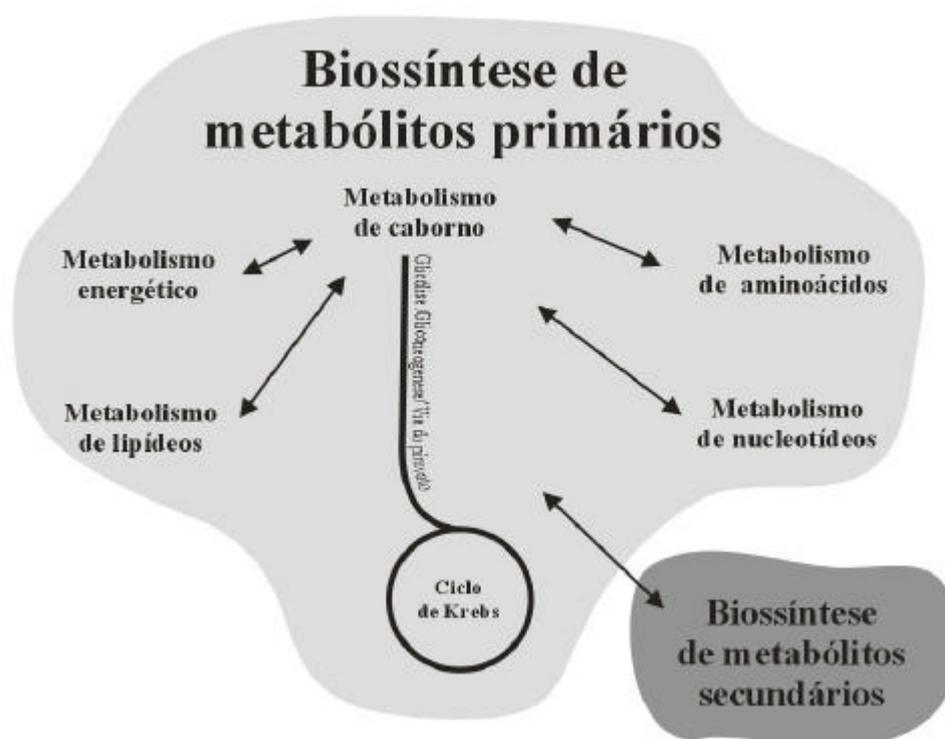


Figura 2. Diferentes rotas biossintéticas do metabolismo primário. O eixo central está representando as vias da glicólise, gliconeogênese e o complexo piruvato desidrogenase, seguido pelo ciclo de Krebs, associados a outras rotas biossintéticas, inclusive a de metabólitos secundários.

A composição química das espécies vegetais, especialmente das plantas encontradas nas florestas tropicais, ainda está longe de ser descrita em sua totalidade. Infelizmente, mesmo diante do potencial econômico e social que os vegetais apresentam, apenas cerca de 5 a 15% de 250 a 500 mil espécies de plantas tem sido objeto de estudo quanto a sua composição química e atividade biológica dos seus produtos metabólicos (ECHEVERRIGARAY et al., 2001). Estes dados apontam para a necessidade de se ampliar os estudos nesta área do conhecimento, estendendo a compreensão sobre as vias biossintéticas primárias e secundárias e a relação que existe entre elas.

2.2.1. Aspectos do metabolismo primário

As plantas possuem um metabolismo geral comum a todos os seres vivos, e que por isso, recebe o nome de “Metabolismo primário”. Faz parte deste, a síntese de compostos essenciais para a sobrevivência do indivíduo, tais como: açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos, e seus polímeros derivados. Contudo, para a síntese destes compostos, são necessários nutrientes, água e luz provenientes do meio (MARTINS et al., 1995; DI STASI, 1996).

Segundo SANTOS (2001) a teoria evolucionista explica porque o metabolismo básico é muito semelhante entre os vegetais; de acordo com essa teoria, todos os seres vivos derivam de um precursor comum, do qual conservam algumas características. É por isso que as principais macromoléculas são as mesmas entre os vegetais.

Pode-se dizer que nas células existem quatro tipos de pequenas moléculas orgânicas (açúcares, ácidos graxos, aminoácidos e nucleotídeos), as quais darão origem as principais macromoléculas da célula (carboidratos, lipídeos, proteínas e os ácidos nucléicos), que por sua vez, participam da formação de estruturas complexas responsáveis por funções distintas nas células, como: a parede celular, a membrana plasmática, as enzimas e o DNA (SANTOS, 2001).

Além disso, são nas vias metabólicas primárias, principalmente entre a glicólise e o ciclo de Krebs, que estão presentes os compostos químicos: fosfoenolpiruvato, alfa-cetoglutarato, aspartato e acetil-CoA, que são os precursores das principais vias do metabolismo secundário.

Na figura 3, pode-se observar que a biossíntese de metabólitos primários está relacionada a uma série de eventos metabólicos que ocorrem sucessivamente ou ao mesmo tempo, desde a captação de energia luminosa, na fotossíntese, até a replicação gênica, no núcleo da célula.

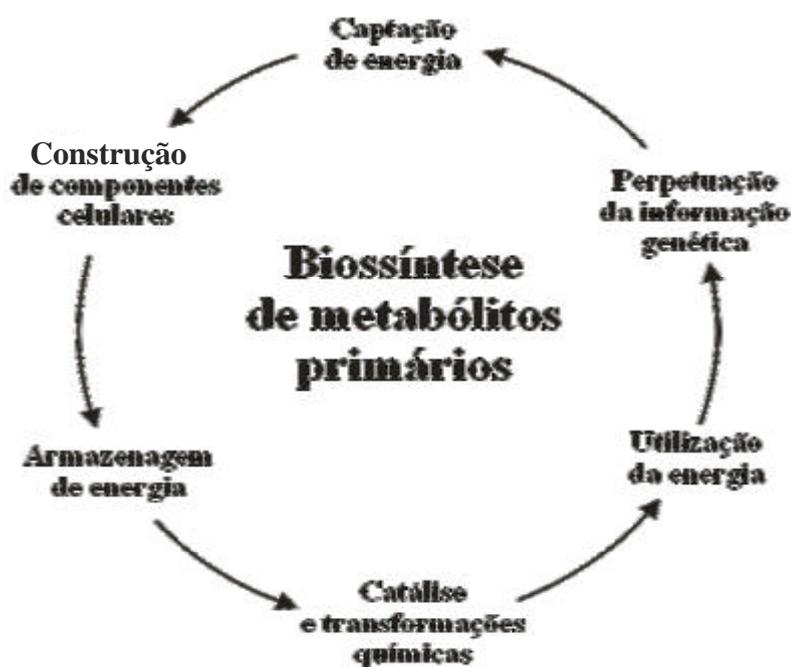


Figura 3. Biossíntese de metabólitos primários e sua relação com os eventos que ocorrem com a planta.

2.2.2. Aspectos do metabolismo especial (secundário)

O termo designado metabolismo secundário, cria a falsa impressão de que os metabólitos pertencentes a este grupo possuem menor importância, não sendo necessários à sobrevivência da planta. Por isso, em contraposição ao termo usualmente definido, GOTTLIEB et al. (1996) propõem a utilização do termo metabolismo especial.

Além dos produtos químicos provenientes do metabolismo primário, diferentes compostos são produzidos em pequenas quantidades, através do metabolismo especial. É através dos metabólitos especiais que a planta responde aos diferentes fatores ambientais, sejam eles físicos ou biológicos, permitindo sua comunicação e interação com diferentes

organismos, atraindo ou repelindo, sustentando ou destruindo (MARTINS et al.,1995; MARASCHIN & VEPOORTE, 1999).

Segundo SANTOS (2001) a produção de metabólitos especiais é o resultado de complexas interações entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação, sendo cada um desses processos governado por genes e, portanto, influenciado por três fatores principais: hereditariedade, estágio de desenvolvimento e ambiente.

Diferentes compostos químicos podem ser produzidos durante toda a vida do vegetal, em determinadas épocas e em determinado instante. Eles podem ser uma resposta específica e de curta duração em resposta a um determinado evento, como por exemplo, na relação simbiótica com microorganismos, quando se produzem substâncias fenólicas; ou não específica, como na produção de flavonóides, que por sua vez, possui ação protetora a raios UV, antifúngica, antibacteriana e atrativa a polinizadores, tornando-se necessário durante toda a vida da planta (STOESSL, 1985 e 1986; SANTOS, 2001; MOYNA & MENÉNDEZ, 2001).

Na figura 4 apresenta-se um esquema hipotético relacionando a biossíntese de metabólitos especiais com a sustentação da planta no ambiente em que ela se encontra.

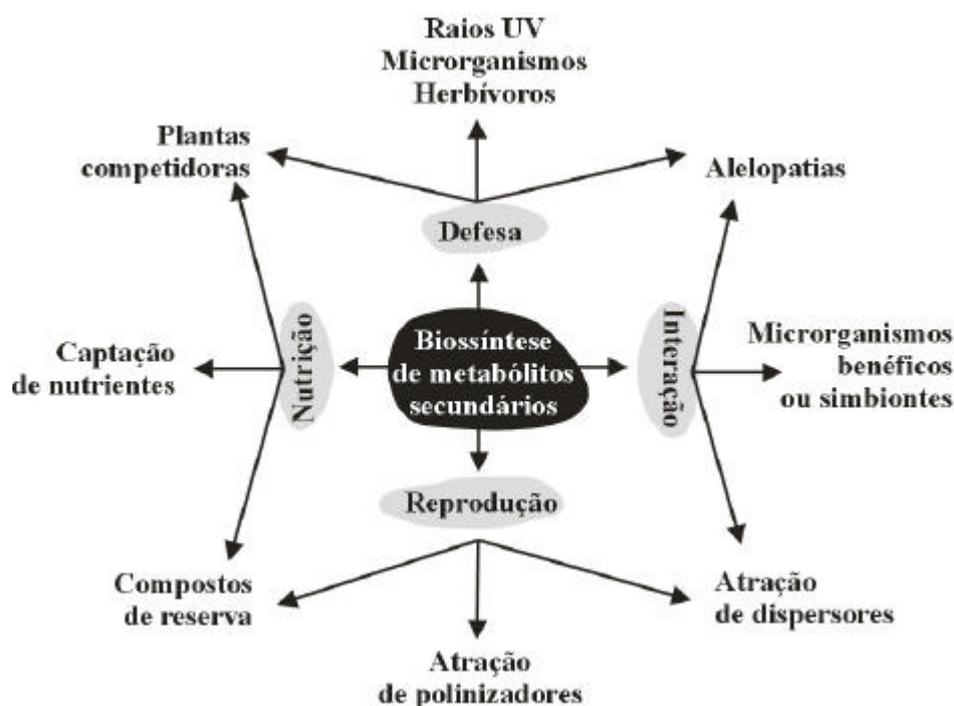


Figura 4. Esquema hipotético de utilidades ecológicas, fisiológicas e adaptativas dos compostos secundários para o estabelecimento da planta no ambiente. Associação dos compostos secundários a diferentes estratégias: nutricionais, reprodutivas, interativas e defensivas.

As principais vias ou rotas metabólicas especiais estão descritas na Figura 5, essas vias dão origem a diferentes grupos de substâncias: alcalóides, terpenos, lignanas, flavonóides, cumarinas, benzenóides, quinóides, xantonas e lactonas (DI STASI, 1996).

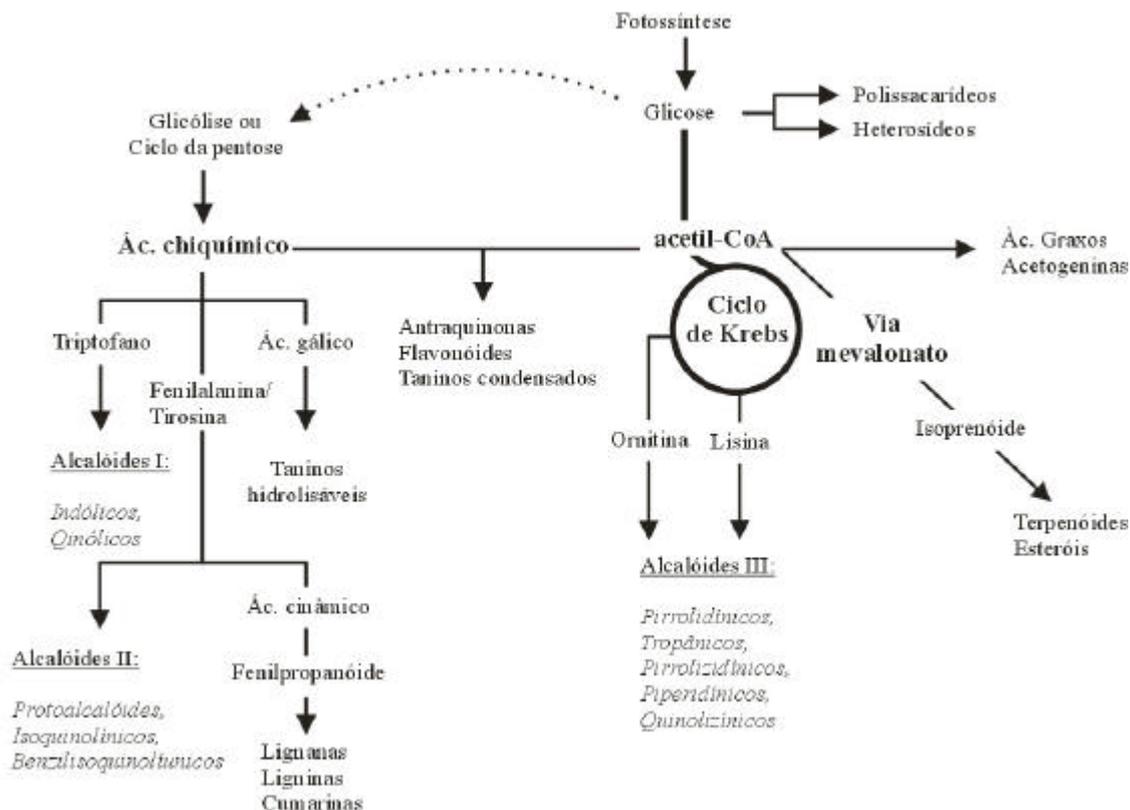


Figura 5. Principais rotas metabólicas para a biossíntese de compostos secundários, formados principalmente por dois precursores: o ácido chiquímico e o acetato. Outras vias e compostos secundários derivam desses intermediários e da combinação entre eles (adaptado de SANTOS, 2001 e DI STASI, 1996).

As substâncias provenientes do metabolismo especial são diferenciadas para cada gênero ou espécie de planta, a ponto de se propor um modelo de classificação sistemática vegetal utilizando os metabólitos especiais como um dos parâmetros (DI STASI, 1996; GOTTLIEB et al., 1996; ECHEVERRIGARAY et al., 2001; SANTOS, 2001).

Um enorme arsenal de constituintes naturais ainda não foi isolado e estudado do ponto de vista químico. Por outro lado, grande quantidade de compostos, já isolados e com estrutura química determinada, ainda não foi estudada quanto as suas atividades biológicas (DI STASI, 1996).

Segundo DIAS (1995) o Brasil é um país com 8.5 milhões de km² de área territorial, com vários biomas, com uma grande diversidade de solos e climas que favorecem a riqueza e variedade de tipos de vegetação e espécies da flora distribuída nos diversos ecossistemas brasileiros. Mesmo assim, MING (1996) alerta que ainda não se conhece quase nada sobre a composição química de 99,6% das plantas de nossa flora, estimadas entre 40 mil a 55 mil espécies. Para PLETSCHE (1998) isto significa que uma grande quantidade de compostos bioativos ainda não foi descoberta e, possivelmente, nunca será, porque este magnífico recurso está se esgotando rapidamente por conta da abertura de novas áreas agrícolas.

O grande desafio atual está na elucidação das vias biossintéticas do metabolismo secundário. No sentido de que a identificação de enzimas envolvidas na formação dos produtos secundários, com o auxílio dos avanços obtidos pela pesquisa em biologia molecular, significará a abertura das portas do futuro, tornando cada dia mais viável o isolamento dos genes específicos responsáveis por promover ou inibir as conversões de substâncias fitoterápicas de alta relevância (MATTOS, 1997).

Os estudos sobre o cultivo, a produção e a qualidade das plantas medicinais ainda são incipientes também no Brasil, apesar de ser o país com maior diversidade de flora (BORN, 2000). Deste modo, existe a necessidade urgente de trabalhos de pesquisa que proporcionem conhecimentos mais aprofundados sobre a condução destas plantas como fonte de matéria prima de qualidade (MARQUES, 1992; MAGALHAES, 1997; LEITE, 2000).

Com o cultivo em larga escala de espécies vegetais medicinais poderá ser minimizado o extrativismo predatório nas florestas, fato que tem sido responsável pela ameaça de extinção de algumas espécies produtoras de substâncias de amplo uso e comercialização como o jaborandi (*Policarpus microphilum* L), o pau rosa (*Aniba roseadora* D.), a canela (*Cinnamomun zeylanicum* B.), entre outras (FURLAN, 1996).

2.3. Cultivo Hidropônico de Plantas Medicinais : Uma Alternativa Viável

Cerca de 250 mil espécies vegetais são fontes de substâncias com potencial de utilização para a população mundial, entretanto, apenas algumas centenas são de uso corrente e praticamente são inexistentes estudos de sustentabilidade da sua exploração (NEVES, 2001).

Por isso, torna-se necessário desenvolver sistemas alternativos para a produção de plantas medicinais, de forma a minimizar os efeitos da exploração dos recursos *in natura*, e também, para controlar as variáveis que interferem no rendimento do princípio ativo de interesse, diminuir custos de produção e produzir um material de qualidade.

O sistema hidropônico que utiliza a técnica do fluxo laminar (NFT) consiste no cultivo de plantas sem a presença do solo como suporte, mas, em calhas suspensas, por onde acontece a passagem de um fluxo laminar, de uma solução nutritiva, contendo os elementos essenciais à sobrevivência da planta (BUCHER et al., 2002; TEIXEIRA, 1996).

Atualmente, diferentes hortaliças são produzidas por hidroponia e têm sido comprovados os benefícios econômicos e mercadológicos, aos produtores (VITAL et al., 2001). Utilizar a hidroponia para produzir plantas medicinais, torna-se uma ferramenta de interesse científico e comercial. Através do sistema hidropônico podem ser feitos diferentes estudos com a nutrição mineral de plantas medicinais, inferindo com maior certeza a importância que um determinado elemento pode assumir na produção de massa ou de metabólitos especiais (FURLANI, 1999).

O nitrogênio (N) é o nutriente que apresenta maior resposta positiva sobre a produção da maioria das plantas. Isso se deve a um somatório de fatores fisiológicos, que interagem com o elemento e contribuem para que a planta sintetize maior massa (MAIA, 1998).

Outro elemento imprescindível ao desenvolvimento das plantas é o fósforo (P). Amovimentação deste no solo é lenta, portanto, sua ausência influencia diretamente o desenvolvimento das plantas, principalmente a parte aérea. O P faz parte de estruturas químicas importantes para as plantas (DNA, RNA e moléculas intermediárias do metabolismo especial) e sua presença está relacionada com a disponibilidade de energia química.

Em contrapartida outros nutrientes também interferem de forma positiva ou negativa no desenvolvimento vegetal, em função da disponibilidade na solução nutritiva, por isso torna-se importante conhecer as quantidades ideais entre os nutrientes na solução, para que se obtenha uma ótima produção da cultura, com qualidade e baixo custo.

Outro fator que deve ser avaliado se refere à produção de metabólitos especiais, pois nem sempre uma produção adequada de biomassa representa qualidade fitoquímica, ou seja, o que se espera em alguns casos é a produção dos princípios ativos (BACCHI, 1996; FURLAN, 2001). Entretanto, o fator nutricional extremamente favorável ao desenvolvimento da planta pode tanto estimular quanto inibir rotas metabólicas especiais (REIS & MARIOT, 2001). De modo geral o metabolismo especial é uma resposta da planta ao ambiente, o que significa

dizer que nem sempre a planta vai responder adequadamente ao que se espera quando se oferece tudo que ela necessita para se desenvolver.

BUCHER et al. (2002) observaram que os efeitos esperados da nutrição níttrica, não se converteram em modificações na massa fresca da pimenta longa, no entanto ocorreram mudanças significativas nas frações nitrogenadas e açúcares solúveis, indicando que essas alterações no metabolismo vegetal podem eventualmente se refletir no metabolismo secundário.

2.4. Atividade Biológica de Produtos de Origem Vegetal

Segundo GOTTLIEB et al. (1996) cada categoria biossintética de metabólitos especiais pode compreender um número fabuloso de derivados. Seguindo esse pensamento, SANDIS & DI BLASI (2000) sugerem que as plantas são como uma indústria química que em todo o momento, ou em dada circunstância, estão produzindo novas e complexas substâncias químicas e que geralmente estas substâncias são ativas sobre outros organismos, e por esse motivo, muitas destas substâncias são exploradas por possuírem atividade medicinal.

Entre estes produtos, destacam-se centenas de princípios ativos. O número de compostos com atividade biológica bem caracterizada descritos no Phytochemical Dictionary, totaliza 2.793. Na década de 1980 foram identificados 121 compostos de origem vegetal, provenientes de 95 espécies, cerca de 110.000 compostos foram identificados até o presente, deste total, os terpenóides constituem o maior grupo (\pm 33.000 compostos), seguidos pelos alcalóides (\pm 16.000 compostos) (PLETSCH, 1998). Anualmente, 4.000 novos compostos de origem vegetal têm sido relatados, com uma tendência de crescimento para este valor (MARASCHIN & VEPOORTE, 1998).

Segundo FREIRE et al. (1997) substâncias resultantes do metabolismo secundário extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores, originaram 119 drogas com estruturas conhecidas, e que espécies vegetais pertencentes às famílias Compositae e Leguminosae compreendem a maioria das plantas estudadas até o presente com atividades biológicas, sendo utilizadas como antiinflamatórias, bactericidas, antifúngicas, antioxidantes entre outras.

A principal teoria que sustenta a causa dessa enorme diversidade de compostos secundários nas plantas superiores é explicada pela interação com patógenos e herbívoros, o resultado da associação freqüentemente mutualística dessas plantas com herbívoros, e entre eles principalmente os insetos, foi a explosão da química de produtos naturais (GOTTLIEB, 1987).

Mais de 300 compostos químicos relacionados à defesa da planta (fitoalexinas) já foram caracterizados entre diferentes classes de compostos químicos como cumarinas, diterpenos e flavonóides, tendo sido identificados em mais de 20 famílias de vegetais superiores (SMITH, 1996).

A importância que determinadas substâncias naturais pode atingir no mercado está inversamente relacionada com a sua disponibilidade. Muitas vezes, a substância química não pode ser sintetizada, ou o custo da síntese é muito elevado, obrigando sua extração *in natura*. Como exemplo, alguns compostos químicos são extraídos tendo uma equivalente relação de 1mg de composto químico para 50kg de biomassa de planta. O custo torna-se ainda maior quando essa droga é extremamente importante para a saúde humana. Um exemplo disso diz respeito a vimblastina que chegou a custar US\$ 325 o grama comercializado, em 1981 (GARCIA et al., 1994)

A maioria dos medicamentos que estão no mercado teve sua origem nos produtos naturais, em especial, de plantas. Entre as 20 drogas mais vendidas nos EUA em 1988, apenas sete não derivavam diretamente de produtos naturais. Ainda assim esses produtos participaram em algum momento da história farmacológica dessa droga (FERREIRA, 1998).

A bioatividade vegetal é um assunto polêmico no meio científico e motivo de controvérsias. Entretanto, é imperativo que se faça um estudo unificado desse assunto como forma de se conhecer os motivos naturais de cada composto, de cada rota metabólica e de cada estrutura morfológica, exigindo dessa forma uma visão ampla, não apenas macro ou microscópica, mas também químico-biológica (GOTTLIEB et al., 1996; 2002).

2.4.1. Uso medicinal

O conhecimento histórico do uso de plantas medicinais nos mostra ao longo da História da Humanidade que pela própria necessidade humana, as plantas foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados. Os primeiros escritos sobre ervas relatam sua importância nos cerimoniais de magia e medicina. Há placas de barro babilônicas de 3.000 anos, antes de Cristo, que ilustravam tratamentos médicos, e outras mais recentes que registram importações de ervas. Durante os 1000 anos subsequentes, culturas paralelas na China, Assíria, Egito e Índia, desenvolveram registros escritos de ervas medicinais, que descrevem uma mistura de utilizações medicinais e mágicas, e há escritos egípcios de 1.550 anos, antes de Cristo, com receitas médicas e anotações sobre a utilização aromática e cosmética das ervas (ALMEIDA, 1993; CUNHA, 2005).

No ano 3.000 antes de Cristo, os países orientais praticavam o cultivo de plantas medicinais tendo como iniciante She Uing, que se dedicava ao estudo dessas plantas; os Assírios e os Hebreus também se dedicaram ao cultivo de várias plantas consideradas úteis; a Índia foi considerada por alguns autores como o Eldorado dos medicamentos ativos, pela riqueza de sua flora medicinal; no Brasil, desde a época do descobrimento, os colonizadores observavam e anotavam o uso frequente de ervas pelos índios (SILVA, 1997).

De acordo com o Centro Internacional do Comércio, a proporção das plantas utilizadas no preparo de produtos farmacêuticos chega à terça parte das substâncias sintéticas empregadas na quimioterapia e estima-se que das 250.000 espécies de plantas existentes na Terra, 35.000 a 70.000 espécies têm sido usadas com intuito medicinal em algum país (MARTINS, 2000).

Destaca-se que, no Brasil, inúmeros trabalhos com o objetivo de embasar cientificamente a utilização de plantas como recursos terapêuticos, têm sido conduzidos. Na década de 80, muitos grupos, na sua quase totalidade concentrados em instituições de ensino superior, realizavam projetos de pesquisa nas áreas da botânica, agronomia, química, farmacologia e tecnologia farmacêutica, e seus esforços eram direcionados para a avaliação das potencialidades da nossa flora (SIMÕES & SCHENKEL, 2001).

É bem provável que das cerca de 200.000 espécies vegetais que podem existir no Brasil, pelo menos a metade pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população, mas nem 1% dessas espécies com potencial foi objeto de estudos adequados (MARTINS, 1995).

Segundo FURLAM (1998), uma planta é classificada como medicinal por possuir substâncias que têm ação farmacológica. Estas substâncias são denominadas de princípios ativos e, na maioria das vezes, não se sabe quais destes realmente estão atuando.

Existem diferentes grupos de metabólitos especiais que possuem atividade medicinal, os principais são conhecidos como: óleos voláteis, cumarinas e seus derivados, xantonas, lignanas e seus análogos, flavonóides, taninos, quinonas, heterosídeos cardioativos e alcalóides (DI STASI, 1996)

Os óleos voláteis de algumas plantas podem possuir ação carminativa, antiespasmódica, estimulante do aparelho digestivo, cardiovascular, irritante tópica ou revulsiva, assim como anestésica, secretolítica, antiinflamatória, antisséptica e sobre o sistema nervoso central (SIMÕES & SPITZER, 2001).

As cumarinas, seus derivados e as xantonas possuem atividades medicinais diversificadas como: anticoagulante, relaxante vascular, hipolipidêmica, hipotensora,

antiespasmódica, espasmolítica, vasodilatadora, atitrombótica, antioxidante, antidepressivas, antileucêmicas, antimicrobianas, hepatoprotetoras, antiinflamatória, hipoglicêmica e anti-HIV (KUSTER & ROCHA, 2001).

As lignanas e seus análogos possuem atividades antitumorais, antifúngicas, antioxidantes, antiinflamatórias, anti-hepatotóxicas, relaxante muscular, cercaricida, antineoplásica, antileucêmica, anti-HIV, anticonvulsivante, antiespasmódica, anti-PAF e antialérgica (BARBOSA FILHO, 2001).

Os flavonóides e seus derivados são consumidos diariamente pelos homens, na forma de frutas, verduras, legumes, ou seja, através da alimentação natural, sua atividade medicinal é ainda pouco conhecida, entretanto, alguns resultados apontam para alguns efeitos medicinais, como: antimutagênicos, no tratamento de doenças circulatórias, hipertensão, agindo como cofator da vitamina C, anticancerosa, antivirais, anti-hemorrágicas e antioxidantes (ZUANAZZI, 2001).

Os taninos possuem atividades farmacológicas e biológicas diversificadas, atuando beneficemente contra problemas orgânicos como: diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais e renais, além de possuírem atividades moluscicida, bactericida, antiviral e antitumoral (MELLO & SANTOS, 2001).

As quinonas possuem como principal propriedade medicinal à ação laxante, entretanto, em diferentes compostos quinólicos e seus derivados são encontradas atividades antitumorais, antifúngicas, antibacterianas, além de atividades contra a *Leishmania* e o *Trypanosoma cruzi* (FALKENBERG, 2001)

Os heterosídeos cardioativos são utilizados como diurético, tônico cardíaco e emético. Sua utilização é recomendada para o tratamento de insuficiência cardíaca congestiva (RATES & BIRIDI, 2001).

Em função da grande variedade estrutural, os alcalóides possuem um amplo espectro de atividades biológicas e farmacológicas, como: amebicida, emético, anticolinérgico, anti-hipertensivo, antimalárico, antitumoral, antitussígeno, hipnoanalgésico, depressor cardíaco, estimulante do sistema nervoso central, diurético, no tratamento da gota, miorelaxante, simpatomimético, antiviral e muitos outros (DI STASI, 1996; HENRIQUES et al., 2001).

2.4.2. Uso agrônomo das plantas medicinais

Foi a partir do período conhecido como “revolução verde” que, apesar das grandes safras, começaram a surgir preocupações relacionadas tanto aos problemas socioeconômicos quanto ambientais, neste caso, provocados pelo uso inadequado de agrotóxicos (PENTEADO, 2001; BETIOL, 2001; STANGARLIN et al., 1999). Desde então, diferentes estudos foram realizados pelas indústrias de agroquímicos, buscando-se a elaboração de produtos comerciais menos agressivos ao ecossistema e ao homem (grupos toxicológicos iv). Defensivos alternativos tem sido testados e entre eles consta a utilização de extratos, infusos e óleos essenciais de diversas plantas como elicitores, repelentes de insetos, inibidores de crescimento de fungos e bactérias, como moluscicida, nematicida e outras atividades com relevante importância agrônoma (HEIN, 2001).

A utilização de produtos naturais na agricultura tem suas vantagens (DEFFUNE, 2001), principalmente em função da baixa toxidez e da rápida degradação (GHINI & KIMATI, 2000; SAITO & LUCHINI, 1998; e GOTTLIEB et al., 1996), o que diminui os problemas de intoxicação de pessoas e o acúmulo de resíduos no solo. Desse modo, torna-se importante à realização de trabalhos que permitam avaliar as vantagens e desvantagens da utilização dessas substâncias.

Atualmente, tem-se observado um grande número de trabalhos que buscam validar a utilização de produtos ou subprodutos de origem vegetal para o controle de doenças e pragas.

CHALFOUN & CARVALHO (1987a,b) verificaram a existência de efeito inibidor do extrato aquoso e do óleo de alho (óleo industrial) sobre o crescimento miscelial de diferentes fungos fitopatogênicos. PENONI (1993) constatou a existência de atividade inibidora de duas cultivares de alho sobre o crescimento de bactérias.

Observou-se existência de atividade inibidora do extrato de duas formas de *Lippia alba* sobre o crescimento miscelial do fungo *C. gloesporioides*, isolados de *Citrus* (SANTOS, 1998). Também, foram verificados por STANGARLIN et al. (1999) que os extratos de diferentes plantas medicinais inibiram o crescimento miscelial de fungos fitopatogênicos e a formação de tubo germinativo em esporos de *C. graminicola*.

Extratos retirados de bulbilhos de alho, folhas de hortelã e de mamona e de frutos de pimenta foram testados e verificou-se que as propriedades fungitóxicas desses extratos evidenciam o uso potencial dos mesmos como alternativa aos métodos físicos e químicos convencionalmente usados para o controle de doenças em plantas (RIBEIRO & BENDENDO, 1999)

SOUZA & SOUZA (2000) observaram efeito fungistático do extrato de arruda sobre os fungos *F. oxysporum*, *R. solani* e *S. rolfsii*. SOUZA et al. (2002) constataram a existência de efeito inibitório de extratos de diferentes plantas medicinais sobre o desenvolvimento miscelial de fungos fitopatogênicos e sobre a germinação de sementes de alface.

Importantes e crescentes propostas de estudo desses produtos naturais, se referem aos seus efeitos alelopáticos e às suas aplicações na agricultura com diferentes finalidades, como o controle de fitopatogênicos e pragas, ação herbicida, germinativa e antigerminativa.

Com o objetivo de se verificar a biotividade de extratos do cravo-da-índia e do eugenol puro, foi constatado que os mesmos possuem efeito alelopático, inibindo a germinação de sementes de várias plantas, assim como diminuindo o crescimento de algumas delas quando aspergidas com o extrato, entretanto, não foi observado efeito alelopático de eugenol a longa distância, em função de sua característica volátil (MAZZAFERA, 2003)

A inibição da germinação e do crescimento radicular de alface por extratos aquosos de cinco espécies de *Gleicheniaceae*, foram verificados por SOARES & VIEIRA (2000). Foi encontrado por SOUZA (1997), efeito alelopático das palhas de capim-colonião, capim-jaraguá, capim gordura, mucuna e bambú nas culturas de cenoura e alface.

PRATES et al. (2000) constataram efeito inibitório do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. PIRES et al. (2001) verificaram atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas.

Foram verificados os efeitos de extratos aquosos e de óleos essenciais de diferentes plantas medicinais sobre a germinação de sementes de plantas cultivadas e de invasoras e, constatou-se que as espécies vegetais medicinais utilizadas no trabalho são promissoras no controle de plantas invasoras, principalmente por sua ação alelopática direta na germinação de sementes, (CRUZ et al., 2000).

2.5. Fitopatogênicos

Os fungos fitopatogênicos são microrganismos de grande interesse agrícola, visto que representam perdas e prejuízo no âmbito econômico e produtivo, além de problemas ecológicos, em decorrência do uso de pesticidas para o seu controle (KIMATI et al., 1997). São eles: *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.*, *Sclerotium sp.*, *Rhizoctonia sp.* e *Cladosporium sp.*, entre outros.

O *Colletotrichum* é o agente causal do tipo de doença conhecida como antracnose, que ocorre em muitas plantas, afetando o desenvolvimento e a produtividade da cultura e é de difícil controle o que eleva o custo de produção (KIMATI et al., 1997).

Segundo KIMATI et al. (1997) *Cladosporium* afeta diferentes culturas, causando doenças conhecidas como podridões duras, sarnas e queimas em curcubitáceas, manchas em

solanáceas e verrugose em maracujazeiros, afetando diretamente a produção e a qualidade do produto final.

No gênero *Fusarium*, encontram-se agentes causais de podridões e doenças vasculares, como a murcha, e o seu controle é bastante difícil, pois se desenvolve no solo é capaz de sobreviver por longos períodos, o que dificulta a sua erradicação e aumenta os custos de produção (BENOENDO, 1995).

Os fungos do gênero *Sclerotium* podem sobreviver no solo por mais de cinco anos em estruturas de resistência chamadas escleródios, um enovelado de hifas revestido por uma camada de células melanizadas (MELO & AZEVEDO, 1998). Seus hospedeiros são os mais variados possíveis, e quando associado à alta temperatura e umidade, causa problemas como murcha da planta, provocada pela destruição do tecido da base do caule até as raízes, que em plantas jovens pode levar ao tombamento. Seu controle é muito difícil, tanto por métodos mecânicos quanto por químicos.

Os princípios ativos provenientes das plantas são de suma importância no controle de doenças e pragas agrícolas. Ao contrário das substâncias químicas (agrotóxicos) utilizadas na agricultura convencional, os produtos de origem natural, são biodegradáveis, atuam como bioinibidores e não como biocidas (geralmente são seletivos a um determinado grupo de organismos vivos), diminuindo os danos sobre o ambiente e geralmente não são prejudiciais a saúde do homem.

2.6. Hortelã (*Mentha piperita*)

O gênero *Mentha* pertence à família *Lamiaceae* (antiga *Labitae*) e compreende um número muito grande de espécies, dentre eles a *Mentha piperita* (hortelã). São originárias da Europa, adaptando-se bem nos climas tropicais, suportam temperaturas muito baixas, entretanto, temperaturas elevadas podem diminuir o rendimento de óleo essencial (CORRÊA JUNIOR et al., 1994).

As espécies de menta formam híbridos facilmente entre si, tornando a identificação botânica muito complexa. Segundo DI STASI & HIRUMA-LIMA (2002) a espécie *Mentha piperita* é um híbrido de *M. viridis* e *M. aquática*. Entretanto, SIMÕES & SPITZER (2001), ao consultarem monografias farmacopéicas (F. Bras II, DAB 10, Ph. Eur.1997 e USNF 18) e GONZAGA & RODRIGUES (2006) informam que *M. piperita* é um híbrido originário do cruzamento entre diversas espécies, provavelmente *M. spicata* L., *M. aquática* L., *M. longifolia* Huds. e *M. rotundifolia* Huds.

A *M. piperita* é uma planta de porte herbáceo, com 30 a 60 centímetros de altura; estolonífera; folhas ova-lanceoladas e serradas, pouco aveludada; com raiz fibrosa e caule ereto. A inflorescência se dá em espiga terminal de flores violáceas, numerosas, curtamente pedunculadas, reunidas em verticílios separados. A composição do seu óleo varia muito no decorrer do ano e nas diversas fases do seu desenvolvimento (CORRÊA JUNIOR et al., 1994; BRUGNERA et al., 1999; DI STASI & HIRUMA-LIMA; 2002; GONZAGA & RODRIGUES,2006).

2.6.1. Aspectos agronômicos

Todas as espécies de hortelã são facilmente cultiváveis e multiplicam-se pela divisão de estolões; podem ser plantadas em qualquer época do ano, entretanto, o melhor momento é na primavera ou no outono; desenvolvem-se melhor em solos férteis, bem drenados (porém não secos), ricos em matéria orgânica e o pH deve estar entre 6,0 e 7,0 para o bom desenvolvimento da planta (BRUGNERA et al., 1999)

A propagação das plantas de hortelã deve ser feita por rizomas com cerca de 10 centímetros, plantando-se no espaçamento de 0,6 x 0,3 metros e a colheita das folhas deve ser realizada a partir do quarto mês de plantio (GONZAGA & RODRIGUES, 2006).

Tanto BRUGNERA et al. (1999) quanto GONZAGA & RODRIGUES (2006) recomendam a secagem à sombra ou em secador com temperatura máxima de a 40° C. Como é uma planta produtora de óleos essenciais, recomenda-se colher bem cedo ou à noite, para não haver perda.

O tempo ideal para se proceder a coleta das plantas de hortelã varia conforme a época do ano, o clima da região e o destino que se dará para a planta (extração de óleo essencial ou produção de material fresco). SACRAMENTO et al. (2002) observaram que o ponto de máxima produção de matéria seca ficou acima dos 135 dias de cultivo, indicando um comportamento característico de planta perene. Em contrapartida, CZEPAK (1998) observou que em colheitas aos 60 a 70 dias houve melhor rendimento de mentol cristalizável, no óleo essencial.

Segundo recomendações comerciais, o óleo essencial deve obedecer a critérios mínimos quanto as suas características físico-químicas (SERAFFINI E CASSEL, 2001), entre elas: deve ter mais que 50% de mentol; ter no mínimo 1.0% de óleos etéreos; não deve haver pedaços de caule com diâmetro maior que 5,0 mm e o resíduo por incineração deve ser de no máximo 8.0% (CORRÊA JUNIOR et al., 1994).

2.6.2. Aspectos econômicos

O cultivo de espécies aromáticas e a obtenção de óleos voláteis têm grande importância econômica, principalmente, pela crescente demanda nas indústrias de alimentos, de cosméticos e a farmacêutica. O Brasil importa a maior parte dos óleos essenciais que a indústria nacional desse setor utiliza, sendo a média de importação e exportação dos últimos anos, respectivamente, de US\$ 10,8 milhões contra US\$ 2,2 milhões (SERAFINI & CASSEL, 2001)

Estima-se que são cultivados mais de 500 mil hectares com plantas da família Lamiaceae e que destas as principais são *Mentha arvensis* L., *Mentha piperita* L. *Mentha sapicata* L. com produção mundial por ano de, respectivamente, 8.600, 2.367 e 880 toneladas (SIMÕES & SPITZER, 2001).

Durante a Segunda Guerra Mundial, o Brasil passou a ter grande importância mundial na produção do óleo essencial de menta. O Paraná obteve destaque no cenário nacional, pois neste período o Brasil participava entre 63,7 e 80,8% da produção mundial e o Paraná respondia com 95% da produção brasileira (BRUGNERA et al., 1999; MAIA, 1998).

Segundo MAIA (1998) foram comercializados em torno de 5.000 toneladas de óleo essencial de menta por ano o que equivale a uma movimentação financeira equivalente a US\$ 50 milhões por ano.

O principal componente extraído do óleo de menta é o mentol. Atualmente o mentol pode ser produzido por síntese química, entretanto sua qualidade e seu valor comercial são menores, devido à presença de moléculas tóxicas formadas durante o processo de síntese. Dessa forma o mentol natural é preferencialmente comercializado ao sintético (MAIA, 1998).

Mesmo o mentol sendo o principal componente do óleo essencial de *M. piperita*, outros componentes que estão presentes no óleo são importante para definir a qualidade do óleo essencial. Além disso, outras substâncias, mesmo que em menores quantidades, possuem valor comercial para indústrias farmacêuticas e químicas.

A empresa Sigma-Aldrich Brasil Ltda. comercializa no Brasil produtos naturais isolados do óleo de menta, tais como: neomentol, mentona, pulegona, hidrato sabineno, α -pineno, β -pineno, limoneno, α -terpineol, 1,8 cineol e mentofurano, esse último podendo custar R\$ 370,00 o mililitro do composto.

2.6.3. Cultivo hidropônico

O cultivo hidropônico entre outras formas de cultivo, pode apresentar vantagens que o sistema tradicional (plantio no solo previamente preparado com calagem e adubação conforme recomendação para a cultura) não apresenta, como observado por OCAMPOS et al. (2003) ao comparar a hortelã rasteira cultivada em diferentes sistemas; estes autores

concluíram que o cultivo hidropônico foi o que apresentou maior rendimento (produção de biomassa e óleo essencial), sem alteração no teor do óleo essencial.

FERNANDES et al. (2004) cultivando manjeriço em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido, verificaram que o sistema hidropônico apresentou a maior produtividade de massa verde, aproximadamente 44% superior aos outros dois tipos de cultivo, para ambas as espécies estudadas; entretanto, os autores constataram que não houve diferença significativa entre as formas de cultivo quanto ao rendimento e composição química dos óleos essenciais dentro da mesma espécie.

Outros resultados, como os obtidos com manjeriço, permitiram a JUNIOR et al. (2004) concluir que a hidroponia mostrou-se superior como técnica de cultivo. MAIA (1999) cultivando *Mentha crispa* no sistema hidropônico, também observou que a produção de folhas foi cerca de três vezes maior que a produção obtida no sistema convencional.

RODRIGUES et al. (2002) observaram que diferentes formas de N disponíveis à planta, também podem modificar a resposta com relação à produção de massa fresca ou de metabólitos especiais, pois, a relação $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ 50:50 mostrou-se prejudicial ao crescimento da menta.

Para a Pimenta Longa (*Piper hispidinervum* C. DC) foi observado que variações na nutrição níttrica não se converteram em modificações na massa fresca, no entanto ocorreram mudanças significativas nas frações nitrogenadas e açúcares solúveis, sugerindo que essas alterações no metabolismo vegetal podem eventualmente se refletirem no metabolismo secundário (BUCHER et al., 2002).

RODRIGUES et al. (2002b) observaram que o crescimento de plantas de hortelã foi acelerando na medida em que o aumentou a concentração de fósforo na solução nutritiva. MAIA et al. (1999) constataram, também, que a forma de aplicação dos adubos fosfatados afeta o rendimento da cultura de hortelã.

Entretanto, além de estar relacionado ao desenvolvimento da planta, o fator nutricional pode estar diretamente relacionado à produção qualitativa e quantitativa de alguns metabólitos especiais, uma vez que em situações de estresse, as plantas, geralmente modulam rotas biossintéticas que a permitem se sustentar no ambiente adverso.

A ausência de alguns elementos essenciais, nas quantidades necessárias, pode estimular a formação de determinadas moléculas em detrimento de outras, reforçando o papel exercido pelas condições nutricionais na produção de substâncias pelo metabolismo especial ou secundário (FREIRE et al., 1998).

MAIA (1998) observou que a omissão de um dos elementos: nitrogênio, fósforo, potássio ou cálcio, na solução nutritiva, reduziu significativamente a produção de material verde da planta inteira e que as proporções de limoneno, mentona, mentol e mentilacetato no óleo essencial são alteradas pelas condições de nutrição da planta.

2.6.4. Produção e qualidade do óleo essencial da hortelã

A grande maioria dos óleos essenciais voláteis é constituída, do ponto de vista químico, de derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo que esses últimos preponderam. A ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor de água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (SIMÕES & SPITZER, 2001).

Os terpenóides representam a segunda classe de metabólitos secundários com maior número de constituintes ativos. A via do mevalonato (ácido mevalônico) que dá origem aos terpenóides, tem como precursor três moléculas de acetil-CoA que são condensadas e depois reduzidas, numa primeira etapa, até a formação do ácido mevalônico; em seguida, o mevalonato sofre duas etapas de fosforilação, na presença de ATP e uma decarboxilação, também na

presença de ATP, até a formação do isopentenilpirofosfato, que é o precursor para formação dos terpenóides (Figura 6).

Os terpenóides são classificados de acordo com o número de unidades isoprênicas presentes na molécula, ou seja, com duas unidades isoprênicas condensadas ou 10 carbonos (monoterpenos), três unidades ou 15 carbonos (sesquiterpenos), quatro unidades ou 20 carbonos (diterpenos) e assim por diante (figura 7) (DI STASI, 1996; SANTOS, 20001; SIMÕES & SPITZER, 2001).

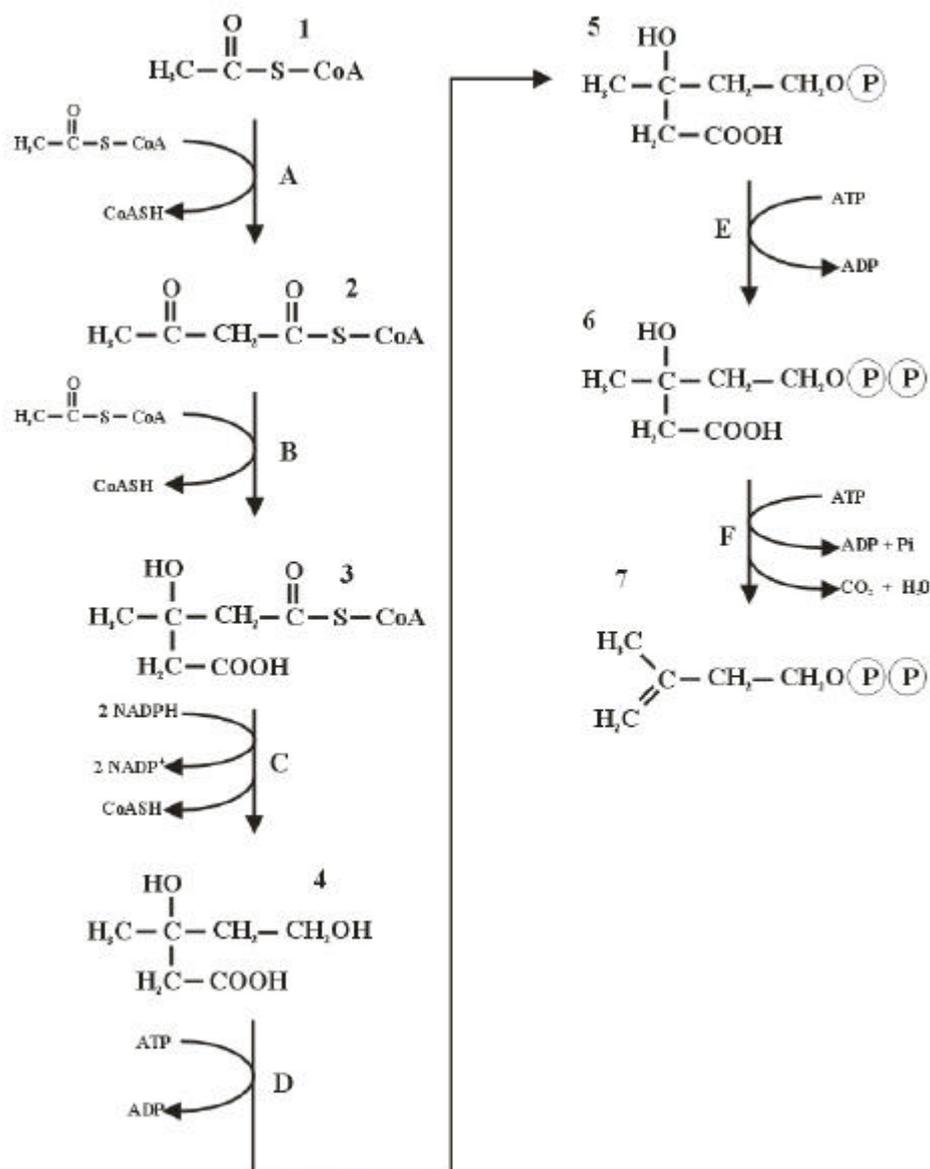


Figura 6. Via metabólica do acetato/mevalonato para formação do isopentenilpirofosfato, unidade básica com cinco carbonos, utilizado para a biossíntese de terpenóides. Compostos: 1 – Acetil-CoA; 2 – Acetoacetyl-CoA; 3 – 3-Hidroxi-3-metilglutaril-CoA; 4 – Ácido mevalônico; 5 – Ácido mevalônico 5-fosfato; 6 – Ácido mevalônico 5-pirofosfato; 7 – Isopentenilpirofosfato. Enzimas: A – Tiolase; B – HMG-CoA sintase; C – HMG-CoA redutase; D – MVA kinase; E – MVAP kinase; F – MVAPP decarboxilase (Adaptado de CROTEAU et al. (2000)).

Os óleos voláteis podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como em pelos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas. Nas plantas de horetlã, os óleos voláteis são produzidos nas folhas, em diferentes tipos de tricomas glandulares (MARTINS, 2002).

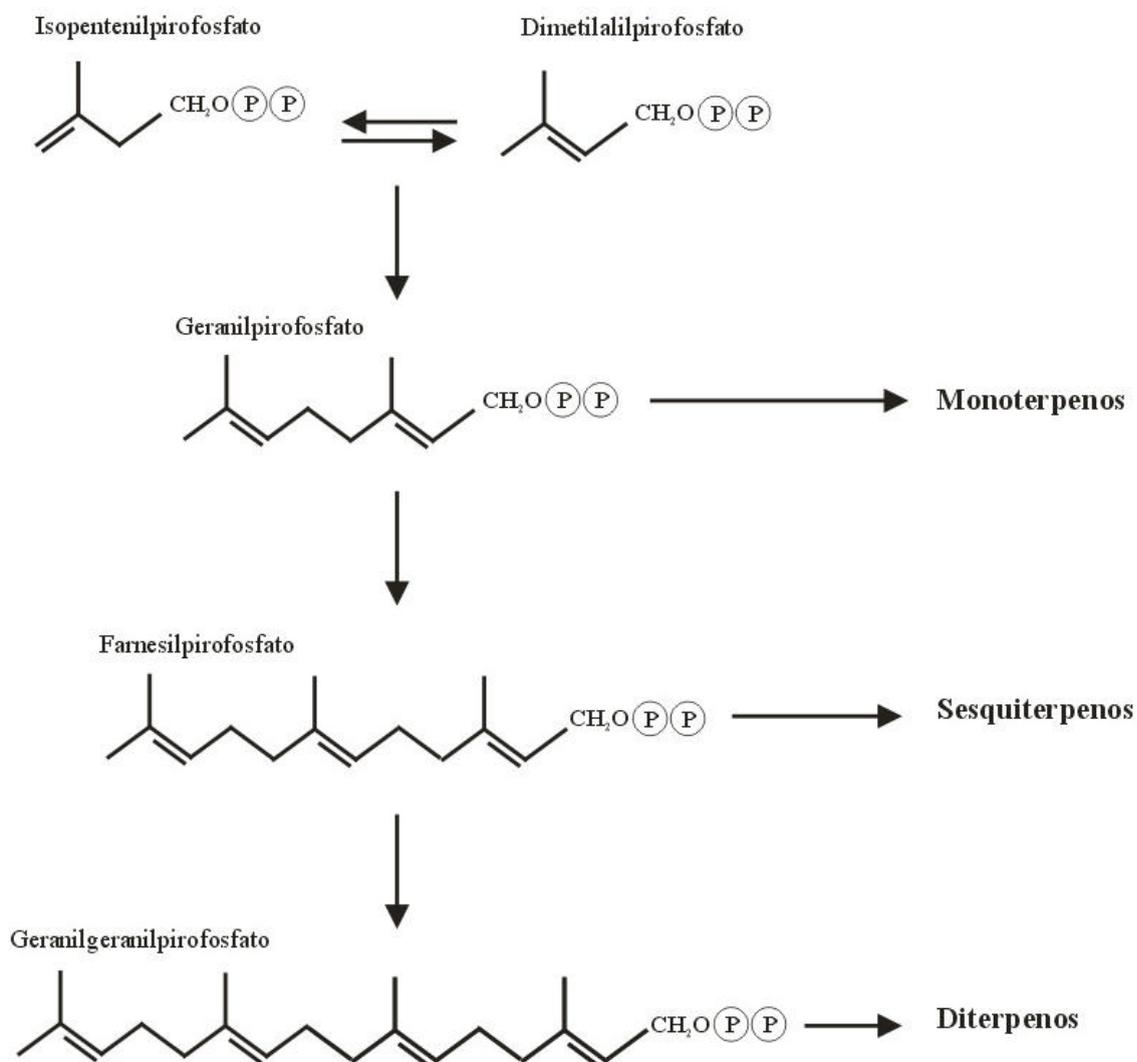


Figura 7. As principais subclasses de terpenóides são biossintetizadas a partir de unidades básicas de cinco carbonos (isopentenilpirofosfato ou seu isômero dimetilalilpirofosfato) em reações catalisadas por preniltransferases que de acordo com o número de unidades básicas irão formar monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e assim por diante (Adaptado de CROTEAU et al. (2000)).

TURNER et al. (2000) verificaram que a distribuição de glândulas peltadas em formação reflete um padrão basipetal de maturação da folha de *M. piperita*, onde as regiões imaturas, na base da folha, continuam a produzir glândulas de óleo, muito depois da produção de glândulas parar no ápice da folha. Além disso, os autores constataram que são necessários de 20 a 30 horas de atividade secretora para o enchimento do compartimento de armazenamento das glândulas com óleo essencial. Em ensaios *in vitro* com glândulas de óleo em folhas de *M. piperita*, MCCONKEY et al. (2000) verificaram que as enzimas responsáveis pela biossíntese do mentol têm comportamento muito parecido, com maior atividade enzimática nas folhas com 15 dias de idade, exceto, para a última enzima da rota (mentona redutase) que apresentou maior atividade nas

folhas com 21 dias. Esses autores também verificaram que a maioria das enzimas envolvidas na biossíntese de monoterpenos, em planta de *M. piperita*, são reguladas durante a expressão gênica.

Segundo LIMA et al. (2003) os monoterpenóides e sesquiterpenóides produzidos por diversos grupos vegetais são metabólitos frequentemente sujeitos a fatores abióticos, como: baixa intensidade luminosa que, geralmente, diminui a produção de monoterpenos; pequenas variações diárias de temperaturas, que estimulam a produção de terpenóides, enquanto que valores extremos causam sua redução; aumento na disponibilidade de nitrogênio e fósforo no solo que favorece o maior rendimento no conteúdo de óleo essencial e os índices de precipitação que não seguem um padrão definido, variando entre as espécies estudadas.

No trabalho de RUIZ DEL CASTILLO et al. (2004) foram analisados diferentes óleos essenciais de *M. piperita* cultivados em diferentes regiões da Espanha e os resultados obtidos mostraram a existência de variação na quantidade relativa dos componentes como na composição do óleo essencial.

Ao estudarem os efeitos das variações climáticas, em diferentes regiões da Grécia KOKKINI, S. et al. (2004) observaram que a produção e qualidade do óleo essencial de *M. pulegium* foram alterados. Estes resultados podem estar relacionados com o tipo de radiação ou sua intensidade, conforme foi observado por KAROUSOU et al. (1998) que constataram que o aumento da radiação UV-B estimula a produção de óleo em algumas espécies de menta, entretanto, não altera a composição do óleo.

FAROOQI et al. (1999) estudaram o efeito de diferentes regimes fotoperiódicos sobre o crescimento, florescimento, rendimento e qualidade do óleo essencial de três espécies de menta e verificaram que o crescimento vegetativo foi maior em dias longos e que a biogênese a concentração e a composição do óleo essencial foram afetadas pelo fotoperíodo.

Estudos sobre a produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis*, em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), mostraram que na ausência de adubação fosfatada, os teores de óleos essenciais e de mentol no óleo foram menores em plantas sem inoculação. Os tratamentos com inoculação proporcionaram incrementos de até 89% nos teores de óleos e de mentol, em relação ao tratamento sem inoculação, todavia, com o incremento da adubação fosfatada, não foram observados incrementos dos teores de óleos essenciais e mentol em razão dos FMA (FREITAS et al., 2004).

A composição do óleo essencial de hortelã varia em função de diferentes fatores abióticos, por isso não existe uma definição exata da composição do óleo essencial, nem da quantidade de cada composto, entretanto, podem estar presentes no óleo de hortelã os seguintes compostos químicos e seus isômeros: pineno, mirceno, cimeno, sabineno, limoneno, 1, 8-cineol (eucaliptol), mentona, mentofurano, isomentona, mentil acetato, neomentol, mentol, ocimeno, terpineno, terpinoleno, fenchona, linalool, terpineol, aldeído cumímico, pulegone, trans-piperitol, neral, carvone, geraniol, timol, carvacrol, eugenol, ocimenona, 6-OH-carvotonacetona, piperitenona, oxido de piperitenone, geraniol acetato, cariofileno, germacreno d, cadineno, calameneno, globolol, espatulenol, eudesmol, cubenol, e outros (CROTEAU, 1987; MAIA, 1998; GERSHENZON et al., 2000; SIMÕES & SPITZER, 2001; SARTORATTO et al., 2004). As estruturas químicas dos principais representantes de terpenos em plantas estão descritas no Anexo I.

Na literatura revisada poucos trabalhos abordaram os efeitos diretos da nutrição mineral, em cultivo hidropônico, sobre a constituição química do óleo essencial da planta de hortelã. Na maioria dos casos, os trabalhos apontaram para alterações no rendimento de óleo e na produção de biomassa. Nenhuma pesquisa foi encontrada, que indicasse o efeito de diferentes doses de N ou P sobre as frações solúveis presentes nos tecidos das plantas ou a relação destes com a qualidade do óleo essencial da planta de hortelã.

Desta forma, estudar os efeitos do N e do P sobre a produção de biomassa, sobre o estado nutricional da planta, associá-lo ao rendimento de óleo essencial e a composição deste óleo seria

uma forma de contribuir com informações, que de alguma forma podem esclarecer as questões levantadas no início deste trabalho.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Condução do Experimento

O experimento foi conduzido em um sistema hidropônico construído na casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, situado no município de Seropédica – RJ, de novembro de 2004 a janeiro de 2005 (Figura 8).



Figura 8. Casa de vegetação do Departamento de Solos, Seropédica -RJ, local onde o experimento foi conduzido no período entre 11 de outubro de 2004 e 21 de janeiro de 2005.

A planta utilizada no experimento foi a *Mentha piperita*, conhecida como hortelã (Figura 9). As plantas foram cultivadas em soluções nutritivas com diferentes composições, variando-se os teores de N e P conforme descrito na Tabela 1.

As doses de N e P foram escolhidas conforme dados obtidos na literatura. Diferentes trabalhos (MAIA, 1999; RODRIGUES et al., 2002; RODRIGUES et al., 2002b; OCAMPOS et al., 2003) indicaram que as plantas de hortelã obtiveram um desenvolvimento adequado quando submetidas a condições entorno de 80 e 12 mg.L⁻¹, respectivamente de N e P. Deste modo, foram escolhidos valores de P (4 e 16 mg.L⁻¹) e de N (60 e 120 mg.L⁻¹) que possibilitassem uma análise dos resultados obtidos apartir desses tratamentos contrastantes.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3 (composição da solução nutritiva x época de coleta) com quatro repetições. As épocas de coleta foram aos 29, 49 e 64 dias após o início dos tratamentos. Foram feitas análises de variância, dos dados obtidos durante o experimento, e as médias submetidas ao teste Fisher LSD com 5% de confiança.



Figura 9. Ilustração de uma planta de Hortelã (*Mentha piperita*) em fase reprodutiva segundo Thomas Schoepke (<<http://www.plant-pictures.de>>).

Tabela 1. Composição das soluções nutritivas utilizadas no experimento, com variações nas doses de nitrogênio e fósforo.

TRAT	NO ₃ ⁻	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn	Cl
Soluções	----- mg.L ⁻¹ -----												
T1	120	16	273	53	19	35	0,3	0,02	2,0	0,4	0,06	0,06	0
T2	60	16	271	50	19	100	0,3	0,02	2,0	0,4	0,06	0,06	0
T3	120	4	273	53	19	41	0,3	0,02	2,0	0,4	0,06	0,06	0
T4	60	4	271	50	19	106	0,3	0,02	2,0	0,4	0,06	0,06	0

Micronutrientes segundo Hoagland e Arnon (1950). A composição dos sais utilizados no preparo das soluções nutritivas está descrita no Anexo 2.

3.2. Germinação das Sementes e Aclimação das Plântulas de Hortelã

As sementes de hortelã (*Mentha piperita* – peppermint) foram adquiridas junto aos representantes da empresa Isla Sementes Ltda, foram germinadas em laboratório, acomodadas sobre espuma fenólica (previamente tratada com solução de hidróxido de sódio 0,01M) umedecida com água destilada e acondicionada em um fitotron; quando as primeiras folhas definitivas surgiram, utilizou-se uma solução nutritiva a ¼ de força iônica (Tabela 2).

Tabela 2. Composição da solução nutritiva utilizada no período de crescimento e aclimação das mudas de hortelã*.

N-NO ₃ ⁻	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn	Cl
-----mg.L ⁻¹ -----												
60	16	271	50	19	100	0,3	0,02	2,0	0,4	0,06	0,06	0

Micronutrientes segundo Hoagland e Arnon (1950); *100% de força iônica.

Quando as plântulas atingiram cerca de 10 cm foram então levadas para casa de vegetação, onde permaneceram por uma semana em fase de aclimação; em seguida as plantas foram transplantadas para as calhas de cultivo, sendo irrigadas com solução nutritiva a ¼ de força iônica por uma semana e ½ de força iônica por mais uma semana (Tabela 2 e Figura 11); até que as soluções fossem trocadas pelas soluções correspondentes aos tratamentos (Tabela 1). As soluções nutritivas foram acondicionadas nos respectivos reservatórios (Figura 10 B).

Durante o funcionamento do sistema hidropônico, a solução nutritiva contida no reservatório é levada pela ação de uma bomba hidráulica até um ponto mais alto no perfil hidropônico, a mesma volta ao reservatório por queda livre, durante a passagem as raízes são banhadas pela solução nutritiva, que fornece água e nutrientes essenciais ao desenvolvimento da planta (Figura 10 A).

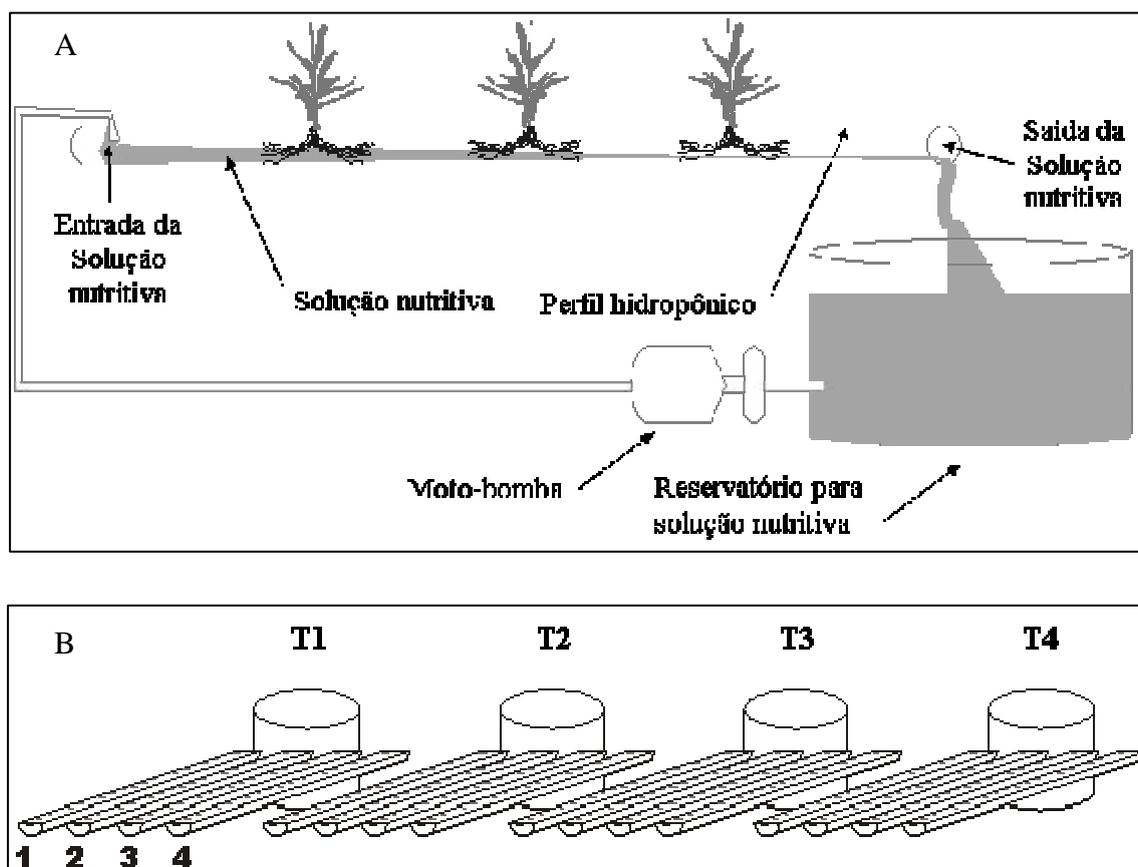


Figura 10. A – Funcionamento do sistema hidropônico. B – Croqui do experimento. As calhas inclinadas representam os canais por onde passa a solução nutritiva e possui capacidade para vinte plantas. Cada tanque de solução nutritiva abastece quatro calhas. T1, T2, T3 e T4 representam soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.



Figura 11. Mudanças de *Mentha piperita* no período de aclimação (11 de outubro de 2004 e 17 de novembro de 2004) dentro da casa de vegetação. As setas brancas indicam as mudas com maior tamanho e as setas pretas as mudas com menor tamanho.

As plantas de hortelã foram padronizadas, pois, durante a formação das mudas no fitotron e durante a aclimação na casa de vegetação, ocorreu o crescimento desuniforme entre as mudas. Para eliminar esta fonte de variação, procedeu-se a poda das mudas, deixando-se apenas um caule com 10 centímetros de altura contendo 6 folhas maduras (Figura 12).

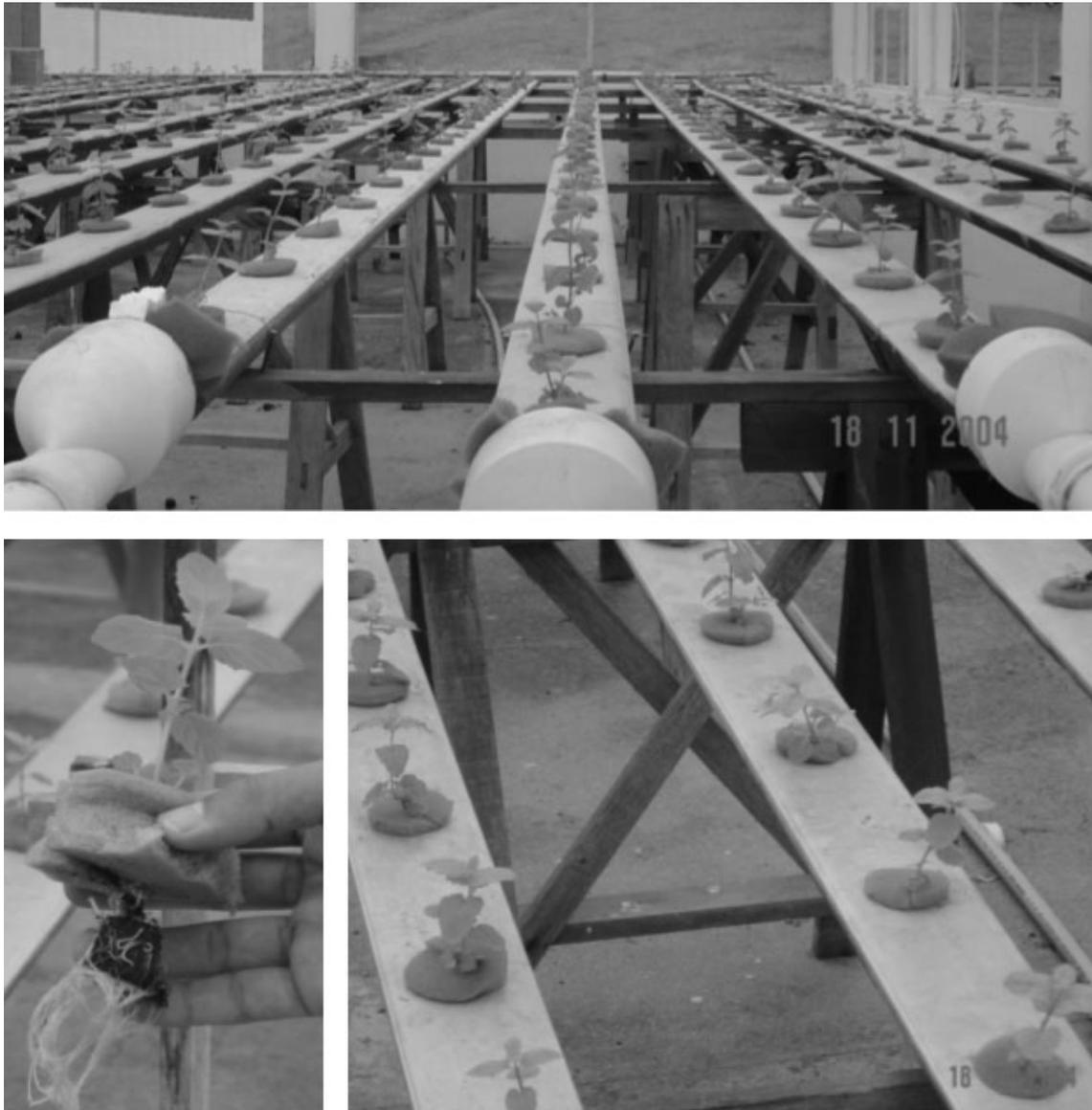


Figura 12. Mudas de *Mentha piperita* após a padronização no dia 16 de novembro (imagem obtida no dia 18 de novembro de 2004) dentro da casa de vegetação.

3.3. Sistema Hidropônico

O sistema hidropônico utilizado possui 16 canais com furos de 5 cm de diâmetro espaçados em 25 cm para a colocação das plantas, perfazendo um total de 20 furos por canal (Figura 10). Os 16 canais foram abastecidos por quatro tanques individualizados, de 100 litros de capacidade. Desta forma cada tanque abasteceu quatro canais, o que possibilitou a utilização de quatro tratamentos com soluções nutritivas diferentes.

Diariamente o pH da solução foi corrigido para 6,0 com KOH ou H₂SO₄, sendo que antes de cada correção de pH foram coletados 50 mL de solução nutritiva para as análises de N e P. (Figura 13)



Figura 13. Momento da medição do pH e da temperatura na solução nutritiva contida nos reservatórios. Após a medição o volume de água é ajustado e o pH corrigido para 6. O aparelho utilizado foi o pH Meter da WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, modelo 320.

O intervalo de irrigação foi definido, calibrando-se um “Timer”, em 10 minutos aberto e 10 minutos fechado, para a saída de solução nutritiva. O pH da solução foi corrigido diariamente e mantido em 6, e o volume dos tanques mantidos fixo em 100 litros (através de reposição diária).

3.4. Coleta de Dados

Dados como temperatura máxima e mínima dentro da casa de vegetação, volume de água consumido, volume de H_2SO_4 e KOH gasto para correção de pH, temperatura da solução nutritiva, foram anotados diariamente. A intensidade luminosa fotossinteticamente ativa foi medida duas vezes ao dia em três pontos diferentes dentro da casa de vegetação e em um ponto fora da casa de vegetação. As coletas das plantas de hortelã foram realizadas em intervalos, conforme descrito na tabela 3.

Para formar uma repetição coletaram-se cinco plantas da mesma calha. Foram anotados individualmente massa fresca de Caule, Folha, Estolão e Raiz, e depois as partes foram homogêneas separadamente para que se pudesse proceder à coleta de 1g de raiz, folha, estolão e caule (em duplicata) para análises vegetais de $N-NO_3^-$, $N-NH_4^+$, N-amino livre e açúcares solúveis. Juntamente com o material restante de estolão, raiz e caule, foram retirados 10g das folhas para análise de N-total e P. O restante do material que sobrou das folhas foram utilizados para verificação dos metabólitos especiais presentes, como óleos essenciais.

Tabela 3. Cronograma do experimento e das principais atividades realizadas.

Descrição	Data	N ° de dias
Período entre a semeadura e a formação das mudas no fitotron.	11/08/2004 a 11/10/2004	61
Período entre o transplântio para as calhas e a padronização das mudas na casa de vegetação.	11/10/2004 a 17/11/2004	38
Dia em que se realizou a poda de padronização das mudas.	16/11/2004	-
Início da aplicação dos tratamentos especificados na tabela 1.	17/11/2004	-
Período entre o início dos tratamentos e a 1ª coleta.	17/11/2004 a 16/12/2004	29 DAT
Período entre o início dos tratamentos e a 2ª coleta.	17/11/2004 a 05/01/2005	49 DAT
Período entre o início dos tratamentos e a 3ª coleta.	17/11/2004 a 20/01/2005	64 DAT
Final do experimento (3ª coleta).	20/01/2005	-
Período entre a semeadura e a última coleta.	11/08/2004 a 20/01/2005	163
Dia em que se realizaram as trocas de soluções nutritivas (tabela 1).	17/11/2004	-
	25/11/2004	-
	03/12/2004	-
	10/12/2004	-
	17/12/2004	-
	22/12/2004	-
	03/01/2005	-
	13/01/2005	-
	17/01/2005	-

DAT – Dias Após os Tratamentos serem aplicados.

3.4.1. Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial foi obtido das folhas por arraste a vapor d'água utilizando o aparelho de Clevenger, com modificações para adaptar o reservatório do material vegetal (Figura 14).

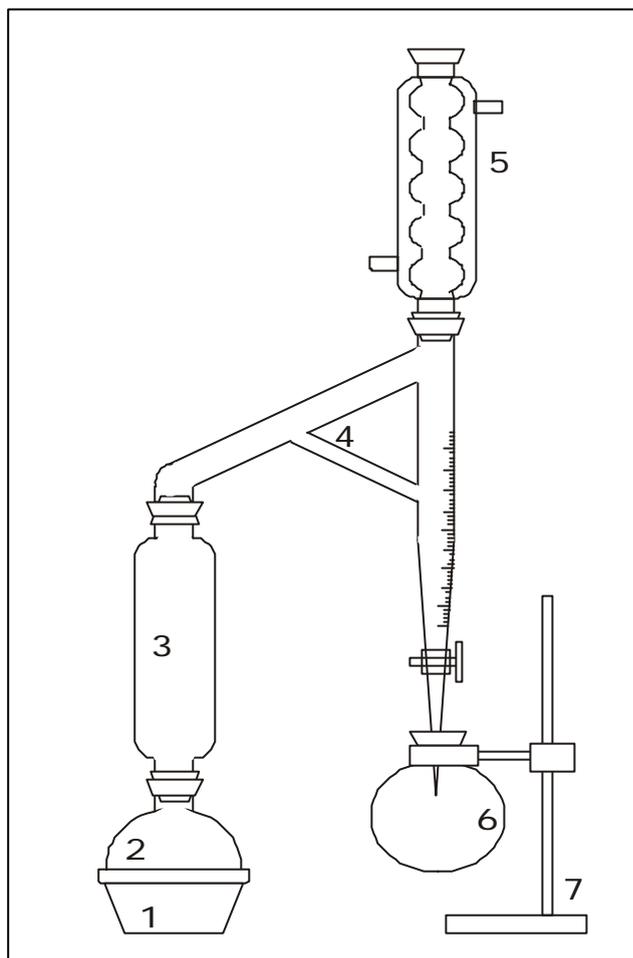


Figura 14. Aparelho de Clevenger. 1) manta aquecedora; 2) balão pirex de 2 litros; 3) reservatório para o material vegetal; 4) vidraria de clevenger; 5) condensador; 6) balão de fundo redondo de 250 mL e 7) suporte.

As folhas foram postas para secar previamente e sua massa foi anotada (conforme a quantidade de material disponível). O funcionamento do aparelho consistiu no aquecimento de água através de uma fonte de calor, o vapor gerado neste processo liberou o óleo essencial retido nas células ou nas glândulas da planta, o mesmo foi carregado pelo vapor até um condensador. Ao condensar foi levado pela água até um recipiente coletor. O tempo de arraste foi definido em 30 minutos após o início da condensação.

O material coletado, hidrolato, foi particionado por cinco vezes seguidas com 20 mL de diclorometano, armazenado em frascos de vidro protegidos da luz. O solvente foi eliminado por evaporação livre, sem a utilização de calor. O óleo essencial obtido (a partir da massa seca das folhas) foi pesado e armazenado em frascos âmbar a -30°C .

3.4.2. Análises laboratoriais

a) Extração com etanol 80% e análise das frações solúveis.

Para a extração hidroalcoólica bruta (1g de material vegetal coletado, acondicionado em frasco âmbar com etanol 80%) foram seguidos os seguintes passos: 1º) A amostra foi colocada com etanol no triturador; 2º) Homogeneizado e triturado por 3 min.; 3º) O material foi passado em 4 camadas de gaze e papel de filtro; 4º) Recolheu-se o filtrado; 5º) Transferiu-se para funil de separação; 6º) Adicionou-se ao funil o volume de clorofórmio igual ao da solução alcoólica; 7º) Fez-se uma suave agitação, deixando em seguida em repouso por 40 min., até completa separação da fase polar e apolar; 8º) Após o período de repouso a fase apolar foi descartada e a fase polar recolhida e seu volume completado até 25 mL com etanol 80%. O extrato foi armazenado na geladeira e utilizado para a determinação de açúcares solúveis segundo a metodologia de YEMM & WILLIS (1954); N-amino livre pelo método da ninidrina segundo metodologia de YEMM & COCKING (1955); N-amônio segundo metodologia colorimétrica de FELKER (1977); N-nitrato segundo a metodologia proposta por CATALDO et al. (1975).

b) Preparo e análises em material seco

As partes das plantas de hortelã, previamente separadas, foram identificadas e levadas para secar em estufa a 60°C, com circulação forçada de ar. O material seco foi triturado e homogeneizado, de onde foram retirados 0,200g para se realizar a digestão sulfúrica. O material digerido foi utilizado para a análise de N-total e fósforo, segundo a metodologia de TEDESCO (1982).

c) Análise do óleo essencial

Os óleos essenciais e os padrões analíticos: *a*-terpineol, *r*(-)-pulegona, (-)-*a*-pineno, *s*-limoneno, eucaliptol, hidrato de sabineno, (-)-mentona, (+)-neomentol, mentol, (+)-mentofurano, obtidos junto a Sigma-Aldrich do Brasil, foram diluídos em diclorometano e injetados em cromatógrafo em fase gasosa acoplado ao espectômetro de massa. Os constituintes extraídos foram submetidos a identificação por comparação com os padrões, as bibliotecas espectrais do aparelho (NIST), por comparação do tempo de retenção com os padrões injetados e através da análise do espectro de massa da literatura.

Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos em cromatógrafo em fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massa (CG-EM), modelo Saturn 2000 da Varian, utilizando sistema de "íon trap" e ionização por impacto de elétrons a 70eV. As análises no cromatógrafo em fase gasosa foram realizadas em coluna apolar metilsilicone (CP-SIL*CB; 30m x 0,25mm d.i. 0,25µm de espessura de filme), com temperatura de 75°C, mantidos por 4 minutos, com taxa de aquecimento de 4°C por minuto até 220°C, mantidos por 20 minutos. A temperatura do injetor foi de 250°C e velocidade de fluxo do gás de arraste (hélio) de 1,0 mL.min⁻¹. Para o detector de massa a temperatura foi de 220°C e a linha de transferência a 250°C.

3.5. Avaliação da Atividade Biológica do Óleo Essencial e Seus Componentes

3.5.1. Atividade sobre a germinação de sementes

Foram utilizadas nos ensaios de germinação, sementes comerciais de alface e tomate. As substâncias puras utilizadas nos ensaios foram adquiridas com os representantes da Sigma-Aldrich no Brasil.

No momento do ensaio os compostos puros foram pesados e diluídos em uma relação de 0,050g do composto em 10 mL de diclorometano, obtendo-se solução com concentração igual a 5,0 g.L⁻¹ e o óleo essencial de hortelã foi pesado e diluído em uma relação de 0,012g do óleo em 10 mL de diclorometano, obtendo-se uma concentração de 1,2 g.L⁻¹.

Os ensaios constituíram-se nos tratamentos com os compostos puros ou o óleo de hortelã e os controles positivos e negativos. Para o preparo dos tratamentos, as sementes foram imersas nas soluções preparadas, contendo os compostos puros ou o óleo de hortelã, em seguida aguardou-se a evaporação do solvente, depois, sobre as placas de Petri contendo papel de filtro adicionou-se 3,0mL de água destilada, por fim, as placas foram lacradas com filme plástico e acondicionadas no germinador com foto período de 12 horas sob luz do dia (aproximadamente 180 μmoles.cm⁻².s⁻¹) e com temperatura de 23°C(± 1°C). Os controles foram preparados de forma que as sementes submetidas apenas ao tratamento com diclorometano, formariam o controle negativo e as sementes sem nenhum tratamento formariam o controle positivo. No último dia do experimento, as placas foram escaneadas, foram feitas as contagens, os dados foram submetidos a análise de variância e as medias verificadas por teste de médias.

3.5.2. Atividade sobre o desenvolvimento de fungos em placas de Petri

Foi testado o desenvolvimento em meio nutritivo batata-dextrose-ágar (BDA) isolados de três fungos: *Fusarium oxysporium*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. As culturas puras dos fungos foram obtidas junto as micotecas dos setores de Fitopatologia das Universidades Federal Rural do Rio de Janeiro e Federal de Viçosa. As substâncias puras utilizadas nos ensaios foram adquiridas com os representantes da Sigma-Aldrich no Brasil.

As substâncias puras e o óleo essencial de hortelã foram misturados ao meio de cultura B.D.A. (preparado em pH 7), na relação de 0,050g do composto puro e do óleo essencial em 50 mL de BDA e vertidos em placas de Petri, mantendo-se uma concentração de 1,0g.L⁻¹.

Para que as substâncias puras e o óleo essencial fossem diluídos no meio BDA utilizou-se como veículo o dimetilsulfóxido (DMSO). Desse modo, os controles foram preparados de modo que os meios de culturas submetidos apenas ao tratamento com DMSO, formassem o controle negativo e os meios de cultura sem nenhum tratamento formassem o controle positivo.

Aos meios de culturas foram adicionados o antibiótico de largo espectro gentamicina. Após a solidificação do meio, foram repicados no centro das placas discos de 6 mm de diâmetro, retirados de placas que continham a cultura pura de cada fungo. O material foi colocado então, em câmara termostática, à temperatura constante de 24 °C (± 1°C).

As propriedades fúngicas das soluções teste foram monitoradas através da avaliação do desenvolvimento ou não do miscélio fúngico. O crescimento miscelial dos fungos (média do diâmetro das colônias nos dois sentidos ortogonais) nos vários tratamentos foi avaliado antes que o halo de crescimento alcançasse o diâmetro total das placas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Condições Ambientais Durante o Cultivo em Casa de Vegetação

O experimento foi conduzido entre novembro de 2004 janeiro de 2005, com forte incidência luminosa. Estes fatores contribuíram para o aumento da temperatura dentro da casa de vegetação. As médias das temperaturas máxima e mínima durante o período experimental foram de 37 e 22° C, respectivamente (Figura 15).

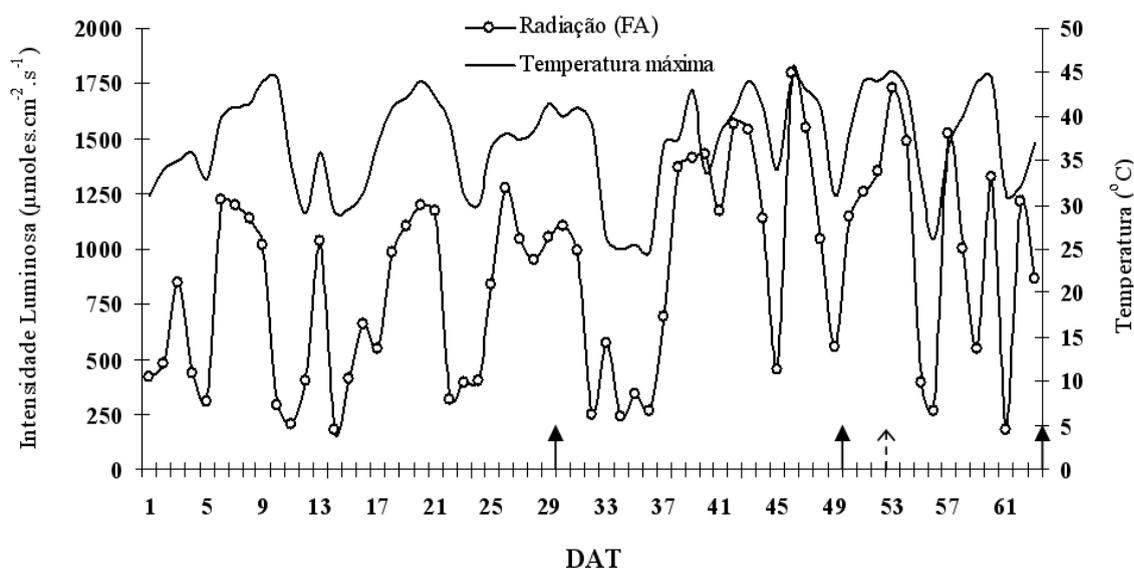


Figura 15. Temperatura máxima do dia e radiação fotossinteticamente ativa dentro da casa de vegetação, no período do experimento. Seta contínua: indica os dias de coleta. Seta pontilhada: indica o início da floração. O aparelho utilizado para medição da radiação (modelo: Basic Quantum Meter QMSW da Apogee Instruments Inc.) tem sensibilidade para comprimentos de ondas compreendidos entre 400 e 700 nm e sua capacidade de absorção vai de zero a 2000 $\mu\text{moles}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

A variação de temperatura máxima do dia teve um comportamento similar à variação da radiação, como pode ser observado na figura 15. A intensidade luminosa média dentro da casa de vegetação foi de 800 $\mu\text{moles}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Constatou-se forte influência da cobertura de polietileno da casa de vegetação na a radiação incidente, apresentando uma redução no interior da casa de vegetação de até 40% da intensidade fotossinteticamente ativa, em relação ao ambiente exterior exterior. As temperaturas da solução nutritiva nos tanques não apresentaram variações significativas entre os tratamentos (dados não apresentados).

4.2. Correção do Volume de Água dos Tanques e pH da Solução Nutritiva.

A demanda por água pelas plantas de hortelã em função dos seus respectivos tratamentos, foi diferente. Na Tabela 4, pode-se observar que os tratamentos 1 e 3 exigiram maiores quantidades de água se comparados com os demais tratamentos. Provavelmente o maior crescimento vegetativo, influenciado pelas maiores doses de N aumentou a evapotranspiração, nesses tratamentos.

Tabela 4. Reposição de água destilada, volume de ácido e de base para correção do pH das soluções nutritivas T1, T2, T3 e T4, durante o cultivo da hortelã.

*Trat.	Dose de N e P na solução (mg.L ⁻¹)		Reposição de Água (média diária)	Volume total de H ₂ SO ₄ (0,1N)	Volume total de KOH (0,1N)
	N-NO ₃ ⁻	P	----- L -----	----- mL -----	
T1	120	16	26,0 a	1.501,0	292,0
T2	60	16	19,5 b	1.127,1	383,0
T3	120	4	23,0 a	1.305,0	192,0
T4	60	4	18,0 c	1.023,7	428,8

*Tratamento. **Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Os volumes de ácido e base necessários para o controle de pH da solução também sofreram influência dos tratamentos, embora os resultados não tenham sido analisados estatisticamente. Os tratamentos 1 e 3, principalmente o primeiro, exigiram maiores quantidades de ácido e menores quantidades de base, enquanto que os tratamentos 2 e 4 tiveram um comportamento contrário (Tabela 4). Nos primeiros dias, após a troca da solução nutritiva, a necessidade de ácido para a correção do pH era maior que no final da solução nutritiva (Figura 16).

Observou-se no transcorrer do experimento a ocorrência de uma relação negativa entre o pH da solução nutritiva e a idade da planta (Figura 16 A). Com o crescimento há demanda crescente por nutrientes, e esta demanda implica no esgotamento mais acelerado dos nutrientes presentes na solução nutritiva e conseqüentemente, na necessidade maior, por parte da planta, em realizar a extrusão de prótons, que pode ser uma resposta ao desbalanço iônico provocado pela absorção de excesso de cátions (principalmente K⁺), e que também favorece a absorção de N e P (BUCHER et al, 2004).

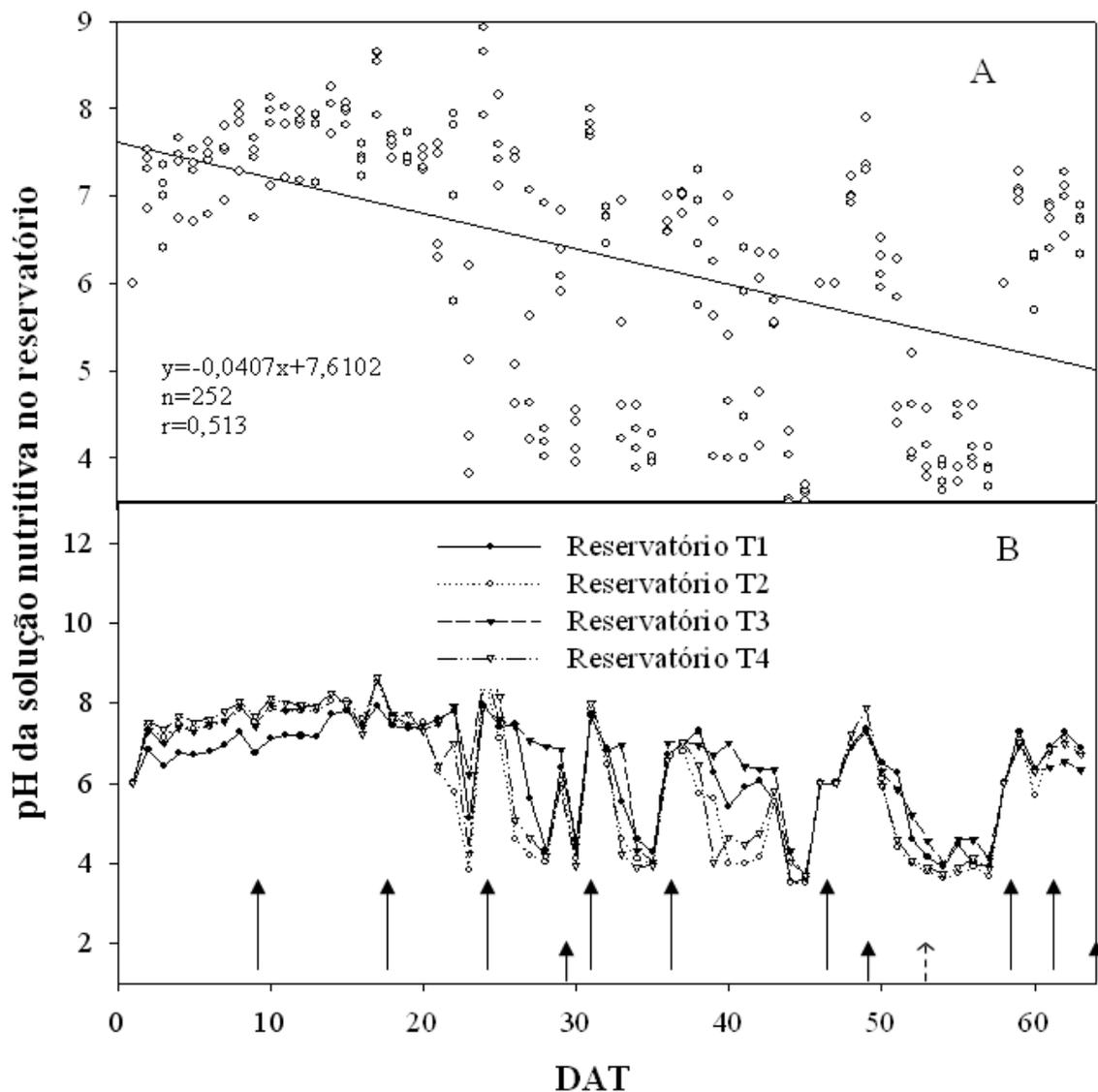


Figura 16. Regressão linear dos valores de pH em relação à idade da planta, com 1% de significância (A) e valor de pH das soluções nutritivas nos diferentes tanques no decorrer do experimento (B). Setas longas: indicam os dias de troca da solução nutritiva. Setas curtas: indicam os dias de coleta. Seta pontilhada: indica o início da floração.

4.3. Produção de Biomassa

As plantas de hortelã apresentaram crescimento contínuo, com ganho de massa progressivo, aos 29 dias DAT as plantas apresentaram 511,0g de massa fresca e 62,2g de massa seca (g/5 plantas), aos 49 DAT este valor dobrou e aos 64 DAT o ganho de massa fresca e seca foi três vezes superior à primeira coleta (29 DAT). Este comportamento comprova que a hortelã apresenta características de planta perene, com tendências ao ganho de peso mesmo após a floração, que ocorreu entre a segunda e a terceira coleta (Tabela 5).

Tabela 5. Massa fresca total de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- Massa fresca (g/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	554,1 aC	1.572,1 aB	2.012,8 aA	1.379,7 a
T2	60	16	456,8 bC	1.119,6 cB	1.343,9 cA	973,4 c
T3	120	4	575,4 aC	1.245,0 bB	1.652,2 bA	1.157,5 b
T4	60	4	457,7 bC	1.004,2 cB	1.355,3 cA	939,1 c
Média			511,0 C	1235,2 B	1591,1 A	1.112,4

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Fisher LSD a 5% de probabilidade.

O período de crescimento ideal para coleta das plantas de hortelã varia conforme seu destino, podendo ser para o consumo das folhas *in natura* ou para produção de óleos essenciais. Neste trabalho, os resultados apontam para a possibilidade da colheita ser realizada a partir dos 29 dias de cultivo hidropônico.

Contudo, para o cultivo tradicional, GONZAGA & RODRIGUES (2006) recomendam a primeira coleta das plantas de hortelã por volta dos 120 dias de idade, Indicação semelhante feita por SACRAMENTO & OCAMPOS (2002) ao constatarem que a melhor época para colheita se dá aos 135 dias após o plantio, quando as plantas de hortelã alcançaram o ponto máximo de produção de matéria seca. Ao contrário, CZEPAK (1998) recomenda que as colheitas sejam realizadas, mais cedo, entre 60 e 70 dias, pois, neste caso seu interesse foi a produção de mentol cristalizável no óleo essencial.

Estes resultados comprovam que o cultivo hidropônico favorece as plantas um desenvolvimento mais rápido proporcionando ganho de tempo e maior produção de massa, como foi observado por OCAMPOS et al. (2003) que constatou que a planta de hortelã apresentou maior produção de biomassa e rendimento de óleo se comparado a outros sistemas de cultivo e MAIA (1999) ao obter uma produção três vezes maior que o cultivo tradicional da planta de hortelã.

Resultados semelhantes foram encontrados por FERNANDES et al. (2004) que detectaram aumento superior a 40 % na produção de massa fresca de plantas de manjerição cultivadas em hidroponia. JUNIOR et al. (2004) concluíram que os melhores resultados de produção de manjerição foram obtidos no cultivo hidropônico, quando comparados ao cultivo tradicional.

Houve interação entre as doses de N e P das diferentes soluções na produção de biomassa, nas três coletas realizadas. Ficou constatado que os tratamentos proporcionaram as plantas de hortelã crescimento diferenciado, sendo o maior ganho de massa influenciado pelo tratamento 1, que corresponde ao tratamento com maior dose de N e P (Tabelas 5 e 6), seguido pelo tratamento 3 com maior dose de N e menor de P (Tabela 5). Estes resultados demonstram claramente a influência positiva do N no desenvolvimento vegetativo da hortelã.

Tabela 6. Massa seca total de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- ¹ Massa seca (g/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	64,1 abC	227,3 aB	307,4 aA	199,6 a
T2	60	16	53,5 bC	164,5 bB	218,3 bA	145,4 c
T3	120	4	71,7 aC	157,1 bB	223,6 bA	150,8 b
T4	60	4	59,8 bC	145,5 bB	207,6 bA	137,6 c
Média			62,2 C	173,6 B	239,2 A	158,4

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Resultados semelhantes foram encontrados por OLIVEIRA et al. (2003) ao relatarem que houve aumento linear na produção de massa verde, na cultura do coentro, em função do aumento nas doses de N aplicado. Relatos de ABREU et al. (2002), ao trabalharem com plantas de insulina, mostraram que as mesmas responderam positivamente aos acréscimos de N, para a produção de biomassa. Estes autores constataram também efeito interativo entre doses de N e P, que acarretaram nas maiores doses valores maiores de produção de matéria seca foliar.

A maior produção encontrada aos 29 DAT ocorreu nas condições dos tratamentos 1 e 3 e aos 49 e 64 DAT no tratamento 1. O que demonstra um efeito interativo entre as maiores doses de N e P sobre a produção de biomassa, apartir dos 49 DAT (Tabela 5 e 6).

Ao comparar os efeitos das doses de N e P, observou-se que o P atuou limitando a produção de biomassa da parte aérea nos tratamentos 3 e 4 (com menores doses de P) e ao mesmo tempo estimulou o aumento de biomassa nas raízes, como pode ser observado nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Massa Fresca de raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- Massa fresca aos 29 DAT (g/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	172,2 b	90,1 b	137,6 a	154,3 a
T2	60	16	178,2 b	76,4 bc	88,5 b	113,7 b
T3	120	4	196,2a	115,4 a	126,0 a	137,9 a
T4	60	4	197,5a	72,8 c	84,3 b	103,1 b
Média			186,0 A	88,6 B	109,1 B	127,2 A
----- Massa fresca aos 49 DAT (g/5 plantas) -----						
T1	120	16	407,4 a	331,1 a	359,3 a	474,3 a
T2	60	16	402,6 a	243,0 b	175,8 bc	298,2 b
T3	120	4	460,9 a	226,2 b	245,9 b	311,9 b
T4	60	4	319,6 b	258,8 b	163,8 c	262,0 b
Média			397,6 A	264,8 B	236,6 C	336,6 AB
----- Massa fresca aos 64 DAT (g/5 plantas) -----						
T1	120	16	567,3 b	379,1 a	439,9 a	626,5 a
T2	60	16	439,5 c	300,3 b	234,2 c	369,9 b
T3	120	4	620,4 a	304,6 b	352,8 b	374,3 b
T4	60	4	532,9 b	325,3 b	197,6 c	299,5 c
Média			540,0 A	327,4 C	306,1 C	417,6 B

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Resultados semelhantes foram encontrados por RODRIGUES et al (2004) que observaram maior produção de massa na parte aérea, em função dos maiores níveis de P na solução nutritiva. Em contra partida não observaram aumento na produção de massa nas raízes, quando cultivadas nas soluções nutritivas com menores doses de P.

O fato observado está associado à mobilidade do P na planta. Como o deslocamento do P na planta ocorre via simplasto, ao contrário do N e do K que ocorrem tanto via simplasto como apoplasto, há um desbalanço entre os níveis de N e P na parte aérea. Dessa forma, os menores teores de P prejudica o crescimento da parte aérea, enquanto que na raiz, sua presença atua de forma positiva para o ganho de massa.

Como o desenvolvimento da parte aérea é fundamental para a captação de energia luminosa e sabendo-se que a raiz atua como um dreno na planta, observa-se nas tabelas 7 e 8 que os tratamentos onde houve maior ganho de massa na parte aérea (tratamento 1), proporcionaram efetivamente maior produção total de massa aos 49 e 64 DAT (Tabela 6).

Tabela 8. Massa seca de raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- Massa seca aos 29 DAT (g/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	8,5 b	10,3 b	18,1 a	27,2 a
T2	60	16	10,5 b	9,0 b	13,1 b	20,8 b
T3	120	4	10,7 b	13,9 a	17,1 a	29,9 a
T4	60	4	13,0 a	9,4 b	13,7 b	23,6 b
Média			10,7 C	10,7 C	15,5 B	25,4 A
----- Massa seca aos 49 DAT (g/5 plantas) -----						
T1	120	16	23,6 b	42,3 a	70,5 a	90,9 a
T2	60	16	24,6 a	34,5 b	39,9 c	65,5 b
T3	120	4	26,7 a	26,1 c	46,4 b	57,9 c
T4	60	4	21,6 b	37,2 b	36,1 d	50,6 d
Média			24,1 D	35,1 C	48,2 B	66,2 A
----- Massa seca aos 64 DAT (g/5 plantas) -----						
T1	120	16	30,5 b	50,1 a	103,8 a	122,9 a
T2	60	16	29,5 b	46,3 b	61,3 c	81,2 b
T3	120	4	37,7 a	38,2 c	74,0 b	73,8 c
T4	60	4	37,8 a	56,1 a	47,9 d	65,8 d
Média			33,9 D	47,7 C	71,8 B	85,9 A

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

4.4. Produção e Rendimento de Óleo Essencial

DRAGAR & MENARY (1995) observaram diminuição no rendimento de óleo essencial em *Olearia phlogopappa* em baixos níveis de fósforo. Em contrapartida, outros autores (KOTHARI et al., 1987; PRASZNA & BERNÁTH, 1993) observaram menores concentrações de óleo essencial em plantas de hortelã cultivada em altos níveis de P.

Os tratamentos 2 e 4, com menores doses de N, apresentaram maiores rendimentos de óleo essencial e produção de óleo essencial, contudo, detectou-se efeito interativo com as épocas de coleta e os tratamentos. Entre as coletas (29, 49 e 64 DAT) não foram observadas diferenças nas produções (gramas por 5 plantas) de óleo essencial (Tabela 9).

Esperava-se que com o aumento da produção de massa na parte aérea houvesse maior produção de óleo nas plantas, entretanto, como o rendimento ao longo das três coletas diminuiu de 1,47 % aos 29 DAT para 0,48% aos 64 DAT, constatou-se a permanência da produção do óleo essencial entorno de 0,39 g/5 plantas (Tabela 9).

Tabela 9. Rendimento e produção de óleo essencial em folhas de plantas de Hortelã cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, avaliados em três coletas (ao 29, 49 e 64 DAT).

Trat.	* Dose		**Rendimento (%)				*** Produção (g/5 plantas)			
			DAT				DAT			
	NO ₃ ⁻	P	29	49	64	Média	29	49	64	Média
T1	120	16	1,09 bA	0,51 bB	0,32 bC	0,64 b	0,25 bB	0,46 aA	0,39 aB	0,37 b
T2	60	16	1,89 aA	0,65 abB	0,52 abC	1,02 a	0,46 aA	0,43aA	0,42 aA	0,44 a
T3	120	4	1,05 bA	0,51 bB	0,45 abC	0,67 b	0,30 bA	0,29 bA	0,33 aA	0,31 b
T4	60	4	1,87 aA	0,75 aB	0,63 aC	1,08 a	0,56 aA	0,38 aB	0,39 aB	0,44 a
Média			1,47 A	0,60 B	0,48 C	0,85	0,39 A	0,39 A	0,38 A	0,39

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. ** Percentual calculado sobre o peso seco de folhas. *** Produção calculada sobre o peso seco de folhas de 5 plantas. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Aos 29 DAT, as plantas com maiores doses de N (tratamento 1 e 3) apresentaram menor rendimento de óleo. Este comportamento se manteve com pequenas variações aos 49 DAT (Tabela 9). Não foram observadas diferenças significativas das doses de P sobre o rendimento de óleo essencial; isto pode ser constatado comparando os tratamentos 1 e 3 e os tratamentos 2 e 4. Todavia, resultados encontrados por RODRIGUES et al. (2004) mostraram que aos 90 dias de cultivo hidropônico houve resposta quadrática às concentrações de P e, aos 60 dias, não houve efeito do P para a produção de óleo essencial.

Mesmo não sendo significativo, pode-se observar entre os tratamentos 2 e 4, aos 49 dias, e entre os tratamentos 1 e 3, aos 64 dias um pequeno aumento no rendimento do óleo essencial de aproximadamente 0,10%. Aos 64 dias, observa-se que há diferença estatística apenas entre os tratamentos 1 e 4, o que sugere um efeito sinérgico das maiores doses de N e P na diminuição no rendimento de óleo (Tabela 9).

Neste trabalho, ao longo das três coletas houve uma diminuição significativa no rendimento do óleo mostrando que aos 29 dias é a melhor época de colheita neste sistema, pois, os gastos com manutenção dos equipamentos, insumos e mão de obra, são fatores que oneram os custos de produção.

O rendimento do óleo mostrou-se indiretamente relacionado com a produção de massa seca (Figura 17), isto provavelmente ocorre pelo fato do vegetal produzir maior número de tricomas glandulares na planta ainda jovem, decrescendo no período de floração e novamente aumentando após este período, conforme relatos de diversos autores (TURNER et al., 2000; MCCONKEY et al., 2000; MARTINS, 2002).

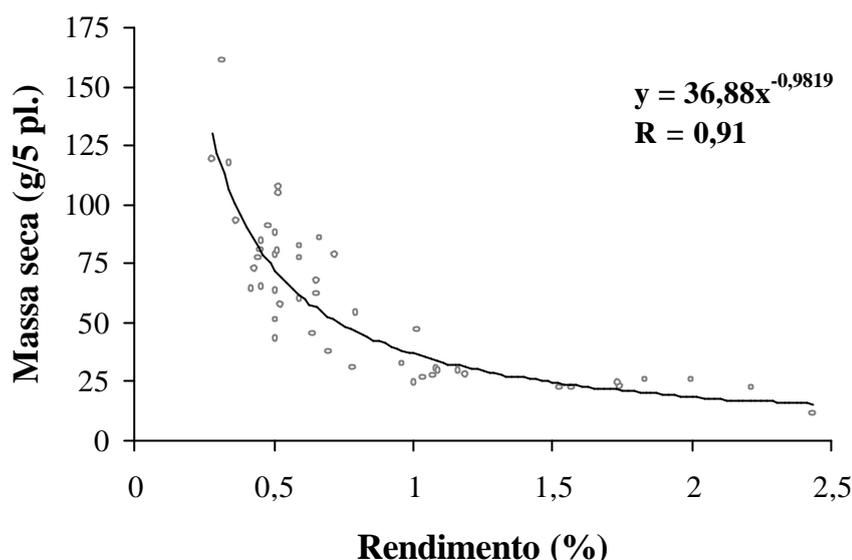


Figura 17. Relação entre o rendimento de óleo essencial e a produção de massa seca (g/5 plantas). Dados obtidos durante as três coletas nos quatro tratamentos em que as plantas de *Mentha piperita* (hortelã) foram submetidas.

4.5. Biomassa x Rendimento e Produção de Óleo Essencial

Tanto o N quanto o P têm importância sobre o crescimento vegetativo da planta, pois estão diretamente relacionados a diversos eventos metabólicos ou fazendo parte de estruturas químicas na planta, por isso, a disponibilidade desses nutrientes em condições de serem absorvidos e assimilados promovem o crescimento adequado da planta. Contudo observa-se que o tratamento 1, com maiores doses de N e P, embora tenha proporcionado melhor desenvolvimento vegetativo da parte aérea (Tabela 7 e 8), não foi o que proporcionou maior rendimento de óleo essencial (Tabela 9).

A ativação das vias metabólicas especiais pode estar relacionada com diferentes fatores externos, a disponibilidade de nutrientes é uma delas. Como no início do crescimento a disputa pelo nutriente é menor, provavelmente, com o crescimento da planta, o conteúdo de N e P passou a ser motivo de competição entre as plantas o que levou a diminuição no rendimento de óleo ao longo das coletas (Tabela 9).

Além disto, um fator não nutricional, pode estar associado à diminuição do rendimento de óleo essencial ao longo do experimento, como: a maturação das folhas e as condições ambientais.

Segundo MARTINS (2002) há uma diminuição na produção de tricomas glandulares em consequência da maturação das folhas e isto seria responsável pela diminuição na produção de óleos voláteis. Além disso, segundo MCCONKEY et al. (2000) e TURNER et al. (2000) após a produção dos tricomas glandulares, são necessários apenas 30 horas para o completo enchimento do compartimento de armazenamento das glândulas com óleo essencial. A partir desse momento, as condições ambientais, como ventos, radiação solar e temperatura, poderiam favorecer o extravasamento desse material estocado.

Os resultados encontrados são de grande importância comercial, porque indicam uma estratégia de adubação. Este tipo de estratégia depende da finalidade da produção, ela pode ser para o consumo *in natura* ou para fins industriais, como a obtenção de óleo essencial.

Deste modo, se o objetivo é atender o setor de alimentos *in natura* é interessante para o produtor produzir maior quantidade de massa fresca, sem contudo, perder o sabor e o aroma

conferidos pelos óleos voláteis presentes na planta, neste caso, a indicação seria a solução nutritiva proposta no tratamento 1, sendo a coleta realizada aos 64 DAT, ou condições de cultivo que favoreçam o crescimento vegetativo da parte aérea, num menor tempo.

Ao contrário, se o objetivo for extrair óleos essenciais deve-se atentar para problemas de logística (equipamentos e armazenagem) mão-de-obra (maior volume de trabalho) e energia (para realizar todo o trabalho de coleta, transporte e produção de calor para a extração do óleo). Tornando-se, assim, mais interessante ao produtor de óleos essenciais um menor volume de planta, neste caso, a indicação é cultivar na solução nutritiva do tratamento 4, com coleta aos 29 DAT, ou gerar condições de cultivo em campo que favoreçam o desenvolvimento de plantas de hortelã com maior rendimento de óleo, num menor tempo e com menor geração de biomassa.

4.6. Frações Solúveis

4.6.1. N-nitrato

Os resultados apresentados mostram que as plantas de hortelã submetidas ao tratamento 3 obtiveram os maiores conteúdos de nitrato (82.353,4 $\mu\text{moles}/5$ plantas); entre as coletas, observou-se maiores conteúdos aos 64 DAT (Tabela 10).

Tabela 10. Conteúdo total de N-nitrato ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em plantas de *Mentha piperita* (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- N-NO ₃ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	24.123,6 bC	67.191,2 bB	103.384,6 aA	64.899,8 b
T2	60	16	11.480,5 cC	36.223,2 cB	53.400,7 bA	33.701,5 c
T3	120	4	39.483,2 aC	96.692,7 aB	110.884,4 aA	82.353,4 a
T4	60	4	13.907,0 cC	33.427,3 cB	53.681,6 bA	33.672,0 c
Média			22.248,6 C	58.383,6 B	80.337,8 A	53.656,7

* mg. L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Considerando as partes da planta, o local preferencial de acúmulo foi o caule quando esse órgão foi coletado aos 29 DAT, passando para a folha ao 49 DAT e para as folhas e raízes aos 64 DAT, sendo que as plantas cultivadas no tratamento 3 acumularam nitrato principalmente no caule e nas raízes (Tabela 11).

Ao observar os teores de nitrato ($\mu\text{moles. g}^{-1}.\text{m.f}$) na Tabela 11, verificou-se que os maiores teores são encontrados nas plantas submetidas ao tratamento 3 aos 29 e 49 DAT e nos tratamentos 1 e 3 aos 64 DAT. Nas duas primeiras coletas os teores mais altos ocorrem sob influência do tratamento com 120 mg.L^{-1} de N e 4 mg.L^{-1} de P. Estes resultados apontam para a possibilidade das plantas de hortelã acumularem nitrato em resposta a deficiência de P. Uma resposta fisiológica para isso, seria o fato da deficiência de P, na solução nutritiva, aumentar a extrusão de prótons para otimizar a absorção de P, conseqüentemente favorecendo também a absorção de N.

Tabela 11. Conteúdo total de N-nitrato ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-NO ₃ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	3.263,8 b	3.993,1 b	12.909,4 b	3.957,3 b
T2	60	16	1.798,6 c	2.487,6 c	4.967,6 d	2.226,6 c
T3	120	4	11.257,3 a	5.719,6 a	16.776,1 a	5.730,2 a
T4	60	4	2.584,0 c	2.141,0 c	7.824,0 c	1.358,0 c
Média			4.725,9 B	3.585,3 B	10.619,3 A	3.318,0 B
----- N-NO ₃ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	16.738,4 b	15.254,0 a	12.497,9 b	22.700,9 a
T2	60	16	7.723,1 c	11.072,8 c	4.795,2 c	12.632,1 b
T3	120	4	31.615,0 a	12.741,3 b	31.451,9 a	20.884,5 a
T4	60	4	6.111,9 c	9.576,4 c	5.845,5 c	11.893,5 b
Média			15.547,1 A	12.161,1 B	13.647,6 B	17.027,8 A
----- N-NO ₃ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	26.166,3 b	17.500,2 a	18.141,0 b	41.577,2 a
T2	60	16	14.251,1 d	11.831,1 b	6.588,1 c	20.730,5 c
T3	120	4	37.250,7 a	18.362,8 a	29.097,4 a	26.173,6 b
T4	60	4	18.893,6 c	10.491,9 b	7.544,1 c	16.751,9 d
Média			24.140,4 A	14.546,5 B	15.342,6 B	26.308,3 A

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Pode-se observar do mesmo modo, porém com menor intensidade que o ocorrido nas plantas sob o tratamento 3, que o tratamento 1 também proporcionou as plantas de hortelã maiores conteúdos de nitrato que os demais tratamentos, provavelmente em função do maior nível de nitrato na solução nutritiva. As plantas de hortelã sob o tratamento 4 foram as que apresentaram menores conteúdos de nitrato nas raízes, estolão, caule e folha (Tabela 11).

Os teores de N-nitrato encontrados nas diferentes partes da planta indicam que aos 29 DAT o local preferencial de acúmulo é o caule, aos 49 DAT o acúmulo se dá no caule e a nas folhas, passando progressivamente para as folhas aos 64 DAT, como pode ser observado na Tabela 12.

Tabela 12. Teor de N-nitrato ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-NO ₃ ⁻ ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	19,2 b	42,7 b	94,3 b	25,7 b
T2	60	16	10,2 c	31,5c	55,1 c	19,6 c
T3	120	4	57,0 a	50,3 a	134,6 a	41,6 a
T4	60	4	13,1 c	29,4 c	92,8 b	13,3 c
Média			24,9 B	38,5 B	94,2 A	25,0 B
----- N-NO ₃ ⁻ ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	39,6 b	46,6 b	34,2 b	48,9 b
T2	60	16	19,3 c	46,0 b	27,4 c	42,5 b
T3	120	4	68,1 a	56,2 a	124,6 a	66,1 a
T4	60	4	19,1 c	37,0 c	36,5 b	44,5 b
Média			36,5 C	46,4 B	55,7 A	50,5 A
----- N-NO ₃ ⁻ ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	45,6 b	44,9 b	40,7 b	66,7 a
T2	60	16	32,0 c	39,2 b	28,4 c	56,2 b
T3	120	4	60,7 a	61,0 a	82,8 a	70,0 a
T4	60	4	34,0 c	31,1 c	37,4 b	54,4 b
Média			43,1 C	44,0 BC	47,3 B	61,8 A

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Resultados semelhantes foram encontrados por COMETTI (2003) no cultivo da alface. Este autor encontrou maiores teores de nitrato nos caules e relatou que esses acontecimentos podem estar relacionados com uma estratégia evolutiva da planta para impedir excesso de nitrato nas folhas.

Todavia, neste trabalho, o caule estaria atuando como reservatório do nitrato tornando-se gradativamente disponível para as folhas. Esta flutuação nos valores de nitrato, do caule para as folhas, pode sugerir que está ocorrendo um aumento na demanda desse nutriente nas vias de assimilação de nitrogênio, em função do crescimento da planta.

4.6.2. N-amônio

O tratamento que proporcionou o maior conteúdo de N-amônio nas plantas de hortelã foi o T1 seguido pelo T3, ambos com as maiores doses de N na solução nutritiva. Nota-se que estas variações se devem principalmente pelos conteúdos de amônio no estolão e no caule, pois, nas outras partes da planta houve pouca variação em função dos tratamentos (Tabelas 13 e 14).

Observou-se que há um aumento progressivo nos conteúdos de amônio nas plantas de hortelã, ao longo das três coletas, exceto no caule que se mantém estável e nas folhas que aos 49 e 64 DAT não apresentaram conteúdos de amônio em níveis detectáveis. A parte da

planta onde se encontrou maior conteúdo de amônio foi o estolão e o caule aos 29 DAT e apenas no estolão aos 49 e 64 DAT (Tabela 13 e 14).

Tabela 13. Conteúdo total de N-amônio ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em plantas de *Mentha piperita* (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- N-NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	727,7 aB	967,6 aA	961,1 aA	885,5 a
T2	60	16	483,4 bA	526,8 cA	500,9 bA	503,7 c
T3	120	4	579,0 bC	694,6 bB	986,7 aA	753,4 b
T4	60	4	290,2 cB	560,7 cA	543,6 bA	464,8 c
Média			520,1 C	687,4 B	748,1 A	651,9

* mg. L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Tabela 14. Conteúdo total de N-amônio ($\mu\text{moles}/5$ plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	118,5 a	230,6 a	286,2 a	92,5 a
T2	60	16	127,7 a	110,1 b	212,0 a	33,8 a
T3	120	4	90,4 a	223,3 a	226,7 a	38,7 a
T4	60	4	65,1 a	105,2 b	98,1 a	21,9 a
Média			100,4 AB	167,3 A	205,7 A	46,7 B
----- N-NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	0,0 a	663,6 a	304,0 a	0,0 a
T2	60	16	0,0 a	471,8 b	55,0 b	0,0 a
T3	120	4	0,0 a	420,2 b	274,4 a	0,0 a
T4	60	4	0,0 a	478,0 b	82,7 b	0,0 a
Média			0,0 C	508,4 A	179,0 B	0,0 C
----- N-NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles}/5$ plantas) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	310,5 a	412,1 ab	238,5 a	0,0 a
T2	60	16	178,7 bc	238,7 c	83,5 b	0,0 a
T3	120	4	229,4 ab	429,0 a	328,3 a	0,0 a
T4	60	4	118,5 c	305,3 bc	119,7 b	0,0 a
Média			209,3 B	346,3 A	192,5 B	0,0 C

* mg. L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Observa-se na Tabela 15 que há uma tendência dos teores de amônio, principalmente no caule, serem maiores no início do crescimento e irem diminuindo com o desenvolvimento da planta, ao contrario do ocorrido com os valores de conteúdo de amônio (Tabela 13). Foi observada diferença significativa nos valores médios de N-amônio, submetidos aos tratamentos dentro de cada coleta, pode-se constatar uma ligeira elevação dos teores de N-amônio nas plantas submetidas aos tratamentos 1 aos 29, 49 e 64 DAT e no tratamento 3 aos 64 DAT, estes com maiores doses de N.

Os resultados obtidos mostraram que ocorreu aumento no teor de amônio ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f}$) nas plantas de hortelã, no estolão e no caule aos 29 DAT e no estolão aos 49 e 64 DAT. Não foram encontrados conteúdos de amônio nas folhas aos 49 e 64 DAT e nas raízes aos 49 DAT. Em todas as partes da planta observou-se diminuição nos teores de amônio, principalmente nos caules e nas folhas (Tabela 15).

Os teores de amônio encontrados neste trabalho estão dentro da faixa de valores encontrados em outros trabalhos (FERNANDES, 1990; COMETTI, 2003; BORGES, 2004) e são considerados normais, indicando a atuação sincronizada das enzimas envolvidas nas vias de assimilação de N.

Tabela 15 . Teor de N-amônio ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f}$) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	0,7 ab	2,4 a	2,1 ab	0,6 a
T2	60	16	0,8 a	1,5 c	2,3 a	0,3 a
T3	120	4	0,5 ab	1,9 bc	1,8 b	0,3 a
T4	60	4	0,3 b	1,4 d	1,2 c	0,2 a
Média			0,6 B	1,8 A	1,8 A	0,3 B
----- NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f}$) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	0,0 a	2,0 a	0,8 ab	0,0 a
T2	60	16	0,0 a	1,9 a	0,3 c	0,0 a
T3	120	4	0,0 a	1,8 a	1,1 a	0,0 a
T4	60	4	0,0 a	1,8 a	0,5 bc	0,0 a
Média			0,0 C	1,9 A	0,7 B	0,0 C
----- NH ₄ ⁺ ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f}$) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	0,6 a	1,0 b	0,5	0,0 a
T2	60	16	0,4 a	0,8 b	0,3	0,0 a
T3	120	4	0,4 a	1,4 a	1,0	0,0 a
T4	60	4	0,2 a	0,9 b	0,5	0,0 a
Média			0,4 B	1,0 A	0,6 B	0,0 C

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

4.6.3. N-amino

As plantas de hortelã submetidas ao tratamento 1 apresentaram os maiores conteúdos de N-amino (mmoles/5 plantas) seguido pelo tratamento 3, ambos com 120 mg.L⁻¹ de N na solução nutritiva. Entre a primeira e a segunda coleta houve um aumento no conteúdo de N-amino, quase o dobro, mantendo-se estável até a terceira coleta (Tabela 16).

Na tabela 17 pode-se observar que o efeito dos tratamentos 1 e 3 sobre os conteúdos de N-amino nas plantas são muito parecidos em todas as coletas, exceto nas raízes (aos 29 e 49 DAT) e no caule (aos 49 e 46 DAT). Em todas as partes da planta há um aumento nos conteúdos de N-amino da primeira para a segunda coleta, seguido de um suave declínio. Os maiores conteúdos de N-amino são encontrados aos 29 DAT e 64 DAT nas folhas, aos 49 DAT nos estolões.

Verificou-se que as plantas de hortelã apresentaram maiores teores de N-amino (mmoles.g⁻¹.m.f) aos 29 DAT, e estes valores diminuem até a última coleta, em todas as partes da planta (Tabela 18). A diminuição no teor de N-amino pode estar associada à biossíntese de proteínas nas plantas. Pois, observou-se que há um declínio nos níveis de N-amônio com a idade da planta (Tabela 13), associado a uma diminuição nos teores de açúcares solúveis na parte aérea das plantas, com a idade (Tabela 21).

Tabela 16. Conteúdo total de N-amino (mmoles/5 plantas) em plantas de *Mentha piperita* (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- mmoles de N-amino/5 plantas -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	31,91 aB	60,83 aA	58,35 aA	50,36 a
T2	60	16	16,34 cB	36,73 cA	34,02 cA	29,03 c
T3	120	4	26,85 bB	49,05 bA	44,10 bA	40,00 b
T4	60	4	14,64 cB	32,34 dA	32,90 cA	26,63 c
Média			22,43 B	44,74 A	42,34 A	36,50

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Resultados semelhantes foram encontrados por SOUZA (1995), que observou uma redução nos teores de açúcares solúveis nas plantas de arroz com altos teores de N-amino e FERNANDES (1990) observou uma relação negativa entre os teores N-amino e açúcares solúveis em plantas de arroz.

Provavelmente, a planta de hortelã está utilizando a energia disponível para efetuar a assimilação de N e a biossíntese de proteínas. Entretanto, se esperava uma redução dos teores de nitrato, com a idade da planta, o que não foi observado, apenas constatou-se uma flutuação nos teores de nitrato, passando do caule para as folhas (Tabela 12).

SOUZA (1995) e FERNANDES (1991) observaram que os tratamentos com maiores doses de N proporcionam maiores teores de N-amino nas folhas de arroz, COMETTI (2003) relatou que os níveis de N-amino alto podem indicar que a planta esteja sob algum tipo de estresse e BORGES (2004) obteve teores entre 15 e 20 µmoles.g⁻¹.m.f. de N-amino, na parte aérea de plantas de milho.

Tabela 17. Conteúdo total de N-amino (mmoles/5 plantas) em plantas de raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-amino (mmoles/5 plantas) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	3,58 a	7,55 a	6,05 a	14,73 a
T2	60	16	3,08 a	3,70 b	2,95 b	6,61 c
T3	120	4	3,26 a	6,29 a	4,79 a	12,51 b
T4	60	4	3,01 a	3,77 b	2,42 b	5,45 c
Média			3,23 C	5,33 B	4,05 BC	9,82 A
----- N-amino (mmoles/5 plantas) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	8,94 a	19,00 a	13,46 a	19,43 a
T2	60	16	7,95 ab	15,56 b	4,97 b	8,26 c
T3	120	4	6,79 b	13,60 c	13,16 a	15,49 b
T4	60	4	6,17 b	13,75 c	4,73 b	7,69 c
Média			7,46 C	15,48 A	9,08 C	12,72 B
----- N-amino (mmoles/5 plantas) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	6,50 a	10,14 b	11,69 a	30,02 a
T2	60	16	4,88 b	10,14 b	6,39 b	12,62 c
T3	120	4	5,09 a	12,77 a	10,38 a	15,87 b
T4	60	4	3,66 b	13,83 a	4,27 c	11,14 c
Média			5,03 D	11,72 B	8,18 C	17,41 A

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Com relação às partes da planta, os maiores teores de N-amino foram encontrados nos estolões e nas folhas aos 29 e 64 DAT e apenas no estolão aos 49 DAT. Os menores teores foram encontrados nas raízes nas três coletas (Tabela 18).

Em todas as partes da planta se observa uma diminuição nos teores de N-amino, sendo que nas folhas e nas raízes esta redução é mais acentuada com uma redução de 73,96 para 40,52 μmoles de N-amino/g.m.f., nas folhas e de 17,73 para 9,44 μmoles de N-amino/g.m.s., nas raízes, entre a primeira e a terceira coleta, o que equivale a aproximadamente: 45%, 50%, 39% e 28% de redução nos teores de N-amino, respectivamente nas folhas, raízes, estolão e caule (tabela 18).

Os níveis mais altos de N-amino no início do cultivo podem ter relação com as variações climáticas dentro da casa de vegetação. No início do experimento as plantas ficaram expostas a temperaturas altas (entorno de 34° C, com máximas de 45°), com freqüente nebulosidade, o que pode ter afetado a planta.

Tabela 18. Teor de N-amino ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-amino ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	20,71 a	81,67 a	43,96 a	94,91 a
T2	60	16	17,75 a	49,27 b	32,76 b	57,73 b
T3	120	4	17,19 a	54,44 b	38,06 ab	90,48 a
T4	60	4	15,27 a	51,45 b	28,56 c	52,73 b
Média			17,73 C	59,21 A	35,84 B	73,96 A
----- N-amino ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	21,62 a	57,38 ab	37,16 b	40,63 b
T2	60	16	18,65 a	63,38 a	27,47 c	26,43 c
T3	120	4	14,67 b	59,34 a	52,32 a	50,31 a
T4	60	4	19,60 a	51,99 b	29,61 c	28,72 c
Média			18,46 C	58,02 A	36,64 B	36,52 B
----- N-amino ($\mu\text{moles.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	11,5 a	26,45 b	26,86 a	48,49 a
T2	60	16	11,01 a	33,76 b	27,38 a	34,48 b
T3	120	4	8,26 a	42,14 a	29,43 a	42,48 ab
T4	60	4	6,96 a	42,81 a	21,21 a	37,42 b
Média			9,44 C	36,29 AB	26,22 B	40,52 A

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

4.6.4. Açúcares solúveis

Houve aumento gradativo nos conteúdos de açúcares solúveis nas plantas de hortelã ao longo das três coletas, em todas as partes da planta (Tabela 19 e 20). O ponto de maior acúmulo ocorreu aos 64 DAT no tratamento 1 e os menores conteúdos foram encontrados nos tratamentos 2 e 4 aos 29 DAT.

Os menores conteúdos de açúcares solúveis são encontrados aos 29 DAT porque a planta precisa de energia, pois está na fase de crescimento exponencial, utilizando a maior parte da energia química disponível para o seu crescimento. A maior produção de parte aérea ocorre aos 64 DAT, no tratamento 1, assim como os maiores conteúdos de açúcares solúveis. Isto ocorre em função das maiores doses de N e P estimularem o crescimento da parte aérea, possibilitando maior captação de energia luminosa, conseqüentemente, maior disponibilidade de energia química na forma de carboidratos.

Os maiores conteúdos de açúcares solúveis foram encontrados nos estolões durante as três coletas (Tabela 20). Este aumento nos conteúdos de açúcares solúveis no estolão pode estar associado à característica da planta. Por ser uma planta estolonífera de crescimento indeterminado, parte dos recursos energéticos é armazenada no estolão para garantir reservas energéticas após a floração ou depois de um período estressante, possibilitando novas brotações que surgem dos estolhos.

Os teores médios de açúcares solúveis não sofreram variações grandes nas plantas de hortelã ao longo das três coletas (Tabela 19), exceto nas folhas, local que apresentou uma

redução de 21,64 mg/g.m.f. para 11,9 mg/g.m.f. entre a segunda e a terceira coleta (Tabela 21).

Tabela 19. Conteúdo total de açúcar solúvel (g/5 plantas) em plantas de *Mentha piperita* (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- Açúcar solúvel (mg/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	13,67 abC	42,33 aB	47,87 aA	34,62 a
T2	60	16	12,44 bC	35,24 bB	44,46 bA	30,71 b
T3	120	4	14,72 aC	28,40 cB	30,78 dA	24,64 c
T4	60	4	12,37 bC	44,59 aA	41,35 cA	32,77 ab
Média			13,30 C	37,64 B	41,12 A	30,69

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Tabela 20. Conteúdo total de açúcar solúvel (g/5 plantas) em plantas de raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- Açúcar solúvel (mg/5 plantas) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	2,27 a	6,81 b	3,25 a	1,32 b
T2	60	16	2,40 a	5,85 c	2,50ab	1,67 ab
T3	120	4	2,11 a	8,00 a	3,40 a	1,19 b
T4	60	4	2,24 a	5,26 c	2,25 b	2,60 a
Média			2,26 B	6,48 A	2,85 B	1,70 B
----- Açúcar solúvel (mg/5 plantas) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	8,51 a	22,31 b	8,42 a	3,08 b
T2	60	16	7,34 b	17,20 c	6,38 b	4,31 a
T3	120	4	7,76 ab	11,37 d	6,43 b	2,83 c
T4	60	4	8,34 a	25,14 a	7,05 ab	4,05 ab
Média			7,99 B	19,00 A	7,07 B	3,57 C
----- Açúcar solúvel (mg/5 plantas) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	11,85 a	25,73 b	5,76 a	4,52 b
T2	60	16	6,03 b	29,11 a	4,60 ab	4,70 b
T3	120	4	5,46 b	16,74 c	3,93 b	4,64 b
T4	60	4	6,34 b	25,24 b	3,55 b	6,21 a
Média			7,42 B	24,20 A	4,46 C	5,02 C

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Verificou-se que as plantas submetidas aos tratamentos 1 e 3 foram as que apresentaram os menores teores de açúcares solúveis (Tabela 21). Quando os dados de açúcares solúveis são comparados aos valores de N-amino (Tabela 18), pode ser constatada uma relação indireta, pois as plantas submetidas aos tratamentos 1 e 3 foram as que tiveram os maiores teores de N-amino. Provavelmente, a energia disponível nas plantas está sendo direcionada para a assimilação de N o que proporcionou diminuição nos níveis energéticos. Como pode ser observado na tabela 6 as plantas submetidas aos tratamentos 1 e 3 foram respectivamente as que mais produziram massa fresca.

SOUZA (1990) observou que nos tratamentos com maiores doses de N foram encontrados os menores teores de açúcares solúveis e que provavelmente esta diminuição se deve ao gasto de energia na assimilação do N. FERNANDES (1990) relata que o metabolismo do N absorvido, em plantas de arroz, é controlado principalmente, pelos fluxos internos de energia, o que pode explicar a diminuição dos teores de açúcares nas plantas de hortelã submetidas aos maiores níveis de N na solução nutritiva.

Tabela 21. Teor de açúcar solúvel ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.f.}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- Açúcar solúvel ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 29 DAT -----			
	N- NO_3^-	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	7,61 c	75,76 b	16,70 b	21,04 b
T2	60	16	9,68 b	77,37 a	26,98 a	21,73 b
T3	120	4	6,27 c	69,91 d	16,24 b	24,57 a
T4	60	4	13,07 a	72,66 c	27,11 a	22,07 b
Média			9,16 C	73,93 A	21,76 B	22,35 B
----- Açúcar solúvel ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	7,53 c	67,06 c	23,89 d	17,58 c
T2	60	16	10,61 b	70,43 b	41,91 b	21,35 b
T3	120	4	6,20 c	50,42 d	31,07 c	20,58 b
T4	60	4	12,71 a	97,63 a	50,89 a	27,07 a
Média			9,26 D	71,38 A	36,94 B	21,64 C
----- Açúcar solúvel ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.f.}$) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	8,04 b	66,09 c	26,90 b	8,99 b
T2	60	16	10,85 a	96,56 a	25,98 b	12,51 a
T3	120	4	7,50 b	54,94 d	16,07 c	10,58 ab
T4	60	4	11,66 a	77,63 b	33,40 a	12,29 a
Média			9,51 C	73,80 A	25,59 B	11,09 C

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

4.7. Resultados das Análises em Material Seco

4.7.1. N-total

Os resultados obtidos mostraram que houve efeito dos tratamentos nos conteúdos de N-total (mg/5 plantas) nas plantas de hortelã. As plantas submetidas ao tratamento 1, com as maiores doses de N e P, foram as que apresentaram os maiores acúmulos de N-total e as plantas sob o tratamento 4, com menores doses de N e P, foram as que apresentaram os menores conteúdos. Observou-se que ao longo das três coletas as plantas de hortelã aumentaram seus conteúdos de N-total, sendo mais intenso este aumento dos 29 DAT para os 49 DAT (Tabela 22).

Tabela 22. Conteúdo total de N-total (mg/5 plantas) em plantas de *Mentha piperita* (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- N-total (mg/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	1708,68 aC	4545,46 aB	5559,46 aA	3.937,87 a
T2	60	16	1047,80 cC	2518,93 cA	3484,37 cA	2.350,37 c
T3	120	4	1376,53 bC	3123,84 bB	4141,32 bA	2.880,56 bc
T4	60	4	1097,09 cC	2353,11 cB	3112,89 cA	2.187,70 d
Média			1307,52 C	3135,33 B	4074,51 A	2839,12

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

O efeito sinérgico das doses de N e P da solução nutritiva do tratamento 1, estimularam o crescimento vegetativo, o que proporcionou as plantas maior produção de biomassa e, conseqüentemente, maiores acúmulos de N na planta inteira. No tratamento 4 foi observado efeito contrário ao encontrado no tratamento 1. O ganho de massa fresca e seca das plantas de hortelã foi mais intenso entre a primeira e a segunda coleta, isto porque este foi o período de crescimento exponencial, além disso, o intervalo entre a primeira e a segunda coleta foi maior que entre a segunda e a terceira, o que proporcionou maior incremento nos conteúdos de N-total.

Na tabela 23 ficou demonstrado que o tratamento 1 seguido pelo tratamento 3 foram os que mais acumularam N, exceto aos 64 DAT, pois nesta coleta tanto as raízes como os estolões tiveram maior produção de biomassa o que conseqüentemente proporciona maior conteúdo de N.

Tabela 23. Conteúdo total de N-total (mg/5 plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-total (mg/5 plantas) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	158,36 a	216,48 a	341,00 a	992,84 a
T2	60	16	215,83 a	201,57 a	194,52 a	435,88 b
T3	120	4	221,82 a	229,83 a	290,78 a	634,10 b
T4	60	4	217,91 a	183,06 a	177,85 a	518,27 b
Média			203,48 B	207,74 B	251,04 B	645,27 A
----- N-total (mg/5 plantas) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	524,14 a	775,45 a	987,60 a	2258,28 a
T2	60	16	423,12 ab	533,27 bc	324,35 c	1238,19 c
T3	120	4	474,91 a	414,51 c	583,67 b	1650,75 b
T4	60	4	312,09 b	555,38 b	290,05 c	1195,59 c
Média			433,56 B	569,65 B	546,42 B	1585,71 A
----- N-total (mg/5 plantas) 64 DAT -----						
T1	120	16	599,51 b	554,30 ab	1061,18 a	3344,47 a
T2	60	16	496,52 b	513,60 b	609,98 b	1864,27 c
T3	120	4	741,78 a	461,13 b	935,26 a	2003,16 b
T4	60	4	571,15 b	641,53 a	453,89 b	1446,33 d
Média			602,24 B	542,64 B	765,08 B	2164,56 A

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Neste trabalho foram encontrados os maiores conteúdos e teores (mg.g⁻¹.m.s.) de N-total nas folhas, em todas as coletas, o que demonstra que a maior demanda pelo nutriente se dá neste órgão, principalmente aos 64 DAT quando a planta apresenta 3.344,47mg/5 plantas (Tabela 23 e 24). Isto mostra porque ocorre uma diminuição nos teores de nitrato no caule e o aumento nas folhas, o que também foi observado nos teores de N-total do caule e das folhas (Tabela 24).

Provavelmente, os maiores teores de nitrato no caule estão associados ao estoque vacuolar deste nutriente, que sob determinado estímulo, liberou o nutriente para uma região com maior demanda, neste caso as folhas. Além disso, entre a segunda e a terceira coleta há uma diminuição nos conteúdos de açúcares solúveis tanto no caule como nas folhas (o mesmo não ocorreu nas outras partes da planta) o que pode indicar a utilização de energia para remobilização, redução e assimilação do nitrato associado a síntese de proteínas nas folhas (Tabela 21).

Tabela 24. Teor de N-total ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.s.}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- N-total ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.s.}$) aos 29 DAT -----			
	N- NO_3^-	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	18,7 ab	20,95 ab	18,95 a	36,46 a
T2	60	16	20,3 a	22,76 a	14,71 b	21,52 b
T3	120	4	20,7 a	16,55 c	17,07 a	21,35 b
T4	60	4	16,99 b	19,48 b	12,94 b	21,98 b
Média			19,20 B	19,93 B	15,92 C	25,33 A
----- N-total ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.s.}$) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	22,21 a	18,20 a	13,72 a	24,95 bc
T2	60	16	17,05 b	15,36 b	8,01 b	18,81 d
T3	120	4	17,61 b	15,73 b	12,46 a	28,46 a
T4	60	4	14,29 c	14,99 b	7,71 b	22,98 c
Média			17,79 B	16,07 C	10,47 D	23,80 A
----- N-total ($\text{mg.g}^{-1}.\text{m.s.}$) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	19,62 a	10,97 a	10,26 b	27,29 a
T2	60	16	16,84 b	11,07 a	9,93 b	22,93 b
T3	120	4	19,66 a	12,09 a	12,67 a	27,17 a
T4	60	4	15,07 b	11,53 a	9,41 b	21,50 b
Média			17,79 B	11,41 C	10,57 C	24,72 A

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Quanto ao efeito dos tratamentos no teor de N-total nas plantas de hortelã, verificou-se que os tratamentos 1 e 3, com maiores doses de nitrato, favoreceram um teor mais elevado de N, principalmente nas folhas e nas raízes aos 64 DAT.

Os teores de N-total encontrados neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por RODRIGUES et al. (2004) com plantas de hortelã, aos 95 dias de cultivo hidropônico. Segundo este autor a exigência nutricional aos 95 dias de cultivo, relacionada ao máximo teor de óleos essenciais e a seguinte: $\text{N}>\text{K}>\text{Ca}>\text{P}>\text{Mg}>\text{S}$.

4.7.2. Fósforo

Entre a primeira e a última coleta, os conteúdos de P aumentaram nas plantas de hortelã, principalmente nos tratamentos 1 e 2, onde as plantas apresentaram um acréscimo bastante significativo entre os 29 DAT e os 49 DAT. Os maiores conteúdos de P foram encontrados nas plantas submetidas aos tratamentos com 16 mg.L^{-1} de P, sendo 579,49 e 473,1 $\text{mg}/5$ plantas nos tratamentos 1 e 2, respectivamente (Tabela 25).

Aos 29 DAT não se verificou diferença significativa nos conteúdos de P das raízes e dos estolões, em compensação, os caules e as folhas apresentaram os maiores conteúdos de P, nos tratamentos 1 e 2 (Tabela 26). Os níveis de P foram sempre mais elevados nas folhas que nos outros órgãos, independentemente da data.

Tabela 25. Conteúdo total de P (mg/5 plantas) em plantas de *Mentha piperita* (hortelã), cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P, coletadas aos 29, 49 e 64 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

Tratamento	* Dose		----- Fósforo (mg/5 plantas) -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	29 DAT	49 DAT	64 DAT	Média
T1	120	16	270,55 aC	658,14 aB	809,77 aA	579,49 a
T2	60	16	187,20 abC	516,28 bB	715,96 aA	473,15 b
T3	120	4	119,04 bB	230,30 cB	304,64 cA	218,00 c
T4	60	4	121,68 bB	237,64 cB	340,79 cA	233,37 c
Média			174,62 C	410,59 B	542,79 A	376,00

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Tabela 26. Conteúdo total de P (mg/5 plantas) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- Fósforo (mg/5 plantas) aos 29 DAT -----			
	N-NO ₃ ⁻	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	31,58 a	51,08 a	70,61 a	117,27 a
T2	60	16	40,46 a	34,94 a	46,89 ab	64,90 ab
T3	120	4	21,80 a	32,86 a	27,43 b	36,95 b
T4	60	4	24,01 a	30,78 a	26,17 b	40,73 b
Média			29,46 A	37,41 A	42,78 A	64,96 A
----- Fósforo (mg/5 plantas) aos 49 DAT -----						
T1	120	16	74,81 a	162,92 a	191,59 a	228,82 a
T2	60	16	91,85 a	151,84 a	109,06 b	163,52 b
T3	120	4	41,10 b	42,41 c	50,47 c	96,33 c
T4	60	4	36,70 b	74,10 b	42,60 c	84,24 c
Média			61,11 C	107,82 B	98,43 B	143,23 A
----- Fósforo (mg/5 plantas) aos 64 DAT -----						
T1	120	16	87,24 b	128,17 b	242,15 a	352,21 a
T2	60	16	125,17 a	160,12 a	187,79 b	242,88 b
T3	120	4	48,47 c	37,78 d	91,26 c	127,13 c
T4	60	4	58,50 c	95,23 c	61,58 c	125,48 c
Média			79,85 C	105,32 C	145,70 B	211,92 A

* mg.L⁻¹ de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

Observou-se um aumento gradativo no conteúdo de P nas partes das plantas de hortelã, o que indica a sua importância como nutriente, quando o P disponível na solução nutritiva está na faixa limitante, o crescimento da parte aérea é afetado e o crescimento

radicular é estimulado o que pode tornar inviável ou menos rentável a prática agrícola, nestas condições.

Com relação aos teores de P ao longo das coletas, foi verificada uma leve diminuição com a idade da planta principalmente no caule. Quando submetidas aos tratamentos, as plantas de hortelã apresentaram maiores teores de P nos tratamentos 1 e 2 (Tabela 27). Os resultados encontrados neste trabalho, com relação aos níveis de P são condizentes com os encontrados por RODRIGUES et al. (2004).

Tabela 27. Teor de P ($\text{g.kg}^{-1}.\text{m.s.}$) em raiz, estolão, caule e folha de plantas de *Mentha piperita* (hortelã) cultivadas em soluções nutritivas com diferentes teores de N e P.

Tratamento	* Dose		----- Fósforo ($\text{g.kg}^{-1}.\text{m.s.}$) aos 29 DAT -----			
	N- NO_3^-	P	Raiz	Estolão	Caule	Folha
T1	120	16	3,73 a	4,95 a	3,93 a	4,30 a
T2	60	16	3,87 a	3,88 b	3,67 a	3,20 b
T3	120	4	2,05 b	2,40 c	1,64 b	1,24 d
T4	60	4	1,85 b	3,27 d	1,91 b	1,74 c
Média			2,87 B	3,63 A	2,79 B	2,62 B
			----- Fósforo ($\text{g.kg}^{-1}.\text{m.s.}$) aos 49 DAT -----			
T1	120	16	3,17 a	3,82 b	2,72 a	2,49 a
T2	60	16	3,69 b	4,38 a	2,78 a	2,48 a
T3	120	4	1,55 c	1,62 c	1,08 b	1,68 b
T4	60	4	1,71 c	2,01 c	1,15 b	1,58 b
Média			2,53 AB	2,96 A	1,93B	2,06 B
			----- Fósforo ($\text{g.kg}^{-1}.\text{m.s.}$) aos 64 DAT -----			
T1	120	16	2,84 a	2,55 b	2,33 b	2,89 a
T2	60	16	4,24 a	3,45 a	3,07 a	2,99 a
T3	120	4	1,29 b	0,98 d	1,23 c	1,72 b
T4	60	4	1,55 b	1,69 c	1,29 c	1,90 b
Média			2,48 A	2,17 A	1,98 A	2,38 A

* mg.L^{-1} de N ou P na solução nutritiva. Letras maiúsculas iguais na mesma linha e minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente (Fisher LSD 5%).

4.8. Cromatografia em Fase Gasosa Acoplado ao Espectrômetro de Massa

Neste trabalho verificou-se que os tratamentos aos quais as plantas de hortelã foram submetidas, produziram efeitos sobre a qualidade do óleo. Nas Tabelas 28, 29 e 30 observou-se aumento ou a diminuição nos teores dos compostos químicos em função dos níveis dos nutrientes disponíveis às plantas. Resultados semelhantes foram encontrados por PAULUS et al (2004), que observou variações na qualidade de *Mentha arvensis*, sob diferentes espaçamentos e concentração de nutrientes na solução nutritiva.

Tabela 28. Compostos químicos (percentual médio do conteúdo volátil total) encontrados em folhas de *Mentha piperita* cultivadas em sistema hidropônico de fluxo laminar com diferentes teores de N e P na solução nutritiva, coletadas aos 29 DAT.

¹ T.R.	² Composto Químico	³ D.P	Proporção do composto químico (%)			
			----- Tratamentos -----			
			T1	T2	T3	T4
6,64	eucaliptol	0,23	0,97	0,73	0,49	0,65
11,19	terpi-1-ol	0,17	1,08	0,71	0,88	0,79
11,80	para-cimen-8-ol	0,04	0,18	0,14	0,14	0,10
12,11	<i>a</i> -terpineol	0,07	0,17	0,12	0,11	0,00
14,07	piperitenona	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14,60	Z-ocimenona	0,07	0,21	0,35	0,27	0,22
15,57	E-ocimenona	0,59	0,21	1,76	0,48	0,80
15,74	6-oh-carvotonacetona	0,10	0,08	0,19	0,31	0,09
16,94	carvacrol	0,06	0,11	0,20	0,16	0,18
17,73	óxido de piperitenona	11,89	68,92	65,96	78,25	79,29
17,94	⁴ composto a	1,02	1,08	0,12	2,76	2,11
19,10	⁴ composto b	0,84	3,08	3,20	3,73	4,21
19,45	trans-cariofileno	0,70	1,75	0,88	0,08	0,20
20,16	trans-óxido de carvona	1,42	0,31	3,63	1,51	0,81
22,58	calameneno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
23,43	globelol	0,21	0,63	0,16	0,33	0,16
24,44	espatulenol	0,37	1,00	0,92	1,54	1,62
25,42	cubenol	0,25	0,43	0,11	0,12	0,60
26,54	<i>a</i> -eudesmol	0,05	0,15	0,13	0,18	0,20
% médio do conteúdo volátil total			80,36	79,31	91,34	92,03

¹ Tempo de Retenção em minutos. ² Identificação segundo comparações com: a) padrões autênticos, b) Dados de espectro de massa da literatura (ADAMS, 1995) C) dados obtidos das bibliotecas espectrais. ³ Desvio padrão em torno da média. ⁴ Compostos não identificados.

Em alguns casos o P foi o elemento que proporcionou variação na qualidade do óleo. Por exemplo, na tabela 28, a produção do *trans*-cariofileno é estimulada pela presença das doses altas de P (1,75; 0,88; 0,08; 0,20%, respectivamente, para os tratamentos 1, 2, 3 e 4) , em contrapartida, o mesmo elemento inibe a produção do óxido de piperitenona (68,92; 65,96; 78,25; 79,29%, respectivamente para os tratamentos 1, 2, 3 e 4).

Com relação às coletas, observou-se também, uma grande variação do perfil de compostos químicos, como pode se constatar comparando-se os percentuais encontrados do composto piperitenona aos 29 DAT (não detectado em todos os tratamentos), 49 DAT (0,53; 0,45; 0,51; 0,53)% e 64 DAT (0,23; 4,57; 8,16; 6,71)%. Foi observado que todos os compostos sofreram algum tipo de variação em função do tratamento e da época de coleta.

Tabela 29. Compostos químicos (percentual médio do conteúdo volátil total) encontrados em folhas de *Mentha piperita* cultivadas em sistema hidropônico de fluxo laminar com diferentes teores de N e P na solução nutritiva, coletadas aos 49 DAT.

¹ T.R.	² Composto Químico	³ D.P	Proporção do composto químico (%)			
			----- Tratamentos -----			
			T1	T2	T3	T4
6,64	eucaliptol	0,85	0,00	0,69	1,34	1,71
11,19	terpi-1-ol	0,18	0,34	0,49	0,58	0,78
11,80	<i>para</i> -cimen-8-ol	0,13	0,90	0,78	0,62	0,75
12,11	α -terpineol	0,06	0,24	0,23	0,27	0,11
14,07	piperitenona	0,08	0,53	0,45	0,51	0,53
14,60	<i>Z</i> -ocimenona	0,06	0,34	0,31	0,43	0,40
15,57	<i>E</i> -ocimenona	0,44	0,63	0,56	0,31	1,43
15,74	6-oh-carvotonacetona	0,05	0,37	0,34	0,31	0,36
16,94	carvacrol	0,85	5,94	5,13	4,86	4,47
17,73	óxido de piperitenona	4,32	67,79	72,99	73,70	71,18
17,94	⁴ composto a	0,54	0,17	0,49	0,50	1,54
19,10	⁴ composto b	0,73	1,70	2,47	1,08	2,58
19,45	<i>trans</i> -cariofileno	0,27	0,16	0,81	0,30	0,66
20,16	<i>trans</i> -óxido de carvona	1,65	2,94	4,01	0,09	0,63
22,58	calameneno	0,06	0,21	0,20	0,25	0,19
23,43	globelol	0,26	0,05	0,17	0,38	0,60
24,44	espatulenol	0,49	1,80	1,38	2,43	1,61
25,42	cubenol	0,21	0,65	0,68	0,53	0,78
26,54	α -eudesmol	0,13	0,26	0,50	0,33	0,52
% médio do conteúdo volátil total			85,02	92,68	88,82	90,83

¹ Tempo de Retenção em minutos. ² Identificação segundo comparações com: a) padrões autênticos, b) Dados de espectro de massa da literatura (ADAMS, 1995) C) dados obtidos das bibliotecas espectrais. ³ Desvio padrão entorno da média. ⁴ Compostos não identificados.

Em todas as coletas e tratamentos, o composto químico majoritário encontrado no óleo essencial da planta de hortelã foi o óxido de piperitenona. Este composto químico foi encontrado na literatura como sendo majoritário para outras espécies de hortelã (SARTORATTO et al, 2004; LOURENZO et al., 2002), entretanto sua presença no óleo está associado a oxidação da piperitenona (Figura 18), se configurando como um artefato.

A biossíntese de monoterpênóides em plantas de hortelã é direcionada por enzimas que possuem alta seletividade pelo substrato, e sua regulação se dá a nível transcricional, através da inibição ou não de fatores de transcrição, que por sua vez, estão envolvidos com fatores externos ou internos à planta.

Deste modo, a variação encontrada nos perfis cromatográficos, tornou-se uma importante evidência de que estudos sobre o metabolismo secundários não devem, de forma alguma, serem analisados separadamente das condições impostas. Neste caso, ficou

demonstrado que tanto a idade da planta (que pode estar associada às condições climáticas na casa de vegetação), quanto a disponibilidade de nutrientes afetam de modo diferenciado alguns aspectos do metabolismo básico e, em decorrência disso, também o rendimento e a qualidade do óleo essencial.

Tabela 30. Compostos químicos (percentual médio do conteúdo volátil total) encontrados em folhas de *Mentha piperita* cultivadas em sistema hidropônico de fluxo laminar com diferentes teores de N e P na solução nutritiva, coletadas aos 64 DAT.

¹ T.R.	² Composto Químico	³ D.P	Proporção do composto químico (%)			
			----- Tratamentos -----			
			T1	T2	T3	T4
6,64	eucaliptol	0,22	0,13	0,28	0,36	0,49
11,19	terpi-1-ol	0,18	0,37	0,44	0,79	0,48
11,80	para-cimen-8-ol	0,09	0,30	0,27	0,31	0,47
12,11	α -terpineol	0,14	0,32	0,00	0,36	0,22
14,07	piperitenona	3,00	0,23	4,57	8,16	6,71
14,60	Z-ocimenona	0,06	0,32	0,24	0,32	0,38
15,57	E-ocimenona	0,71	2,58	0,89	1,38	0,98
15,74	6-oh-carvotonacetona	0,11	0,30	0,30	0,52	0,38
16,94	carvacrol	0,54	1,47	0,93	1,16	1,98
17,73	óxido de piperitenona	6,33	75,55	78,49	70,07	65,23
17,94	⁴ composto a	0,60	0,18	1,64	1,47	1,50
19,10	⁴ composto b	0,96	1,30	3,31	2,76	1,31
19,45	trans-cariofileno	0,14	0,49	0,37	0,68	0,56
20,16	trans-óxido de carvona	2,51	3,05	0,74	4,67	7,38
22,58	calameneno	0,10	0,29	0,14	0,13	0,25
23,43	globelol	0,19	0,12	0,40	0,00	0,00
24,44	espatulenol	0,35	1,67	1,49	1,61	1,95
25,42	cubenol	0,53	0,24	0,31	1,12	1,42
26,54	α -eudesmol	0,07	0,31	0,33	0,35	0,42
% médio do conteúdo volátil total			89,22	95,14	96,22	92,11

¹ Tempo de Retenção em minutos. ² Identificação segundo comparações com: a) padrões autênticos, b) Dados de espectro de massa da literatura (ADAMS, 1995) C) dados obtidos das bibliotecas espectrais. ³ Desvio padrão entorno da média. ⁴ Compostos não identificados.

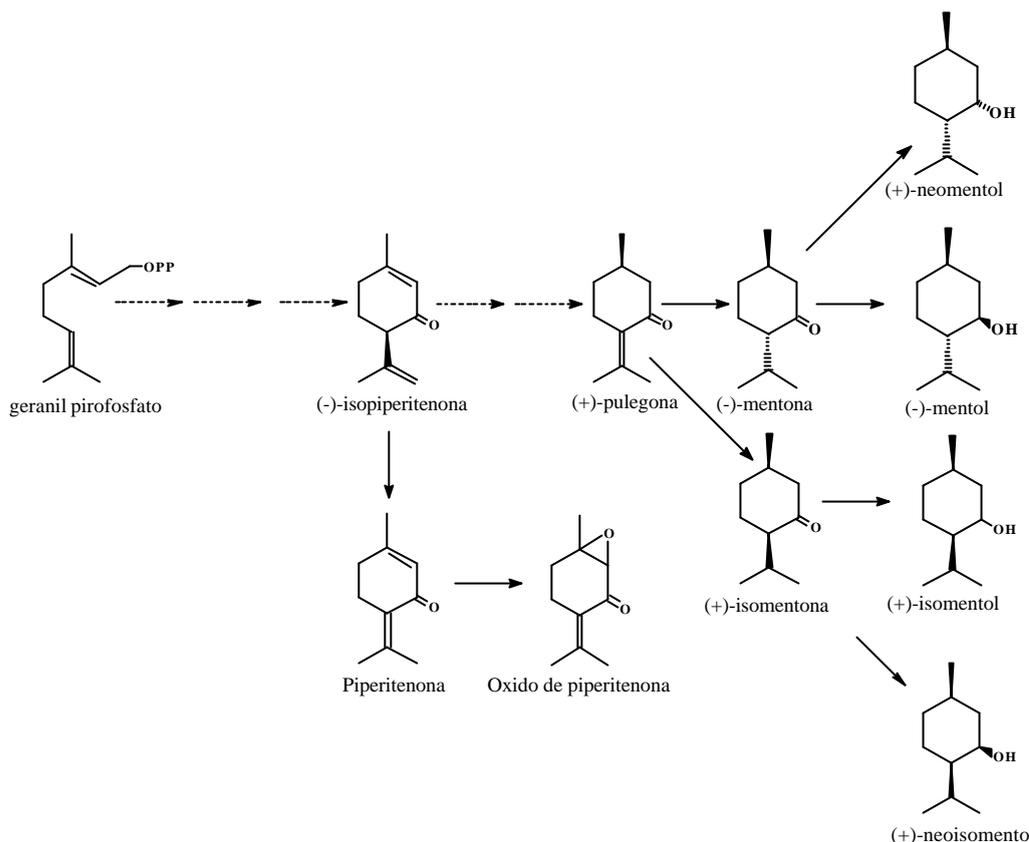


Figura 18. Biossíntese de monoterpênoides em plantas de hortelã, (-)-isopiperitenone como substrato central da via de formação do mentol e seus isômeros (adaptado de CROTEAU 1987).

4.9. Ensaios Biológicos

4.9.1. Ensaio com fungos fitopatogênicos

Na tabela 31 podemos observar que os fungos *F. oxysporum*, *R. solani* e *S. rolsii*, tiveram seus crescimentos inibidos pela presença do óleo essencial da planta de hortelã na concentração testada. Entretanto, parte desse efeito inibidor é provocada pela presença do DMSO, utilizado para diluir o óleo no meio de cultura. Contudo, isto não invalida o efeito causado pelo óleo essencial, pois, se comparados ao controle negativo, há diferença significativa.

O efeito inibidor, na concentração testada, se caracteriza como fungistático e é provocado por uma ou mais substâncias presente no óleo essencial da planta de hortelã. Estas substâncias podem ou não estar agindo em sinergismo, por isso, nas Tabelas 32, 33 e 34 são apresentados os ensaios com alguns componentes puros presentes no óleo de hortelã.

Na tabela 32, foram observados efeitos fungicidas dos compostos alfa-terpineol e mentol sobre o crescimento do fungo *F. oxysporum*, nas concentrações testadas. Os compostos químicos limoneno, eucaliptol, mentofurano, α -pineno e mentona não apresentaram nenhum tipo de efeito sobre o fungo testado, as demais substâncias apresentaram efeito fungistático, como o composto sabineno (Figura 19).

Tabela 31. Crescimento miscelial do fungo *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo óleo essencial de hortelã diluído em dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 g.L⁻¹.

Tratamento	BDA (mL)	¹ DMSO (mL)	² [] (g.L ⁻¹)	----- ³ Diâmetro da colônia (cm) -----		
				<i>F. oxysporum</i>	<i>R. solani</i>	<i>S. rolfsii</i>
Controle (+)	50	0	0	6,0 a	8,6 a	8,6 a
Controle (-)	3	0,3	0	5,2 a	7,8 b	6,9 b
Ó.E. hortelã	3	0,3	1,0	2,9 c	4,0 c	4,0 c

¹Dimetilsulfóxido. ²Concentração grama do óleo essencial por litro de diclorometano. ³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).

Tabela 32. Crescimento miscelial do fungo *Fusarium oxysporum* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 mg.L⁻¹ do compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã.

----- Tratamento -----				
Compostos químicos	BDA (mL)	¹ DMSO (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	³ Diâmetro da colônia (cm)
Controle positivo	50	0	0	8,6 a
Controle negativo	50	0,3	0	8,1 ab
Limoneno	50	0,3	1	7,4 b
Mentofurano	50	0,3	1	8,6 a
Eucaliptol	50	0,3	1	7,7 bc
Sabineno	50	0,3	1	1,4 d
<i>a</i> -Pineno	50	0,3	1	7,3 b
Mentona	50	0,3	1	7,5 b
<i>a</i> -Terpineol	50	0,3	1	0,0 e
Neomentol	50	0,3	1	6,2 c
Pulegona	50	0,3	1	6,7 c
Mentol	50	0,3	1	0,0 e

¹Dimetilsulfóxido. ²Concentração em grama do composto químico por litro de meio de cultura BDA. ³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).

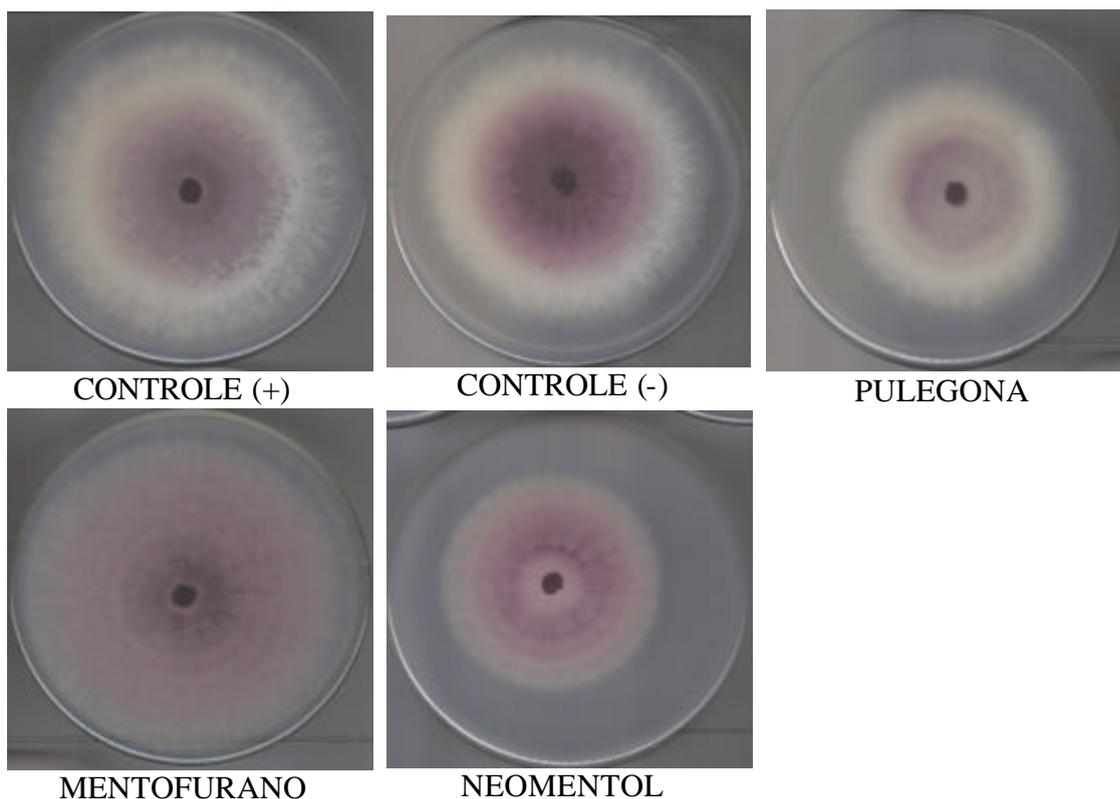


Figura 19. Imagens do fungo *Fusarium oxysporum* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 mg.L⁻¹ dos compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã. Imagem de captura no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo, pulegona, mentofurano e neomentol.

As mesmas substâncias foram utilizadas para verificar o crescimento do fungo *R. solani* (Tabela 33), constatou-se que um grupo maior de substâncias apresentaram efeito fungicida, são elas: α -terpineol, neomentol, pulegona, mentol e α -Pino. Todas as outras substâncias testadas promoveram efeito fungistático ao crescimento do fungo (Figura 20).

Tabela 33. Crescimento miscelial do fungo *Rhizoctonia solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 g.L⁻¹ do compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã.

----- Tratamento -----				
Compostos químicos	BDA (mL)	¹ DMSO (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	³ Diâmetro da colônia (cm)
Controle positivo	50	0	0	8,9 a
Controle negativo	50	0,3	0	8,6 a
Limoneno	50	0,3	1	7,1 b
Mentofurano	50	0,3	1	4,1 d
Eucaliptol	50	0,3	1	6,9 b
Sabineno	50	0,3	1	1,6 e
α-Pineno	50	0,3	1	0,0 f
Menthona	50	0,3	1	5,7 c
α-Terpineol	50	0,3	1	0,0 f
Neomentol	50	0,3	1	0,0 f
Pulegona	50	0,3	1	0,0 f
Mentol	50	0,3	1	0,0 f

¹Dimetilsulfóxido. ²Concentração em grama do composto químico por litro de meio de cultura BDA. ³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).

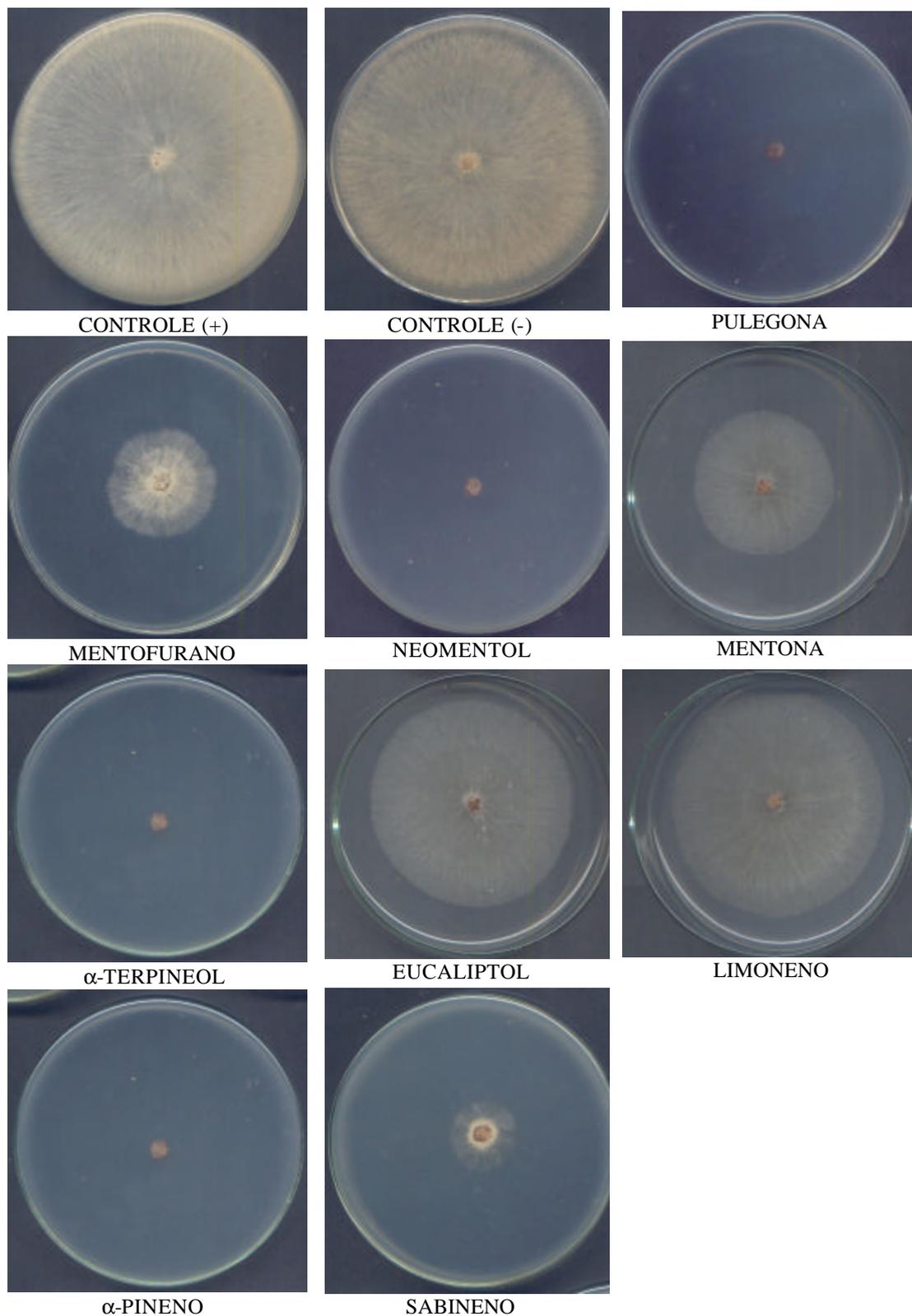


Figura 20. Imagens do fungo *R.solani* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 mg.L⁻¹ dos compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã. Imagem de captura no final do ensaio das placas contendo o controle positivo e negativo e os compostos químicos

As substâncias puras testadas sobre o fungo *S. rolfsii*, apresentaram efeito inibitório, sendo fungicida para os compostos α -terpineol, neomentol, pulegona, mentol e fungistática para os fungos eucaliptol, sabineno e mentona, as outras substâncias não apresentaram efeito, pois são iguais ao controle negativo (Tabela 34).

Os mecanismos de atuação desses compostos químicos não foram testados, entretanto, segundo STANGARLIN et al. (1999) estas substâncias agem nos mecanismos internos do fungo que se reflete na má formação de estruturas importantes para a penetração e o desenvolvimento do microrganismo no ambiente ou no interior da planta. O modo de ação dessas substâncias sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e redução ou inibição do crescimento micelial.

Tabela 34. Crescimento miscelial do fungo *Sclerotium rolfsii* em meio batata-dextrose-agar (BDA) contendo substâncias puras em solução com dimetilsulfóxido (DMSO – 0,3 mL.50mL⁻¹) na concentração de 1,0 g.L⁻¹ do compostos químicos presentes no óleo essencial de hortelã.

----- Tratamento -----				
Compostos químicos	BDA (mL)	¹ DMSO (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	³ Diâmetro da colônia (cm)
Controle positivo	50	0	0	8,6 a
Controle negativo	50	0,3	0	5,5 b
Limoneno	50	0,3	1	6,1 b
Mentofurano	50	0,3	1	5,3 b
Eucaliptol	50	0,3	1	5,5 d
Sabineno	50	0,3	1	2,5 c
α -Pínenos	50	0,3	1	5,6 b
Menthona	50	0,3	1	2,0 c
α -Terpineol	50	0,3	1	0,0 d
Neomentol	50	0,3	1	0,0 d
Pulegona	50	0,3	1	0,0 d
Mentol	50	0,3	1	0,0 d

¹Dimetilsulfóxido. ²Concentração grama do composto químico por litro de meio de cultura BDA. ³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).

4.9.2. Ensaio com germinação de sementes

O óleo essencial de hortelã foi testado para se avaliar a germinação de sementes de alface e se verificou um efeito inibidor da germinação, como pode ser observado na Tabela 34 e na figura 21. A presença de um ou mais componentes do óleo podem estar atuando para que esse resultado ocorra desse modo, foram realizados outros testes de germinação, onde alguns componentes do óleo essencial de hortelã foram utilizados (Tabela 35 e 36).

Tabela 35. Percentual de germinação de sementes de alface comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com óleo essencial de hortelã diluídos em diclorometano na concentração de 1,2 g.L⁻¹.

Tratamento	Água (mL)	¹ CH ₂ Cl ₂ (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	³ Germinação de alface (%)
Controle positivo	3	0	0	100,0 a
Controle negativo	3	2	0	95,6 b
O.E. hortelã	3	2	1,2	38,5 c

¹Diclorometano. ²Concentração grama do óleo essencial por litro de diclorometano. ³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).



Figura 21. Imagem das placas de Petri contendo sementes de alface comercial submetidas a tratamento com óleo essencial de hortelã diluídos em diclorometano na concentração de 1,2 g.L⁻¹.

Verificou-se que as mesmas substâncias químicas que apresentaram efeitos fungicidas sobre o crescimento dos fungos, na tabela 36 estão inibindo a germinação de sementes de tomate. Todas as sementes dos tratamentos com α -terpineol, mentol, pulegona e neomentol não germinaram. Os tratamentos com limoneno, mentofurano, eucaliptol não apresentaram efeitos sobre a germinação. Os demais tratamentos apresentaram efeitos intermediários sobre a germinação (Figura 22).

Tabela 36. Percentual de germinação de sementes de tomate comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de 5,0 g.L⁻¹.

Compostos químicos	----- Tratamento -----			³ Germinação de tomate (%)
	Água (mL)	¹ CH ₂ Cl ₂ (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	
Controle positivo	3	0	0	100,0 ab
Controle negativo	3	2	0	98,5 abc
Limoneno	3	2	5	106,5 a
Mentofurano	3	2	5	93,6 bc
Eucaliptol	3	2	5	90,4 c
Sabineno	3	2	5	79,9 d
α-Pineno	3	2	5	61,3 e
Mentona	3	2	5	25,0 f
α-Terpineol	3	2	5	0,0 g
Neomentol	3	2	5	0,0 g
Pulegona	3	2	5	0,0 g
Mentol	3	2	5	0,0 g

¹Diclorometano. ²Concentração grama do composto químico por litro de diclorometano.

³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).

No teste de germinação com sementes de alface os resultados foram diferentes (Tabela 37), apenas os tratamentos com mentol e alfa-terpineolo inibiram 100% das sementes, seguido pelo tratamento com mentofurano com 77,3% de inibição. Os tratamentos com limoneno, eucaliptol, mentona, sabineno, não apresentaram efeitos sobre a germinação. Os demais tratamentos apresentaram efeitos intermediários sobre a germinação de sementes (Figura 23).

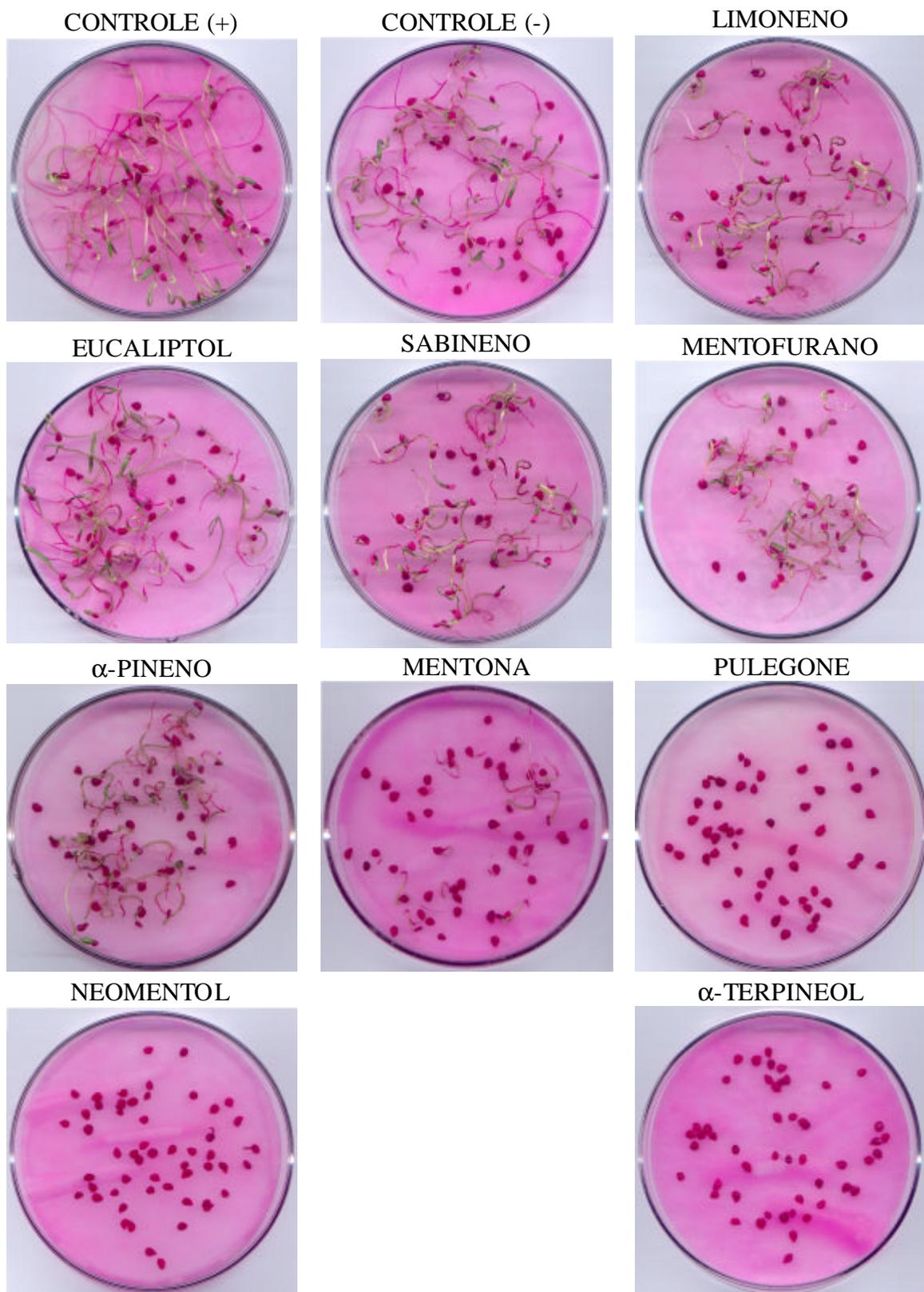


Figura 22. Imagem das placas de Petri contendo as sementes de tomate submetidas a tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de $5,0 \text{ g.L}^{-1}$.

Tabela 37. Percentual de germinação de sementes de alface comercial em placas de Petri submetidas a tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de 5,0 gL⁻¹.

Compostos químicos	Tratamento			³ Germinação de alface (%)
	Água (mL)	¹ CH ₂ Cl ₂ (mL)	² Concentração (g.L ⁻¹)	
Controle positivo	3	0	0	100,0 a
Controle negativo	3	2	0	100,0 a
Limoneno	3	2	5	100,0 a
Mentofurano	3	2	5	22,7 c
Eucaliptol	3	2	5	100,0 a
Sabineno	3	2	5	98,0 a
α-Pineno	3	2	5	72,7 b
Menthona	3	2	5	100,0 a
α-Terpineol	3	2	5	0,0 d
Neomentol	3	2	5	65,3 b
Pulegona	3	2	5	64,7 b
Mentol	3	2	5	0,0 d

¹Diclorometano. ²Concentração grama do composto químico por litro de diclorometano.

³Letras iguais resultado não significativo (Fisher 5%).

Neste trabalho observou-se que a utilização das sementes de alface e tomate, como parâmetro para avaliar o efeito dos extratos de plantas medicinais na germinação, tem mostrado ser um bom método (SOUZA et al, 2002), principalmente, em relação a alguns fatores. Primeiro, quanto ao tempo, pois as sementes germinam em poucos dias em condições ideais (entre 4 e 6 dias para a alface e 5 e 10 dias para o tomate), proporcionando rápidos resultados. Segundo, quanto ao espaço, pois os testes podem ser realizados em placas de Petri e facilmente manipulados em câmara de germinação. Por último, quanto ao baixo custo de execução. Contudo, torna-se importante a realização destes testes com outras sementes, tanto de plantas cultivadas quanto de plantas invasoras, uma vez que os resultados obtidos não podem ser estapolados para todos os tipos de sementes.

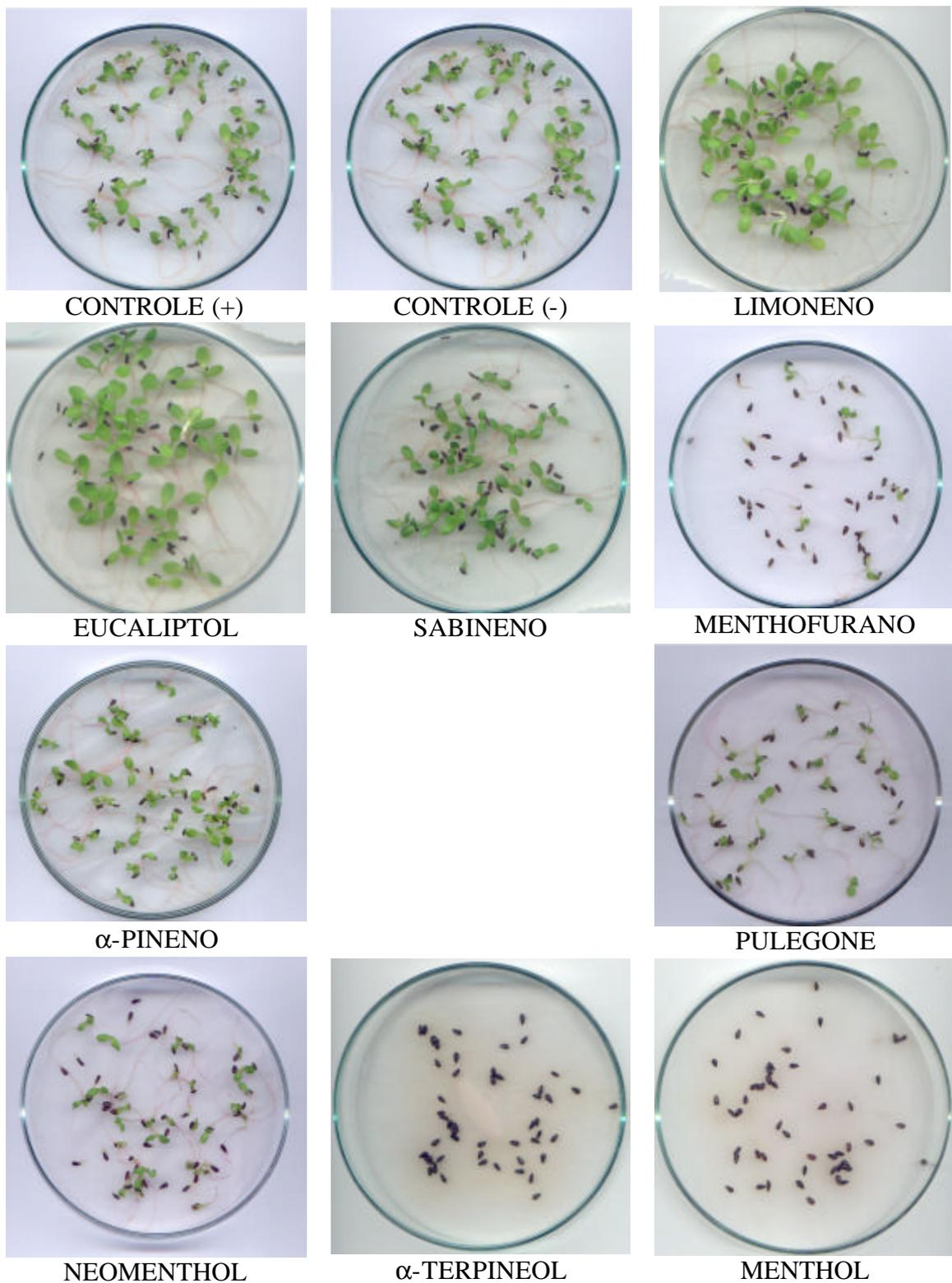


Figura 23. Imagem das placas de Petri contendo as sementes de alface submetidas ao tratamento com diferentes substâncias puras diluídas em diclorometano na concentração de $5,0 \text{ g.L}^{-1}$.

Provavelmente, utilizando-se sementes de outras espécies de plantas, os resultados poderiam apresentar-se diferentes. Na literatura tem-se encontrado diversos trabalhos utilizando sementes de plantas invasoras, de árvores e de plantas cultivadas como base para o estudo de bioatividade de produtos naturais ou para verificar efeitos alelopáticos (GABRIEL et al., 2002; PIRES et al., 2001; PIÑA-RODRIGUES et al., 2001; PRATES et al., 2000; SOARES et al., 2000; CRUZ et al., 2000; SOUZA, 1997).

Os resultados encontrados confirmaram a existência da atividade biológica do óleo essencial de hortelã, além disso, foi constatado que algumas substâncias presentes no óleo estão atuando como inibidores da germinação de sementes ou do crescimento de fungos fitopatógenos. Estes dados apontam para a possibilidade de aplicação, do óleo essencial, como dos seus componentes, na agricultura com diferentes finalidades, como o controle de fitopatógenos e ação antigerminativa.

5. CONCLUSÕES

A produção de massa na parte aérea da hortelã foi estimulada nos tratamentos com maiores doses de N e P. Os tratamentos com menores doses de P estimularam maior produção de massa de raízes e limitaram a produção de massa nas folhas;

O cultivo hidropônico de plantas de hortelã apresentou-se como uma alternativa viável visando à produção de óleos essenciais, sendo a melhor época de coleta aos 29 dias após o transplântio (DAT) onde houve os maiores rendimentos de óleo essencial nos tratamentos com menores doses de N. No entanto, se o objetivo for a produção de massa seca deve-se considerar coletas aos 64 dias após o transplântio, pois houve maior produção de biomassa na parte aérea, nos tratamentos com maiores doses de N.

Os resultados encontrados neste trabalho indicam que para a produção de óleos essenciais, as soluções nutritivas de cultivo das plantas de hortelã devem ter conteúdos adequados de P associados a teores de N que não promovam o crescimento exagerado da planta, neste caso, o tratamento 4 (e coleta aos 29 DAT). E para a produção de hortelã *in natura*, devem ser fornecidos às plantas teores de N e P que promovam o maior desenvolvimento da parte aérea, portanto, neste caso, o tratamento 1 (120 mg N. L⁻¹ e 16 mg P. L⁻¹) é indicado para o cultivo hidropônico, com coletas entre 49 e 64 DAT.

A composição química do óleo essencial de hortelã variou em função da época de coleta e do tratamento as quais as plantas foram submetidas e o constituinte químico majoritário encontrado no óleo de hortelã foi o óxido de piperitenona, um artefato da oxidação da piperitenona.

O óleo essencial de hortelã, obtido neste experimento, bem como alguns dos seus constituintes químicos, possui atividade biológica sobre o desenvolvimento *in vitro* dos fungos *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* e sobre a germinação de sementes de alface e tomate.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Torna-se necessário um estudo mais detalhado que promova um entendimento mais profundo das relações existentes entre o metabolismo primário e o secundário.

O estudo das atividades enzimáticas nas vias de seqüestro de carbono para a assimilação de N e produção de metabólitos secundários, em diferentes condições nutricionais, irá promover um entendimento químico-biológico dos acontecimentos micro e macroscópicos que ocorrem na planta de hortelã.

A compreensão dessas interações metabólicas pode favorecer a produção de tecnologias apropriadas para o cultivo da planta de hortelã e, conseqüentemente, a obtenção de matéria-prima e derivados com melhor qualidade e maior produtividade.

O estudo dos mecanismos envolvidos com a atividade biológica de substâncias químicas naturais pode abrir caminho para a construção e síntese de moléculas ativas com aplicação na agricultura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, I.N. *et al.* Nitrogênio e fósforo na produção vegetal e na indução de mucilagem em plantas de insulina. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.20, n.4, p.536-540, dez. 2002.
- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy**. New york: Allured Publishing, 1995. 325p.
- ALMEIDA, E. R. **As plantas medicinais brasileiras**. São Paulo: Hemus, 1993. 339p.
- AMOROZO, M.C.M. A abordagem entobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C.(ed). **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista. 1996. Cap.5, p.47-68.
- AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Bot. Bras.** Brasil, vol.16, n.2, p.189-203, abr. 2002
- BACCHI, E.M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: DI STASI, L.C.(ed). **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. Cap.12, p.169-186.
- BARBOSA FILHO, J.M. Lignanais, neolignanais e seus análogos. In: SIMÕES, C.M.O et al. (ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001. Cap.22, p. 481-498.
- BETIOL, W. Resultado de pesquisa com métodos alternativos para o controle de Doenças de plantas. In: HEIN, M. (ed). **Resumo do 1º encontro de processos de proteção de plantas: controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu, SP: Editora agroecológica, 2001. cap.13, p.125-135.
- BORGES, E.A. **Absorção, acúmulo e remobilização de nitrogênio em variedades de milho (Zea Mays L.)**. 2004. 67p. Tese (PhD. em Agronomia, Ciência do Solo). Insytuto de Agronomia, Departamento de Solos, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2004.
- BORN, G. C. C. **Plantas medicinais da Mata Atlântica (Vale do Ribeira – SP): extrativismo e sustentabilidade**. 2000. 110p. Tese (Doutorado em agronomia). São Paulo: Universidade de São Paulo. 2000.
- BRUGNERA, A.; CARDOSO D.; BOUERI, M.A. e MALUF, W.R. **Cultivo e propriedades medicinais da hortelã**. Boletim Técnico de Hortaliças. n.34, Julho, 1999. Disponível em: <<http://www3.ufla.br/~wrmaluf/bth034/bth034.html>>. Acesso em 10 jan. 2006.
- BUCHER, C. A. ; SOUZA, S.R ; FERNANDES, M.S . Effects of Fusicoccin and Vanadate on Proton Extrusion and Potassium Uptake by Rice. **Journal of Plant Nutrition**, v.70, p.533-539, 2004.
- BUCHER, C. A. MATIA, G. C. S. S ; NICOMEDES JUNIOR, J; ARAÚJO; O. J. L.; STARK; E. M. L. M; FERNANDES, M. S.; SOUZA S. R. Frações nitrogenadas e açúcares solúveis nas partes de Pimenta longa cultivada sob duas doses de N-NO₃. In: Anais da Fertbio 2002, 2002. Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro:UFRRJ, 2002. 1 CD

CASTELLANE, P.D.; ARAUJO, J.A.C. de. **Cultivo sem solo: hidroponia**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 43p.

CATALDO, D.; HARRON, M.; SCHARADER, L. E. & YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, US, v.6, p.853-855, 1975.

CHALFOUN, S. M. & CARVALHO, V. D. de. Efeito do extrato e óleo de alho (óleo industrial) sobre o desenvolvimento de fungos. **Fitopatol. bras.** v.12, p.230-231.1987a.

CHALFOUN, S. M. & CARVALHO, V. D. Inibição do crescimento do miscelial de *Giberella zeae* (*Fusarium graminearum*) através de tratamentos com extrato de alho e fungicida captafol. **Fitopatol. Bras.** v.12, p.232-233. 1987b.

COMETTI, N.N. **Nutrição Mineral da Alface (*Lactuca sativa* L.) em Cultura Hidropônica - Sistema NFT**. 2003, 106p. Tese (PhD. em Agronomia, Ciência do Solo). Insyituto de Agronomia, Departamento de Solos, UFRRJ, Seropédica, RJ, 2003

CORRÊA JÚNIOR, C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2ª ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162 p.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M. E LEWIS, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM,W.; JONES, R. (ed). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. USA: American Society of Plant Biologists, 2000. Cap.24, p.1250-1318.

CROTEAU, R. Biosynthesis and Catabolism of Monoterpenoids. **Chemical Reviews**. U.S.A., v.87, n.5 p.929-954, 1987.

CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H., BATISTA, M.A. Plantas medicinais: plantas medicinais e alelopatia. **Biociência & Desenvolvimento**, Brasília, v.3, n.15, p.28-34, 2000.

CUNHA, A.P. **Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia**. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos_historicos.pdf> Acessado em 19 dez. 2005.

CZEPAK, MP. Produção de óleo bruto e mentol cristalizável em oito frequências de colheita da menta (*Mentha arvensis* L.). In: MING, L.C. et al. (ed) **Plantas medicinais aromática e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. 2v. 238p.

DEFFUNE, G. Fitoalexinas e resistência sistêmica vegetal: a explicação dos defensivos naturais. **Agroecologia Hoje**, v.1, n.06, p.6-8, 2001.

DI STASI, L.C. Arte, ciência e magia. In: ---. **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista. 1996. Cap.1, p.15-22.

DI STASI, L.C. Conceitos Básicos na Pesquisa de Plantas medicinais. In: ---. **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista. 1996. Cap. 2, p.23-28.

DI STASI, L.C. **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. 323p.

DI STASI, L.C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In: ---. **Plantas Mediciniais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista. 1996. Cap. 9, p.109-128.

DI STASI, L.C; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na mata atlântica**. 2.ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002. 604p

DIAS, T.A. Medicinal plants in Brazil. In: Newsletter-G-15. **Gene Banks for Medicinal & Aromatic Plants**. n.7/8, 1995. p.4.

DRAGAR, V.A.; MENARY, R.C. Mineral nutrition of *Olearia phlogopappa*: effect on growth, essential oil yield, and composition. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v.26, n.7/8, p.1299-1313, 1995.

ECHEVERRIGARAY, E. *et al.* Cultura de tecidos e micropropagação de plantas aromáticas e medicinais. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J;L. (ed.). **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. Cap.7, p.257-278.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap. 6, p.91-104. 2001.

FALKENBERG, M.B. Quinonas. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap.25, p. 555-580.

FAROOQI, A.H.A.; SANGWAN, N.S. e SANGWAN, R.S. Effect of different photoperiodic regimes on growth, flowering and essential oil in *Mentha* species. **Plant Growth Regulation**, v.29, p.181-187, 1999.

FELKER, P. Micro determination of nitrogen in seed protein extracts. **Analytical Chemistry**, v.49, 1980, 1977.

FERNANDES, P.C. *et al.* Cultivo de manjeriço em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.2, p.260-264, abr./jun. 2004.

FERNENDES, M.S. Efeitos de fontes e níveis de nitrogênio sobre a absorção e assimilação de N em arroz. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 2, n.1, p.1-6, 1990.

FERREIRA, S.H. (org.). Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Rio de Janeiro: **Academia Brasileira de Ciências**, 1998. 141p.

FREIRE, MFI; SOUZA, SR; BERBARA, RLL; ABREU, HS. *Vernonia scorpioides* (lam.) Pers. Asteraceae - determinação de fatores nutricionais relacionados a produção de princípio ativo. **Floresta e Ambiente**. v.5, n.1, p.135-138, jan./dez. 1998.

FREITAS, M.S.M; MARTINS, M.A. e VIEIRA, I.J.C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.9, p.887-894, set. 2004.

FURLAN, M.R. Aspectos agrônômicos em plantas medicinais. In: DI STASI, L.C.(ed). **Plantas Mediciniais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista. 1996. Cap. 11, p.157-168.

FURLAN, MARCOS ROBERTO. **Cultivo de Plantas Mediciniais**. Coleção Agroindústria, 13. Cuiabá, Mato Grosso: Edição SEBRAE, 1998. 137p.

FURLANI, P.R. *et al.* **Cultivo hidropônico de plantas**. Boletim técnico 180. Campinas: Instituto Agrônômico, 1999. 52p.

FURLANI, P.R. *et al.* Nutrição mineral de hortaliças, preparo e manejo de soluções nutritivas. **Inf. Agropec.**, Belo Horizonte, v.20, n.200/201, p.90-98, 1999.

GABRIEL, A. J. A. ; LIMA, M. E. F. ; SOUZA, M. A. A. ; SOUZA, S. R. . Germinação de sementes de alface e de duas ervas invasoras com a aplicação de um novo análogo do estrigol, sintetizado a partir do safrol. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.20, n.4, p.544-546, 2002.

GARCIA, E.S. *et al.* Fitoterápicos. In: CANHOS, V.P. (ed.). **Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas**. Campinas: BDT, Cap.10. 1994. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/padct/bio/cap10/>>. Acesso em 21 set. 2005.

GERSHENZON, J.; MCCONKEY, M.E. e CROTEAU, R.B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**. v. 122, p. 205-213, jan. 2000.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna-SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 78p.

GONZAGA, D.S.O.M. & RODRIGUES, V.G. **Hortelã-pimenta: *Mentha piperita* L.** Folder 09, Série Plantas Mediciniais. Brasília: EMBRAPA. Disponível em: <http://www.cpafrro.embrapa.br/embrapa/infotec/hortela_pim.PDF>. Acesso em 10 jan. 2006.

GOTTLIEB, O. R. Evolução química vegetal. *Ciência e Cultura*, v.39, p.357-360, 1987.

GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R.M.B. **Biodiversidade: Um enfoque químico-biológico**. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 1996. 268p.

GOTTLIEB, OR AND BORIN, MRM. Quantitative Chemobiology: A Guide into the Understanding of Plant Bioactivity. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.13, n.6, p.772-776, out. 2002.

GUARIM NETO, G. A importância da flora amazônica para uso medicinal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, p.159-161, suplemento, 1997.

HEIN, M. **Resumo do 1º encontro de processos de proteção de plantas: controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu, SP: Editora agroecológica. 2001. 196p.

HENRIQUES, T.A.; KERBER, V.A.; MORENO, P.R.H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C.M.O *et al.*(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001. Cap.29, p. 651-666.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural of Experimental**. Stn. Bull, v.347, p.1-32, jan. 1950.

INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. **Mercosul investe em fitoterápicos para Agricultura Familiar**. Notícias. Brasília, DF. Setembro de 2004. Disponível em: <<http://www.incra.gov.br/noticias/news/>>. Acesso em 19 set. 2005.

JUNIOR, WG; TEIXEIRA, NT; ALMEIDA, FD; JANINI, MJDM. Cultivo orgânico, mineral, organo-mineral e hidropônico do Manjeriço. In: Fertbio 2004. 2004, Lages. **Anais...** Santa Catarina: SBCS, Suplemento. 2004.

KAROUSOU, R. *et al.* Effects of enhanced UV-B radiation on *Mentha spicata* essential oils. **Phytochemistry**. v.49, n.8, p.2273-2277. 1998

KOKKINI, S.; HANLIDOU, E. e KAROUSOU, R. Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. **J. Essent. Oil Res.**, v.16, p.588-593. Nov./Dec., 2004.

KOTHARI, S.K.; SINGH, V.; SINGH, K. Effect of rates and method of P application on herb and oil yields and nutrient concentrations in Japanese mint (*Mentha arvensis* L.). **Journal of Agricultural Science**, v.108, n.3, p.691-693, jun. 1987.

KUSTER, R.M. & ROCHA, L.M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap.21, p. 461-480.

LEÃO, M.G.; RIBEIRO, K.L.M.S. **Plano municipal de desenvolvimento rural comodoro: Sub-projeto de plantas medicinais**. Cuiabá, MT. Brasil. 1999. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/finalcomodoro.pdf>>. Acesso em 15 set. 2005.

LEITE, S. N. **Além da medicação: A contribuição da fitoterapia para a saúde pública**. 2000, 97p. Dissertação (Mestrado, Faculdade de Saúde Pública). São Paulo: Universidade de São Paulo, 2000.

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

LOURENZO, D. *et al.* Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of biology and technology**. v.45, n.4, p.519-524. dez. 2002.

MAGALHÃES, P. M. de. **O caminho medicinal das plantas: aspectos sobre o cultivo**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1997. 127p.

MAIA, NB. Efeito da nutrição mineral na qualidade do óleo essencial da menta (*Mentha arvensis*) Cultivada em solução nutritiva. In: MING, L.C. et al. (ed.) et **Plantas medicinais aromática e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. 2v. 238p

MAIA, NB; CARMELLO, QAC; MARQUES, MOM. Sistema automático de fornecimento de solução nutritiva para cultivo hidropônico de plantas em vasos. **Sci. agric**. Piracicaba. v.56, n.1, p.00-00, jan. 1999.

MARASCHIN, M.; VERPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário: otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.2, n.10, p.24-28, 1999.

MARQUES, L.C., **Produção e comercialização de fitoterápicos no Paraná: Uma abordagem de vigilância sanitária**. 1992. 92p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1992.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELELLANI, D.C. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: Edição Imprensa Universitária/UFV, 1995. 220 p.

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

MARTINS, P.M. **Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e composição química do óleo essencial de capim-limão**. 2000. 77p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, 2000.

MATTOS, J.K. de A. Tendências fitotécnicas e econômicas de espécies vegetais utilizadas na medicina popular. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, p.161-162, Palestra. Suplemento. 1997.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**. Brasília, v.26, n.2, p.231-238, jun. 2003

MCCONKEY, M.E.; GERSHENZON, J. e CROTEAU, R.B. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**. v.122, p.215-223, Jan. 2000.

MELLO, J.C.P. & SANTOS, C.S. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap.24, p. 527-554.

MING, L.C. *et al.* Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, n.426, p.555-559, 1996.

MOYNA, P & MENÉNDEZ, P. Biotransformação de produtos naturais. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J;L. (ed.). **Biotechnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. Cap.5, p.201-226.

NEVES, M.C.M. **Plantas medicinais: diagnóstico e gestão**. Série meio ambiente em debate. v.35. Brasília: Ed. IBAMA, 2001. 52p.

OCAMPOS, R.K.; LAURA, V.A.; CHAVES, F.C.M. Efeito de diferentes formas de adubação em hortelã rasteira: biomassa e teor de óleo essencial. In: Congresso Brasileiro de Olericultura. 2002. Uberlândia. **Resumos...** Minas Gerais: SOB/Horticultura Brasileira, v.20, n.2, Suplemento 2, jul. 2002. 1 CD.

OLIVEIRA, A.P. *et al.* Rendimento de coentro cultivado com doses crescentes de N. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.1, p.81-83, mar. 2003.

OLIVEIRA, JEZ; AMARAL, CLF E CASALI, VWD. **Recursos genéticos e perspectivas do melhoramento de plantas medicinais**. Disponível em: <http://www.cpatas.embrapa.br/livrorg/medicinais/melhoramento.doc>. Acesso em 12 set. 2004.

OLIVEIRA, V.A. *et al.* Efeito da adubação mineral e orgânica sobre a produção de biomassa e óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf). **Pro Homine**. Lavras/UNILAVRAS, v.1, n.1, p.24-27.jul./dez. 2002.

PAULUS, D. *et al.* Teor e qualidade de óleo essencial de menta em hidroponia. In: Congresso Brasileiro de Olericultura. 2004, Fortaleza. **Resumos...** Ceará: SOB/Horticultura Brasileira, v. 22, n2, jun. 2004. 1 CD.

PENONI, S. A. **Modificações na Composição Química e Atividade Antibacteriana de Duas Cultivares de Alho (*Allium sativum* L.) Durante o Armazenamento Pós-Colheita em Condições Ambientais.** 1993. 111p. Dissertação (Mestrado em agronomia). Escola Superior de Agricultura de Lavras, MG, 1993.

PENTEADO, S.R. A utilização dos defensivos alternativos na agricultura: histórico e perspectivas. In: HEIN, M. (ed). **Resumo do 1º encontro de processos de proteção de plantas: controle ecológico de pragas e doenças.** Botucatu, SP.: Editora agroecológica. 2001. cap. 2, p.13-21.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M; LOPES, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v.8, n.1, p.130-136, 2001.

PIRES, N.M. *et al.* Atividade alelopática da leucena sobre espécies de plantas daninhas. **Scientia Agrícola**. São Paulo, v.58, n.1, p.61-65, 2001.

PLETSCH, M. Compostos Naturais Biologicamente Ativos: Aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.1, n. 04, p.12-15, 1998.

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

PRATES, H.T. *et al.* Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.35, n.5, p.909-914, 2000.

RATES, S.M.K. & BIRIDI, R. Heterosídeos cardioativos. In: SIMÕES, C.M.O *et al.*(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap.26, p. 581-606.

REIS, M.S. & MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O *et al.*(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap.4, p. 41-62.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agrícola**, v.56, n.4, p.1267-1271, out./dez. 1999. Suplemento.

RODRIGUES, C.R. *et al.* Efeito de concentrações de P na solução nutritiva sobre o crescimento da menta (*Mentha piperita* L.). **Horticultura Brasileira**, v.20, n.2, Suplemento 2, jul. 2002a.

RODRIGUES, C.R. *et al.* Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.573-578, jul./set. 2004.

RODRIGUES, C.R. *et al.* Efeito da relação $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ e concentrações de K na solução nutritiva sobre o crescimento da menta (*Mentha piperita* L.). **Horticultura Brasileira**, v.20, n.2, Suplemento 2. jul. 2002b.

RODRÍGUEZ, F.J.M & MÉNDEZ, J.B.J. La medicina tradicional en las universidades médicas. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v.2, n.1, p.35-41, jan. 1997

RUIZ DEL CASTILLO, M.L.; BLANCH, G.P. e HERRAIZ, M. Natural variability of the enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita*. **Journal of Chromatography**, v.1054, p.87-93, dez. 2004.

SACRAMENTO, L.V.S. & CAMPOS, M.J.B. Cultivo de hortelã: produção de matéria seca e marcha de absorção de cálcio. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.2, Suplemento 2, jul. 2002.

SAITO, M. L; LUCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998, 46p.

SANDES, A.R.R. & DI BLASI, R. Biodiversidade e Diversidade Química e Genética: Aspectos Relacionados com a Propriedade Intelectual no Brasil. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.13, p.28, mar./abr. 2000.

SANTOS, M.M.F.B. Efeito do extrato de duas formas de *Lippia allba* sobre o fungo *Colletotrichum gloesporioides* (penz.), isolados de Citrus. In: MING, L.C. et al. **Plantas medicinais e aromáticas: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998, p.193-217.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001.Cap.16, p.333-364.

SARTORATTO, A. *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.35, p.275-280. mai. 2004.

SAVASTANO, M.A.P. & DI STASI, L.C. Folclore: conceitos e metodologia. In: DI STASI, L.C.(ed). **Plantas Medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista. 1996. cap.4, p.37-46.

SERAFINI, L.A.; CASSEL, E. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (ed.). **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. Cap.9, p.333-378.

SILVA, E. B. **Uso das plantas medicinais pelos moradores do Engenho Uchôa**. Recife, 1997. 49p.

SIMÕES, C.M.O. & SCHENKEL, E.P. **A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia**. Ministério do desenvolvimento Ind. e Com: Brasil/Brasília. 2001. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivo/sti/publicacoes/futAmaDilOportunidades/rev20011219_08.pdf>. Acesso em 19 set. 2005.

SIMÕES, C.M.O. & SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001. Cap.18, p. 397-425.

SINGH J.N.; SINGH, D.P. Effect of phosphorus deficiency on carbohydrate metabolism of *Mentha arvensis*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.21, p.1341-1347, dez. 1968.

SMITH, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, v.132, p.1-45, jan. 1996.

SOARES, G.L.G; VIEIRA, T.R. Inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (cv. "Grand Rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v.7, n.1, p.180-197, abr. 2000.

SOUSA, J.A.; MIRANDA, E.M. **Plantas medicinais e fitoterápicos: alternativas viáveis**. Artigos da Embrapa Acre, Rio Branco, Acre, Brasil. 2003. Disponível em: <<http://www.cpfac.embrapa.br/chefias/cna/artigos/planmed.htm>>. Acesso em 21 set. 2005.

SOUZA, C.L.M. **Potencial alelopático das palhas de capim-colômbio (*P. maximum*), capim-jaraguá (*H. rufa*), capim gordura (*M. minutiplora*), mucuna (*S. atterinum*) e bambú (*Bambusa spp*) nas culturas de cenoura e alface**. 1997. 93p. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 1997.

SOUZA, M. P. *et al.* **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**, Laboratório de produtos naturais, Fortaleza: EUFC, 1991. 397p.

SOUZA, M.A.A. *et al.* Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento miscelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. **Revista Universidade Rural**, Serie Ciências da Vida, Seropédica. v.22, n.2, p. 181-185, Suplemento. 2002.

SOUZA, M.A.A.; SOUZA, S.R. Determinação das propriedades fungicidas do extrato metanólico de arruda (*Ruta graveolens* L.) em ensaio *in vitro* com fungos de solo. In: Anais da Fertbio 2000, 2000, Santa Maria. **Anais...** Rio Grande do Sul: SBCS, Resumo 928. 2000.

SOUZA, S.R. **Efeitos da aplicação foliar de nitrogênio pós-antese sobre as enzimas de assimilação de N e acúmulo de proteína em grãos de arroz** Tese (PhD. em Agronomia, Ciência do Solo) UFRRJ, Seropédica, RJ, 1995. 152p.

STANGARLIN, J. R. *et al.* Plantas Mais: Plantas Medicinais e controle alternativo de fitopatogênicos. **Biotecnologia - Ciência e Desenvolvimento**. n.11, p.16-21, nov. 1999.

STOESSL, A. Secondary plant metabolites in plant disease resistance. Part I: preformed resistance factors. **Fitopatologia Brasileira**. v.10, p.391-416, out. 1985.

STOESSL, A. Secondary plant metabolites in plant disease resistance. Part II: phytoalexins. **Fitopatologia Brasileira**. v.11, p.25-53, mar. 1986.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1996. 1000p.

TEDESCO, M. J. **Extração simultânea de N, P, K, Ca e Mg em tecido de plantas por digestão com H₂O₂-H₂SO₄**. Rio Grande do Sul: Editora UFRGS, 1982. 23p.

TEIXEIRA, N.T. **Hidroponia: uma alternativa para pequenas áreas**. Rio Grande do Sul: Ed. Guaíba, 1996. 86 p.

TURNER, G.W.; GERSHENZON, J. e CROTEAU, R.B. Distribution of Peltate Glandular Trichomes on Developing Leaves of Peppermint. **Plant Physiology**, v.124, p.655-663, Oct. 2000.

VITAL, W. M.; N.T.TEIXEIRA e R. SIGHIHARA. Soluções nutritivas para o cultivo hidropônico, sistema NFT, de calêndula. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. 2001, Londrina. **Anais...** Paraná: SBCS, 2001.

YEMM, E. W. & COCKING, E. C. The determination of amino-acid with ninhydrin. **Analytical Biochemistry**, v.80, p.209-213, nov. 1955.

YEMM, E. W. e WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plants extracts by anthrone. **Biochemistry**, v.57, p.508-514, mar.1954.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O et al.(ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC, 2001. Cap.23, p. 499-526.

8. ANEXOS

Anexo I. Estrutura química e nome de alguns terpenos encontrados em plantas produtoras de óleos essenciais.....	85
Anexo II. Composição de sais utilizado para o preparo das soluções nutritivas referentes aos tratamentos 1, 2, 3 e 4.....	87

Anexo I. Estrutura química e nome de alguns terpenos encontrados em plantas produtoras de óleos essenciais (continua).

linalool	?-cimen-8-ol	? -cimeno	sabineno	mirreno
<i>α</i> -pineno	<i>β</i> -pineno	borneol	canfor	fenchona
limoneno	1,8-cineol	mentona	mentofurano	isomentona
mentil acetato	neomentol	isomentol	mentol	<i>α</i> -terpineno
?-terpineno	terpinoleno	terpinen-1-ol	terpinen-4-ol	<i>α</i> -terpineol
carvone	timol	carvacrol	ocimenona	pulegone

* Composto químico encontrado nos óleos essenciais de folhas de hortelã e identificado segundo comparações com: padrões autênticos, dados de espectro de massa da literatura (ADAMS, 1995) e dados obtidos das bibliotecas espectrais.

Anexo I. Continuação.

6-oh-carvotonacetona	Piperitenona	óxido de piperitenona	Isopiperitona	trans-isopiperitenol
Piperitona	germacreno d	trans-cariofileno	cubenol	eudesmol
?-cadineno	d-cadineno	calameneno	globolol	espatulenol

* Composto químico encontrado nos óleos essenciais de folhas de hortelã e identificado segundo comparações com: padrões autênticos, dados de espectro de massa da literatura (ADAMS, 1995) e dados obtidos das bibliotecas espectrais.

Anexo II. Composição de sais utilizado para o preparo das soluções nutritivas referentes aos tratamentos 1, 2, 3 e 4.

Composição do Sal		Tratamentos			
		T1	T2	T3	T4
Macronutrientes	Categoria	----- g.100 L ⁻¹ -----			
Nitrato de Potássio	Com*	70,46	46,15	70,46	46,15
Sulfato de Magnésio 7H ₂ O	PA**	19,27	19,27	19,27	19,27
Nitrato de Cálcio 4H ₂ O	PA	23,95		23,95	
MKP	Com	6,96	6,96	1,74	1,74
Sulfato de Potássio	PA		18,94	3,34	22,28
Sulfato de Cálcio	PA	4,25	16,98	4,25	16,98
Micronutrientes		----- g.1000 L ⁻¹ -----			
Fe-EDDHMA (Tenso Fe pó)	Com	3,3333	3,3333	3,3333	3,3333
Ác. Bórico	PA	0,1716	0,1716	0,1716	0,1716
Sulfato de Cobre 5H ₂ O	PA	0,0079	0,0079	0,0079	0,0079
Sulfato de Manganês	PA	0,1538	0,1538	0,1538	0,1538
Sulfato de Zinco 7H ₂ O	PA	0,0264	0,0264	0,0264	0,0264
Molibdato de Sódio Anidro	PA	0,0129	0,0129	0,0129	0,0129

* produto comercial. ** Pró-análise

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)