

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS,
FISIOLÓGICAS E DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DE *Melissa officinalis* L. (LAMIACEAE), EM
FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA,
INTENSIDADE E QUALIDADE DE LUZ**

RENATA DA SILVA BRANT

2008

RENATA DA SILVA BRANT

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Melissa officinalis* L. (LAMIACEAE), EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA, INTENSIDADE E QUALIDADE DE LUZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Ph.D. José Eduardo Brasil P. Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Brant, Renata da Silva.

Características anatômicas, fisiológicas e de óleos essenciais de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) em função da adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz / Renata da Silva Brant. -- Lavras : UFLA, 2008.

138 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

Bibliografia.

1. Erva cidreira verdadeira. 2. Plantas medicinais e aromáticas. 3. Clorofilas.
4. Biomassa. 5. Índices fisiológicos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.88387

RENATA DA SILVA BRANT

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Melissa officinalis* L. (LAMIACEAE), EM FUNÇÃO DA
ADUBAÇÃO ORGÂNICA, INTENSIDADE E QUALIDADE DE LUZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 29 de fevereiro de 2008.

Prof ^ª . Dr ^ª . Maria Aparecida Vilela de Resende Faria	UNIMONTES
Pesquisadora Dr ^ª . Vânia Aparecida Silva	EPAMIG/CTNM
Prof. Dr. Daniel Melo de Castro	UFLA
Prof ^ª . Dr ^ª . Patrícia Duarte de Oliveira Paiva	UFLA

Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

AGRADECIMENTOS

A Deus por tanta perfeição e beleza, pela vida, saúde, ajuda e sustentação em todos os momentos.

Agradeço muito à família maravilhosa que tenho. Aos meus pais, Marta e Jerônimo, pelo amor constante, união, incentivo, carinho, por todos ensinamentos de vida e caráter, e por ter tido a oportunidade de ser sua filha, pois, com certeza, vocês são os responsáveis pelo bom e bem que existe em mim. Aos meus irmãos, Rogéria, Luciana, Rogério, Marcelo, Andréa e Nádia, pelo companheirismo, carinho e amor existente entre todos nós.

Ao Carlos Juliano pelo companheirismo, amor, carinho, ajuda e estímulos constantes, agradeço imensamente.

Ao prof. José Eduardo Brasil Pereira Pinto, pela orientação, respeito, ajuda e ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora pela presteza e boa vontade.

À profa. Suzan Kelly Vilela Bertolucci, pela atenção e ensinamentos.

Aos professores do Departamento de Agricultura por todos os ensinamentos.

Às minhas amigas Vanisse, Flávia, Louise, Tathi e Letícia e aos meus amigos Lucrécio, José Luiz e Paulo, que sempre estiveram ao meu lado e foram imprescindíveis na minha vida em Lavras.

À Kênia, pelos anos de convivência, de muito aprendizado juntas, de companheirismo e ajuda.

Aos meus colegas Gustavo, Fábio, Sirley, Jorge, Vanessa Theodoro, Ricardo, Priscila, Luciana, Érika, Vivian, Renake, Roseane, Helen, Larissa, Cynthia, e Carolina.

Ao Evaldo Arantes de Souza, pela colaboração e amizade. Ao Sr. Geraldo Luiz da Silva, Luiz Gonzaga do Carmo e ao Dico, por terem ajudado na condução dos experimentos e boa vontade.

Aos professores e todo pessoal dos laboratórios: Laboratório de Microscopia Eletrônica, Laboratório de Anatomia Vegetal e Fisiologia Vegetal.

À CAPES, CNPq e FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro.

À Universidade Federal de Lavras e aos professores de toda a caminhada estudantil que percorri, todos têm a sua contribuição.

A todos vocês e àqueles que contribuíram de alguma forma, agradeço intensamente.

Esse trabalho é nosso!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO I.....	01
1 Introdução Geral.....	02
2 Revisão de literatura.....	03
3 Referências Bibliográficas.....	12
CAPÍTULO II- Fontes e doses de adubo orgânico no crescimento, teor e composição de óleo essencial de melissa em cultivo protegido.....	16
Resumo.....	17
Abstract.....	17
1 Introdução.....	18
2 Material e métodos.....	20
3 Resultados e discussão.....	25
4 Conclusões.....	38
5 Referências Bibliográficas.....	38
CAPÍTULO III- Características fisiológicas de crescimento, quantidade e qualidade do óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. cultivada sob malhas termo-refletoras em diferentes intensidades luminosas.....	42
Resumo.....	43
Abstract.....	43
1 Introdução.....	44
2 Material e métodos.....	46
3 Resultados e discussão.....	50
4 Conclusões.....	61
5 Referências Bibliográficas.....	62
CAPÍTULO IV- Características fisiológicas e anatômicas de <i>Melissa officinalis</i> L. (Lamiaceae) cultivada sob malhas termo-refletoras.....	65
Resumo.....	66
Abstract.....	66
1 Introdução.....	67
2 Material e métodos.....	69
3 Resultados e discussão.....	74
4 Conclusões.....	82

5 Referências Bibliográficas.....	83
CAPÍTULO V- Crescimento, teor e qualidade do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras.....	86
Resumo.....	87
Abstract.....	87
1 Introdução.....	88
2 Material e métodos.....	90
3 Resultados e discussão.....	95
4 Conclusões.....	103
5 Referências Bibliográficas.....	104
CAPÍTULO VI- Características fisiológicas e anatômicas de <i>Melissa officinalis</i> L. (Lamiaceae) cultivada sob malhas fotoconversoras.....	107
Resumo.....	108
Abstract.....	108
1 Introdução.....	109
2 Material e métodos.....	111
3 Resultados e discussão.....	116
4 Conclusões.....	125
5 Referências Bibliográficas.....	125
ANEXOS.....	129

RESUMO GERAL

BRANT, Renata da Silva. **Características anatômicas, fisiológicas e de óleos essenciais de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae), em função da adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz.** 2008. 138 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da adubação orgânica, da intensidade e da qualidade de luz em características fisiológicas, anatômicas e de óleos essenciais de *Melissa officinalis* L (experimentos I, II e III). Os tratamentos dos experimentos consistiram em: emprego da adubação orgânica com a aplicação de 0, 30, 60, 90 e 120 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 15, 30, 45 e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹; emprego das intensidades de luz de 20%, 60% e 100%, utilizando malhas termo-refletoras e emprego das malhas preta, azul, vermelha e plantas sob pleno sol. No experimento I, os tratamentos que proporcionaram maior crescimento das plantas com maior incremento de folhas secas, bem como teor, rendimento de óleo essencial e de citral de *Melissa officinalis* L. foram aqueles com a aplicação de esterco bovino na dose de 60 t.ha⁻¹ e para o avícola ocorreu nas doses de 30 e 60 t.ha⁻¹. No experimento II verificou-se que as características fisiológicas indicaram que o uso do sombreamento por meio de malhas termo-refletoras favorece o crescimento da planta. O emprego de 20% e 60% de intensidade luminosa proporcionou altas produções de biomassa seca de folhas. Não houve diferença para teor do óleo essencial, enquanto o seu rendimento foi maior sob sombreamento. Já o teor de citral foi superior a 60% de intensidade luminosa. Plantas submetidas a 20% de intensidade luminosa tiveram maior quantidade de clorofila *a* e, portanto, maior razão clorofila *a/b*. As folhas de melissa a pleno sol e a 60% de luz tiveram células da epiderme na face superior mais espessas, mas as células da epiderme da face inferior mostraram características encontradas em folhas de sombra, ou seja, mais finas. Quanto maior a intensidade luminosa, maior o número de cloroplastos, porém, a pleno sol, eles se apresentaram mais finos e com menor área. Os grãos de amido de plantas cultivadas sob 60% de intensidade luminosa mostraram maior área e ocuparam a maior parte nos cloroplastos. No experimento III, pôde-se observar que, a utilização de malhas favoreceu o crescimento, independentemente da cor, em relação a pleno sol. Para o óleo essencial, sob a malha vermelha houve menores teor e rendimento, porém apresentou o maior teor de citral. Plantas

* Orientador: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA.

crescidas sob malha azul produziram maior conteúdo de clorofila *a*, *b* e total. A pleno sol, houve maior espessura de epiderme e do mesofilo, bem como em quantidade de cloroplastos e área de grãos de amido. A maior proporção ocupada pelos grãos de amido nos cloroplastos foi sob a malha preta.

Palavras-chave: erva-cidreira-verdadeira, plantas medicinais e aromáticas, clorofilas.

GENERAL ABSTRACT

BRANT, Renata da Silva. **Anatomical, physiological and essential oil characteristics of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae), in function of organic manure, intensity and quality of the light.** 2008. 138 p. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

The objective was to evaluate the effect of the organic manure, light intensity and quality in physiological and anatomical characteristics and essential oil of *Melissa officinalis* L. The experiments treatment were: organic manure in 0, 30, 60, 90 and 120 t. ha⁻¹ cattle manure application and 0, 15, 30, 45 and 60 t. ha⁻¹ chicken manure; 20%, 60% and 100% of light intensity using thermo-reflectors shading nets and using black, blue and red shading nets and plants under full sun light. In the first experiment, the treatments that had higher growth of the plants with better increase of dry leaves as well as yield of essential oil and citral of *M.officinalis* L. were with the application of cattle manure in the rate of 60 t.ha⁻¹ and the chicken manure in the rates of 30 and 60 t.ha⁻¹. In the second experiment the physiological characteristics showed that using thermo-reflectors shading nets increase the growth of the plant. At 20% and 60% of luminous intensity occurred high productions of leaves dry biomass. There was no difference for essential oil content, while its yield showed superior with cultivation under shading, and the citral's yield was more efficient at 60% light intensity. Plants submitted at 20% of luminous intensity showed higher *a* chlorophyll and, therefore, higher *a/b* chlorophyll ratio. Lemon balm's leaves under total sun light and 60% of light showed cells of upper face thicker, but its inferior cells showed characteristics found in shaded leaves or thinner. As much as added the availability of light, occurred higher chloroplasts number, however, under total sun light it exhibited thinner, with small area. The starch grains of leaves grown under 60% of luminous intensity showed higher area and occupied higher part on chloroplasts. In the third experiment, was observed that the utilization of nets favored the growth, independently of the color, in comparison with total sun light. For essential oil, under red shading net had lower content and yield, but it's showed the higher citral's content. Plants grew under blue shading net showed higher *a*, *b*, and total chlorophyll content. At full sunshine had higher thickness of epidermis and mesophyll, as well as in chloroplast quantity and

* Major Professor: PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA.

starch grains area. The major proportion occupied for starch grain on chloroplasts was under black shading net.

Keywords: lemon balm, aromatic and medicinal plant and chlorophylls.

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

O interesse por plantas medicinais, ultimamente, vem crescendo muito e em nível mundial; a OMS (Organização Mundial de Saúde) reconhece o valor potencial das plantas medicinais e recomenda aos países membros a usarem seus conhecimentos tradicionais sobre a medicina, incluindo o uso de plantas medicinais como recurso terapêutico viável (World Health Organization, WHO, 1987).

Com a expansão do uso de plantas medicinais e seus derivados, cresce a necessidade de estudos científicos de âmbito farmacológico e terapêutico, e conseqüentemente, estudos na área agrônômica, para um cultivo em larga escala, em moldes econômicos, visando a produção de matéria prima em quantidade e qualidade adequadas ao mercado.

A melissa é uma espécie medicinal e aromática bastante conhecida, produzida em vários países. No entanto, pesquisas envolvendo a espécie ainda são incipientes e tendo isso em vista, o trabalho foi realizado.

Foram realizados três experimentos, divididos em cinco artigos que versam sobre alterações nas características anatômicas, fisiológicas e de óleos essenciais de plantas de *Melissa officinalis* L. submetidas a fontes e doses de adubo orgânico, a intensidades de luz, utilizando malhas termo-refletoras e a diferentes condições de qualidade e intensidade de luz, utilizando-se malhas fotoconversoras.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Aspectos gerais de *Melissa officinalis* L.

Conforme Lorenzi & Matos (2002), a melissa também é conhecida pelos nomes populares: cidreira, erva-cidreira, cidreira-verdadeira, cidrila, melitéia, chá-da-frança, limonete, salva-do-Brasil, erva-luísa, chá-de-tabuleiro e melissa-romana. Suas características morfológicas são: herbácea perene, aromática, ramificada desde a base, ereta ou de ramos ascendentes, de 30-60 cm de altura, nativa da Europa e Ásia e cultivada no Brasil. Possui folhas membranáceas, rugosas, de 3-6 cm de comprimento e flores de cor creme, dispostas em racemos axilares, produzidas apenas nas regiões de altitude do sul do país. Multiplica-se por estacas ou sementes.

Lorenzi & Matos (2002) ainda afirmam que é cultivada nas regiões temperadas como aromatizante de alimentos e para fins medicinais desde os tempos remotos, tendo sido produzida no Brasil há mais de um século. As suas folhas e inflorescências são empregadas na forma de chá, de preferência com a planta fresca, é usado como calmante nos casos de ansiedade e insônia, bem como medicação contra dispepsia, estados gripais, bronquite crônica, cefaléias, enxaqueca, dores de origem reumática, para normalizar as funções gastrintestinais e, externamente, no tratamento de manifestações virais.

O chá de melissa possui ação sedativa, tranqüilizante e indutora do sono, tendo um papel importante no controle da ansiedade (Sadraey et al., 2003).

Óleos essenciais

Os vegetais, além do metabolismo primário, responsável pela produção de celulose, lignina, proteínas e outras substâncias que realizam suas principais funções vitais, apresentam o chamado metabolismo secundário, do qual resultam substâncias às vezes produzidas em pequenas quantidades e responsáveis por

funções nem sempre bem definidas, nem por isso menos importantes. Dentre estas, destacam-se as substâncias voláteis, que se difundem com facilidade a partir da evaporação, constituindo um verdadeiro elo entre a fonte produtora e o meio ambiente. Apesar de terem sido consideradas, por muito tempo, como mero desvio das funções vitais da planta, elas são fundamentais para a inter-relação dos organismos promovendo, assim, o equilíbrio entre os reinos vegetal e animal (Craveiro et al., 1981).

Estas substâncias voláteis, também denominadas de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências, são misturas complexas e apresentam as características de volatilidade e baixo peso molecular. Normalmente, são líquidos de aparência oleosa, odoríferas, solúveis em solventes orgânicos e em água têm solubilidade limitada (Simões et al., 2004).

Geralmente são incolores ou amarelados. São pouco estáveis principalmente em presença de ar, luz, calor, umidade e metais, sendo a maioria opticamente ativos, propriedades estas usadas na sua identificação e controle de qualidade (Pinto & Bertolucci, 2002).

Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, óxidos, peróxidos, éteres, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e até compostos de enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (traços) (Simões et al., 2004).

A Internacional Standard Organization (ISO) define os óleos essenciais como produtos obtidos de partes das plantas por meio de destilação por arraste de vapor d'água, como também por prensagem do pericarpo de frutos cítricos. Devido à característica do odor, os óleos essenciais são muito utilizados por várias indústrias, como farmacêutica, cosmética, perfumaria, alimentícia e são

também utilizados em algumas terapêuticas, como a aromaterapia (Simões et al., 2004).

Composição química de *Melissa officinalis* L. e seu óleo essencial

Na sua composição química é registrada a presença de óleo essencial rico em citral, citronelal, citronelol, limoneno, linalol e geraniol, taninos, ácidos triterpenóides, flavonóides, mucilagens, resinas e substâncias amargas, bem como glicosídeos dos álcoois presentes no óleo essencial (Lorenzi & Matos, 2002).

O citral (geranial + neral – Figura 1), seu componente majoritário, é responsável pela ação relaxante (Sadraey et al., 2003). O mercado interno de chás oferece R\$ 11,00 (U\$6,50) por quilo de folha seca (Blank et al., 2005), enquanto que pelo seu óleo essencial são pagos por R\$23,50 (U\$13,90) a cada 10 mL (Subhadra, 2007).

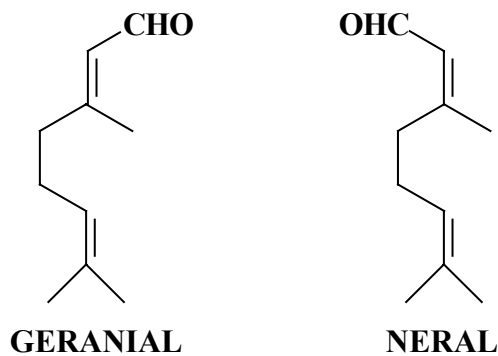


FIGURA 1- Principais substâncias isoladas do óleo essencial de melissa.

O óleo essencial de melissa demonstrou ação bacteriostática quando submetido a ensaios farmacológicos. Os seus taninos diferem dos normalmente encontrados em outras plantas, atribuindo-se a estes, forte ação virustática, principalmente sobre o Vírus Herpes Simplex I causador do herpes labial (Lorenzi & Matos, 2002).

Funções dos óleos essenciais nas plantas

A riqueza dos metabólitos secundários em plantas é, pelo menos parcialmente, explicável pelo simples fato de os vegetais estarem enraizados no solo e não poderem se deslocar e responderem ao meio ambiente pelas vias possíveis aos animais. Os óleos essenciais estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema, exercem papel fundamental na defesa contra microorganismos e predadores e também na atração de insetos e outros agentes fecundadores e resposta adaptativa a condições do ambiente (Simões et al., 2004).

Fatores que influenciam a produção de metabólitos secundários

Na dinâmica de crescimento e desenvolvimento em seu ciclo fenológico, as plantas medicinais e aromáticas podem apresentar alterações bioquímicas e fisiológicas capazes de afetar a elaboração dos princípios ativos, tanto no aspecto quantitativo quanto qualitativo (Taiz & Zeiger, 2004).

Estas alterações ocorrem devido a vários fatores intrínsecos e extrínsecos. Alguns autores os classificam em: fator genótipo (indivíduo, populações, etc.), fator fisiológico (estádios de desenvolvimento, ritmo estacional, rotas metabólicas alternativas, hormônios e estágio reprodutivo), fator técnico de cultivo (como adubações, densidades de plantio, consorciamento, etc.) e fator ecológico (pressões de variações no clima, solos,

competidores, entre outros) (Dey & Harborne, 1997; Martins et al., 2000; Simões et al., 2004).

Adubação orgânica: influência no crescimento e nos teores de óleos essenciais

Conforme Pinto & Bertolucci (2002), técnicas de cultivo podem ser empregadas para a maximização da produção de princípios ativos e a adubação orgânica representa uma boa opção.

Neste contexto, as matérias-primas empregadas como fertilizantes orgânicos podem ser de natureza vegetal (restos de culturas, outros restos de vegetais e adubos verdes), animal (esterco e outros resíduos de animais como vísceras e sangue) e de natureza mista, contendo resíduos de vegetais e animais – também denominado composto (Kiehl, 1985).

O esterco de bovinos é bastante usado como adubo orgânico. Como de quaisquer outros animais, a composição do esterco depende da alimentação. Exclusivamente a pasto, o conteúdo de nitrogênio desses esterco é menor do que com suplementação com concentrados. Como referência média, pode-se considerar que, do total ingerido, cerca de 70% é excretado pela urina e 10 a 15% pelas fezes (Souza & Resende, 2006).

Sabe-se que o esterco avícola é mais rico em nitrogênio que o de ruminantes e suínos, já que as aves não produzem urina, eliminando-a junto com as fezes. O esterco proveniente de criações intensivas de frangos e galinhas, alimentados com ração, é rico em nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo (Souza & Resende, 2006).

Maia (2006) observou que entre as doses de esterco bovino, para a produção de biomassa seca particionada (folhas, ramos e raízes) e total em *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) a dose máxima 120 t.ha⁻¹ forneceu um incremento sem alcançar o máximo de produção. Já quando cultivadas com

diferentes doses de esterco avícola, a produção de massa seca da parte aérea das plantas alcançou produção máxima com a dose de 90 t.ha⁻¹ para folhas e caules e 60 t.ha⁻¹ para massa seca de raízes.

Silva et al. (2007) relatam que o maior teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Asteraceae) foi atingido na ausência de adubo orgânico e aplicando-se 0%, 5%, 10%, 20% e 30% deste, houve teor de 0,09%, 0,045%, 0,059%, 0,07% e 0,064%. O autor explica os resultados, afirmando que a carqueja é uma planta rústica que sobrevive em ambientes menos favoráveis e, assim, produz maior quantidade de óleo essencial. Porém, a produção de biomassa aumentou linearmente em resposta aos acréscimos de adubo orgânico, indicando maior rendimento de óleo essencial por área.

Assim, Blank et al. (2007) aplicaram as doses de 0, 20, 40, 60 t.ha⁻¹ de biofertilizante comercial e constataram que houve aumento linear nos rendimentos médios de óleo essencial de folhas secas de *Cymbopogon citratus*, crescendo-se as dose do adubo.

Intensidade da luz: influência na fisiologia, na anatomia e no teor de óleo essencial

O desenvolvimento de uma planta pode ser regulado pela intensidade, qualidade e duração da luz. As respostas de uma planta à luz são em geral, denominadas fotomorfogênese, sendo o estímulo luminoso percebido por um pigmento fotorreceptor (Taiz & Zeiger, 2004).

Larcher (2004) afirma que plantas que crescem sob forte radiação apresentam folhas mais espessas, e, além disso, apresentam metabolismo mais ativo; como consequência, essas plantas apresentam maior produção de massa seca, com maior conteúdo energético.

Plantas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit., *Ocimum basilicum* L., *Rosmarinus officinalis* L. e *Salvia officinalis* L. apresentaram acúmulos mais

elevados de fitomassa seca de folhas quando cultivada sob sombrite em maiores níveis de intensidade luminosa (Castrillo et al., 2005).

Silva et al. (2006), estudando *Baccharis trimera* (carqueja amarga), verificaram que a intensidade de luz causou grandes modificações na morfologia interna e externa da planta. Conseqüentemente, houve diferenças na produção de biomassa e no rendimento de óleo essencial.

Com relação a aspectos anatômicos, é característico que folhas de sombra tenham cloroplastos maiores, com desenvolvimento muito maior de grana do que as folhas de sol de mesma planta (há mais clorofila por cloroplasto, e a razão de clorofila *b:a* é maior). Todas estas mudanças resultam de utilização mais eficiente de luz menos intensa e mais esverdeada, característica de condições de sombra. Com mais clorofila por cloroplasto, os pigmentos disponíveis para captar a luz e os centros fotoquimicamente ativos são mais numerosos. Além disso, a razão de clorofila *b:a* é maior, e a banda de absorção dos pigmentos expande-se em direção à parte verde do espectro (Taiz & Zeiger, 2004; Whatley & Whatley, 1982).

Em *Mikania glomerata*, Castro et al. (2005) constataram que houve uma diminuição na proporção da clorofila *a/b* com o aumento do sombreamento, devido ao incremento da clorofila *b*.

Sabe-se que o tamanho e a espessura de uma folha podem ser influenciados pela duração e pelo comprimento de onda da luz, mas as diferenças na intensidade de irradiância são os responsáveis pelas maiores variações no tamanho da folha. Dentro de certos limites, quanto maior a intensidade de irradiância, menor e mais grossa será a folha, embora a resposta dependerá da espécie. De maneira geral, folhas de sol são pequenas e grossas, enquanto folhas de sombra são grandes e finas (Whatley & Whatley, 1982).

A estrutura interna das folhas de sol difere muito das folhas de sombra. As folhas de sol contêm muito mais camadas de células que as folhas de sombra;

as células do tecido paliádico estão muito juntas umas das outras e são alongadas em uma direção perpendicular à superfície da folha; os espaços intercelulares da camada interior do mesófilo são pequenos; o sistema vascular é extenso e as paredes celulares são grossas. Nas folhas de sombra, o tecido paliádico é pouco desenvolvido e os espaços intercelulares são grandes. A epiderme superior da folha de sol é coberta por uma grossa camada de cutícula, menos permeável que aquela encontrada em folhas de sombra. Assim, se evita a perda excessiva de água por transpiração em luz solar direta, efeito muito importante por reduzir a volatilização rápida do óleo essencial (Whatley & Whatley, 1982).

Qualidade da luz: influência na fisiologia, na anatomia e no teor de óleo essencial

Sabe-se que as plantas são capazes de perceber diferentes comprimentos de ondas da radiação solar usando vários fotorreceptores (Maffei et al., 1999). No entanto, pouco se sabe sobre sua interferência no metabolismo secundário e, mais escasso ainda, como isto ocorre na fisiologia, genética e bioquímica do vegetal.

No que concerne à fisiologia, os fitocromos ativam fatores transcricionais que induzem respostas das plantas à luz. Desempenham algumas funções nos vegetais, dentre as quais se destaca a capacidade que ele fornece às plantas de perceberem o sombreamento por outras plantas. Nesse caso, a razão luz vermelha/vermelho-distante diminui, induzindo plantas de sombra a alocarem maior parte de seus recursos para o crescimento em altura; tal comportamento é conhecido como “resposta de evitação da sombra” (Taiz & Zeiger, 2004).

Plantas crescidas sob malhas vermelhas apresentaram maior comprimento das ramificações e, sob malhas azuis, apresentaram menor

tamanho em relação à malha preta (neutra) (Oren-Shamir, 2001; Shahak et al., 2004).

Antonious & Kasperbauer (2002), em pesquisas com cultivo de cenoura, concluíram que, quando cultivadas sobre coberturas amarelas, foi detectado maior teor de β -caroteno e vitamina C. Isso indicou que a reflexão da luz pode ter ação direta no sistema de regulação do crescimento natural das plantas entre caules e raízes, como também pode influenciar no rendimento e na composição química de cenoura.

Estudando características fisiológicas de mudas de *Rhapis* sob malha preta, vermelha, azul e pleno sol, Meirelles et al. (2007) concluíram que os diferentes tipos de malhas não influenciaram no crescimento.

Existem evidências que a luz atua via fitocromo nos níveis de monoterpenos em *Satureja douglasii* (Peer & Langenheim, 1998), sendo que a luz vermelha estimula esses níveis.

Em estudos com *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata* (Asteraceae), Souza (2006) empregou malhas vermelha, cinza, azul e pleno sol e concluiu que, para a primeira espécie, houve maior teor de óleo essencial sob malha vermelha e, para a segunda, sob malha azul. Para ambas, as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram os menores valores.

Martins (2006) verificou que, a pleno sol e sob malha azul, houve maior largura dos cloroplastos de *Ocimum gratissimum*. E Souza et al. (2007) encontraram maior área de cloroplastos de *Mikania laevigata* sob pleno sol e malhas vermelha e azul. Ainda, Schuerger et al. (1997) asseguram que a luz azul é importante na síntese de clorofila.

Conhecer as modificações decorrentes do emprego de várias técnicas no cultivo de melissa é essencial para nortear o trabalho do produtor rural visando maior eficiência no processo produtivo e o fornecimento de um produto de

qualidade. E para os cientistas, os resultados das pesquisas culminarão em um maior domínio do comportamento da espécie.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONIOUS, G.F.; KASPERBAUER, M.J. Color of light reflected to leaves modifies nutrient of carrot roots. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1211-1216, July/Aug. 2002.

BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; OLIVEIRA, A.S.; MENDONÇA, M.C.; SILVA-MANN, R.; ARRIGONI-BLANK, M.F. Produção de mudas, altura e intervalo de cortes de melissa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.

BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; AMANCIO, V.F.; MENDONÇA, F.C.; SANTANA FILHO, L.G.M. Densidades de plantio e doses de biofertilizante na produção de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 343-349, 2007.

CASTRILLO, M.; VIZCAINO, D.; MORENO, E.; LATORRACA, Z. Specific leaf mass, fresh:dry weight ratio, sugar and protein contents in species of Lamiaceae from different light environments. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 53, n. 1/2, p. 23-28, mar./jun. 2005.

CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; MELO, H.C.; SOARES, A.M.; ALVARENGA, A.A.; LIMA JÚNIOR, E.C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a fotoperíodos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 846-850, 2005.

CRAVEIRO, A.; FERNANDES, A., G.; ANDRADE, C.H.S. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: UFC, 1981. p. 210.

DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. **Plant biochemistry**. London: Academic, 1997. 554p.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.

- LORENZI, H.; MATOS, F.S.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. p.245.
- MAFFEI, M.; CANOVA, D.; BERTEA, C.M.; SCANNERINI, S. UV-A effects on photomorphogenesis and essential oil composition in *Mentha piperita*. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, Lausanne, v. 52, p. 105-110, 1999.
- MAIA, S.S.S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Lamiaceae**. 2006. 150 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 220 p.
- MARTINS, J.R. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** 2006. 176 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MEIRELLES, A.J.A.; PAIVA, P.D.O.; OLIVEIRA, M.I.; TAVARES, M.F. Influência de diferentes sombreamentos e nutrição foliar no desenvolvimento de mudas de Palmeiras Ráfia *Rhapis excelsa* (Thunberg) Henry ex. Rehder. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1884-1887, 2007.
- OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E.E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, Y.E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of Green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.
- PEER, W.A.; LANGENHEIM, J.H. Influence of phytochrome on leaf monoterpene variation in *Satureja douglasii*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, p. 25-34, 1998.
- PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA, 2002. p. 47.
- SADRAEY, H.; GHANNADI, A.; MALEKSHAHI, A. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on a rat ileum concentrations. **Fitoterapia**, n. 74, p. 445-452, 2003.

- SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E.E. ColorNets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, p. 143-151, 2004.
- SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STYJEWSKI, E. C. Anatomical features of piper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.
- SILVA, F.G.; PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, M.G.; NASCIMENTO, E.A.; NELSON, D.L.; SALES, J.F.; MOL, D.J.S. Influence of radiation level on plant growth, yield and quality of essential oil in [*Baccharis trimera* (Less.) D. C.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 52-57, jan./fev. 2006.
- SILVA, F.G.; PINTO, J.E.B.P.P.; CARDOSO, M.G.; SALES, J.F.; MOL, D.J.S.; DIVINO, S.P. Influence of manure and fertilizer on *Baccharis trimera* (Less.) D.C. growth and essential oil yield. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Binghamton, v. 13, n. 1, p.83-92, 2007.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004. 821p.
- SOUZA, G.S. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação**. 2006. 117p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SOUZA, G.S.; CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; ALVES, E.; BIAGIOTTIS, G.; DEUNERI, S. Estrutura foliar e de cloroplastídeos de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 78-80, 2007. Suplemento, 1.
- SOUZA, J.L.; RESENDE, P.L. **Manual de horticultura orgânica**. 2.ed. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2006. p.192-193.
- SUBHADRA. **Produtos: óleos essenciais**. Disponível em: <<http://www.subhadra.com.br/ecom/produtos/produtos.php?idc=1&min=20&counter=10&pagina=3>>. Acesso em: 25 nov. 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

WHATLEY, J.M.; WHATLEY, F.R. **A luz e a vida das plantas.** Tradução de Gil Martins Felipe. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1982. 101 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global medium term programe:** tradicional medicine covering a specific period 1990-1995. (WHO Document TRM/MT/87-1), 1987. Disponível em:
<[www.http://www.proec.ufpr.br/enec2005/download/pdf/SA%DADE/PDF%20SAUDE/08%20-%20CANTEIROS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINAIS%20-%20PALOTINA%20-%20rev.pdf](http://www.proec.ufpr.br/enec2005/download/pdf/SA%DADE/PDF%20SAUDE/08%20-%20CANTEIROS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINAIS%20-%20PALOTINA%20-%20rev.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2007.

CAPÍTULO II

Fontes e doses de adubo orgânico no crescimento, teor e composição de óleo essencial de melissa em cultivo protegido

BRANT, R.S.; PINTO, J.E.B.P. et al.

Preparado de acordo com as normas do periódico: *Horticultura Brasileira*.

RESUMO

A adubação orgânica é bastante utilizada no cultivo de plantas medicinais e aromáticas, sendo imprescindível a realização de pesquisas que verifiquem as melhores fonte e dose para cada espécie, visando nortear o trabalho do produtor. O objetivo no estudo foi avaliar diferentes fontes e doses de adubo orgânico no crescimento, no teor e na composição do óleo essencial de melissa em cultivo protegido. Foram estabelecidos nove tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta de quatro vasos (uma planta por vaso), dispostos em delineamento em blocos casualizados (DBC). Os tratamentos foram: 0; 30; 60; 90 e 120 t de esterco bovino curtido.ha⁻¹ e 15; 30; 45 e 60 t de esterco avícola curtido.ha⁻¹ em casa de vegetação. As características avaliadas consistiram em: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raízes e total; razão raiz/parte aérea; área foliar total; altura da parte aérea; teor, rendimento e composição química do óleo essencial. Os tratamentos que proporcionaram maior crescimento das plantas com maior incremento de folhas secas, bem como teor, rendimento de óleo essencial e citral de *Melissa officinalis* L., foram com a aplicação do esterco bovino na dose de 60 t.ha⁻¹ e esterco avícola, nas doses de 30 e 60 t.ha⁻¹.

Palavras-chave: *Melissa officinalis* L., planta medicinal e aromática, citral.

ABSTRACT

Organic manure's types and rates in growth, essential oil's content and composition of essential oil of lemon balm at green house

The organic manure is largely used in aromatic and medicinal plants and is indispensable to accomplish researches that verify the best type and rate for each species, looking for to lead the farmer's work. The objective of this study was to

verify the best type and doses of organic manure in growth, essential oil content and composition of lemon balm in green house. Were established five treatments and four repetitions, being each one made of four pots (one plant per pot), disposed in completely blocks design (CBD). The treatments were: 0; 30; 60; 90 and 120 t of cattle manure.ha⁻¹ and 12; 30; 45 and 60 t of chicken manure.ha⁻¹. The characteristics evaluated were: dry biomass of leaves, stems, aerial part, roots and total; root/aerial part ratio; leaf area ratio; aerial part's height; content, yield and composition of the essential oil. The treatments that gave higher growth of the plants with better increase of dry leaves, as well yield of essential oil and citral of *Melissa officinalis* L. was application of cattle manure in the dose of 60 t.ha⁻¹ and chicken manure in the doses of 30 and 60 t.ha⁻¹.

Keywords: *Melissa officinalis* L., aromatic and medicinal plant and citral.

1 INTRODUÇÃO

Originária da Europa e Ásia, a melissa (*Melissa officinalis* L. – Lamiaceae) também é conhecida pelos nomes populares: cidreira, erva-cidreira, cidreira-verdadeira, cidrila, melitéia, chá-da-frança, limonete, salva-do-brasil, erva-luísa, chá-de-tabuleiro e melissa-romana. Suas folhas e inflorescências são empregadas na forma de chá, de preferência com a planta fresca, como calmante nos casos de ansiedade e insônia e também como medicação contra dispepsia, estados gripais, bronquite crônica, cefaléias, enxaqueca, dores de origem reumática, para normalizar as funções gastrintestinais e, externamente, no tratamento de manifestações virais (Lorenzi & Matos, 2002).

Na composição química do óleo essencial foi registrada a presença de citral, citronelal, citronelol, limoneno, linalol e geraniol (Lorenzi & Matos, 2002). O citral é o composto químico majoritário do óleo essencial de melissa, sendo constituído pelos isômeros geranial e neral.

O mercado interno de chás oferece R\$ 11,00 (U\$6,50) por quilo de folha seca (Blank et al., 2005), enquanto que pelo seu óleo essencial são pagos por R\$23,50 (U\$13,90) a cada 10 mL (Subhadra, 2007).

De forma geral, a demanda por plantas medicinais e aromáticas tem aumentado no mundo. Assim, muitos produtores têm se aventurado no seu cultivo, porém, poucos estão obtendo êxito. Há falta de informações a respeito das técnicas de cultivo para cada região, uma vez que algumas das espécies hoje cultivadas no Brasil foram trazidas de outros países, como é o caso da melissa. Por essa razão, é relevante o estudo do comportamento dessas espécies em relação às práticas agronômicas, por meio da domesticação e do cultivo (Chaves et al., 2002).

Dentre as necessidades primárias de estudo, por se tratar de um fator básico de produção, a adubação ocupa lugar de destaque, pois interfere diretamente na produção de biomassa e, geralmente, na produção de metabólitos secundários. À adubação orgânica, ainda, é dispensada especial atenção, haja vista que muitos preconizam que espécies medicinais devem ser adubadas apenas com insumos orgânicos (Corrêa et al., 2008). Como vantagens do uso da adubação orgânica os efeitos condicionadores, os efeitos sobre os nutrientes e os efeitos sobre os microrganismos do solo (Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, CFSEMG, 1999).

Assim, Blank et al. (2007) aplicaram as doses de 0, 20, 40, 60 t.ha⁻¹ de biofertilizante comercial e constataram que houve aumento linear nos rendimentos médios de óleo essencial de folhas secas de *Cymbopogon citratus*, crescendo-se as dose do adubo.

Com a utilização das doses de 0, 200 e 400 g/m² de cobertura morta de *Brachiaria decumbens*, o teor de óleo essencial e de citral de *Cymbopogon citratus* (Poaceae) não se alterou. Entretanto, houve crescente produção de

massa seca à medida que se aumentou a dose, resultando em maior rendimento de princípio ativo por área (Koshima et al., 2003).

Morais (2006) estudaram a utilização das doses de 20, 40, 60, 80 e 100 t de cama de frango.ha⁻¹ na produção de linalol em folhas secas de *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). Verificaram que a dose de 78 t de cama de frango.ha⁻¹ proporcionou maior teor de linalol no genótipo NSL – 6421-S3 e, para o genótipo PI – 197442-S3 foi com o emprego de 94 t de cama de frango.ha⁻¹.

A aplicação de 30 a 50 t de esterco bovino.ha⁻¹ e de 15 a 30 t de esterco avícola.ha⁻¹ é recomendada para a produção de biomassa de espécies medicinais (Pinto & Bertolucci, 2002). No entanto, trabalhos científicos apontam que as espécies respondem de forma variada quanto à produção de biomassa e de óleos essenciais, aplicando-se diferentes fontes e doses de adubo orgânico, sendo característica de cada uma a eficiência produtiva. Ademais, não existem trabalhos indicando as melhores doses de esterco, com as diferentes fontes, para características de crescimento e produção de óleo essencial de melissa.

O objetivo neste estudo foi avaliar características de crescimento e de óleos essenciais de *Melissa officinalis* L. submetidas a fontes e a doses de adubo orgânico em cultivo protegido.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido, em casa de vegetação, no município de Lavras, situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 metros de altitude, latitude de 21°14'S e longitude de 45°00'W GRW. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992).

Obtenção do material vegetal

As exsicatas da espécie em questão estão depositadas no Herbário ESAL do Departamento de Biologia da UFLA e correspondem ao nº 22155.

As mudas de melissa foram produzidas a partir de uma planta matriz utilizando-se microestacas apicais de 5 cm de comprimento e 2 mm de diâmetro e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®]. Foram cultivadas em estufa com 60% de sombreamento e, posteriormente, aclimatizadas por meio do aumento gradativo da intensidade luminosa.

Condições climatológicas durante a condução do experimento

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Tabela 1.

TABELA 1- Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de agosto de 2006 a janeiro de 2007. UFLA, Lavras, MG, 2008.

MESES/ANOS	Tx	Tn	Tméd.	Prec.total	UR.	Insol.
AGOSTO/06	27,8	15,4	20,4	82,5	71,4	7,0
SETEMBRO/06	27,3	13,8	19,4	73,2	65,4	7,0
OUTUBRO/06	27,3	16,9	21,2	107,0	73,9	5,2
NOVEMBRO/06	28,0	17,4	21,3	262,0	77,1	5,9
DEZEMBRO/06	28,5	18,7	22,8	220,6	79,1	4,8
JANEIRO/07	27,6	18,7	22,1	554,7	87,0	3,0

Tx- Média mensal da temperatura máxima (° C)

Tn – Média mensal da temperatura mínima (° C)

Tméd – Média mensal de Tx e Tn diárias (° C)

Prec. total – Precipitação total mensal (mm)

UR – Umidade relativa do ar média mensal (%)

Insol.- Insolação média mensal (horas)

Instalação do experimento

Em outubro de 2006, 144 mudas de 10 cm de altura foram transplantadas para vasos de 10 L em casa de vegetação. A análise química do solo resultou: pH em água=5,5; P e K disponíveis =1,7 e 9 mg.dm⁻³; Ca, Mg, H+Al, Al, soma de bases, capacidade de troca catiônica efetiva e a pH 7,0=5,7; 0,7; 1,2; 0,0; 6,4; 6,4 e 7,6 cmol.dm⁻³; índice de saturação por bases e índice de saturação de alumínio=84,3% e 0%; M.O.=3,0 dag.kg⁻¹; P remanescente=7,2 mg.L⁻¹; Zn, Fe, Mn, Cu, B e S=1,5; 31,1; 13,8; 1,1; 0,1 e 14,9 cmol.dm⁻³.

A análise química do esterco bovino resultou: pH em água=8,2; P e K disponíveis =618 e 8.033 mg.dm⁻³; Ca, Mg, H+Al, Al, soma de bases e capacidade de troca catiônica a pH 7,0=6,9; 3,6; 0,89; 0,0; 31 e 31,9 cmol.dm⁻³; índice de saturação por bases e índice de saturação de alumínio= 97,2% e 0%; M.O.=90,49 dag.kg⁻¹; Ca/Mg e Mg/K= 1,9 e 0,2. A análise química do esterco avícola revelou: pH em água=8,2; P e K disponíveis =1.080,5 e 8.583 mg.dm⁻³; Ca, Mg, H+Al, Al, soma de bases e capacidade de troca catiônica a pH 7,0=2,4; 1,1; 0,77; 0,0; 25,4 e 26,5 cmol.dm⁻³; índice de saturação por bases e índice de saturação de alumínio= 97,1% e 0%; M.O.=14,5 g.dm⁻³; Ca/Mg e Mg/K= 2,2 e 0,1.

Em delineamento de blocos casualizados (DBC) foram dispostos nove tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta de quatro vasos (uma planta por vaso). Os tratamentos foram: 0; 30; 60; 90 e 120 t de esterco bovino curtido.ha⁻¹ e 15; 30; 45 e 60 t de esterco avícola curtido.ha⁻¹. Os valores foram baseados na recomendação de Pinto & Bertolucci (2002), de 30 a 50 t de esterco bovino curtido.ha⁻¹ ou 15 a 30 t de esterco avícola curtido.ha⁻¹, sendo propostas doses abaixo e acima do recomendado para espécies medicinais. A quantidade do esterco aplicada foi calculada em peso seco. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Avaliações de crescimento

As características de crescimento avaliadas foram: altura da parte aérea, biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raízes, total, razão raiz/parte aérea, área foliar total (AFT).

Após 12 semanas de cultivo, realizou-se a medição da altura da parte aérea do colo até o ápice do maior ramo por meio de uma régua. As plantas foram coletadas no período da manhã e, depois, as folhas foram destacadas dos ramos. A determinação da área foliar foi realizada em quatro plantas representativas de cada tratamento, em 100% das folhas, utilizando-se um integralizador de área foliar MODEL LI-3100, Área Meter marca LICOR.

Posteriormente, as folhas e os caules foram colocados em sacos de papel kraft e acondicionados em estufa de circulação forçada de ar, a 35°C, enquanto as raízes foram lavadas e, depois de retirada a umidade excessiva, foram também conduzidas à estufa. Depois de atingido peso constante, obtiveram-se suas massas.

Extração e identificação da composição química dos óleos essenciais

Para a extração dos óleos essenciais, as plantas sofreram uma triagem, selecionando-se apenas as folhas sadias. Foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger. Dez gramas de folhas secas foram colocadas em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 750 mL de água destilada.

Após a detecção de início de fervura, teve início a cronometragem. Findo o período de extração de uma hora e meia, o hidrolato, obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 25mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com uma porção em excesso de sulfato de

magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado, à temperatura ambiente, em capela de exaustão de gases até alcançar peso constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas: $T\% = \text{massa do óleo (g)} / 10\text{g} \times 100$. O rendimento foi calculado pela fórmula: $R = \text{biomassa seca total das folhas/planta (g)} \times \text{massa do óleo obtido (g)} / 10\text{ g}$.

As amostras foram identificadas por meio de cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro quadrupolar de massas CG-EM, Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão). Foram empregadas as seguintes condições: coluna CBP-5 (Shimadzu) preenchida em coluna capilar de sílica (30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 μm de espessura do filme, composto de fenilmetilpolisiloxano 5%) conectada a um detector quadrupólo operando em energia de impacto a 70 eV com intervalo de massa entre 40-400 u, à razão de 0,5 scans s^{-1} ; gás: He (1 mL s^{-1}); injetor e temperatura de interface a 220°C e 240°C, respectivamente, com razão de fluxo 1:20. O volume de injeção foi de 0,2 μL (20% em CH_2Cl_2) em fluxo e temperatura de 60°C e 246°C, com aumento de 3°C min^{-1} , após 10°C min^{-1} para 270°C, mantendo-se a temperatura final por 5 minutos. A identificação dos constituintes foi realizada por comparação, automática e manual, dos espectros de massas obtidos com os das bibliotecas NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os da literatura (Adams, 2001) e co-injeção com padrões autênticos. Os IR foram calculados a partir da co-injeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C8–C32 (Sigma, EUA) e com a aplicação da equação de Van Den Dool & Kratz (1963).

As concentrações relativas dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos e expressas com valores aferidos nas três análises.

Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa SISVAR[®] versão 4.3. As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F ($P < 0,05$) e à análise de regressão (Ferreira, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de melissa responderam muito bem à adubação orgânica e houve ajuste quadrático para todas as características de crescimento. De modo geral, pode-se afirmar que as maiores doses dos adubos orgânicos proporcionaram maiores resultados para a produção de biomassa seca (Figura 1).

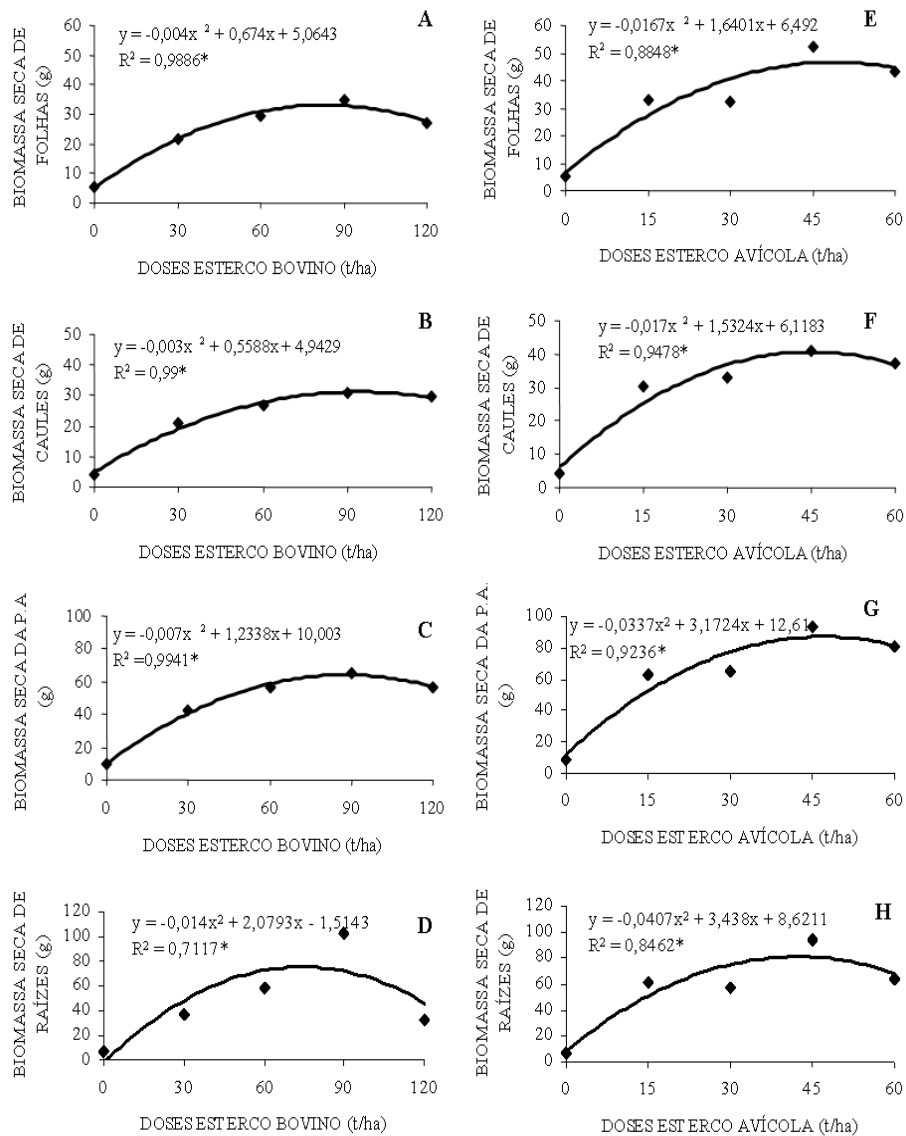


FIGURA 1- Biomassa seca de folhas (A, E), caules (B, F), parte aérea (C, G) e raízes (D, H) de *Melissa officinalis* L. por planta (gramas), cultivadas em vasos com 0; 30; 60; 90 e 120 t de esterco bovino.ha⁻¹; 15; 30; 45 e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹, em casa de vegetação. *Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. UFLA, Lavras, MG, 2008.

A produção de biomassa seca de folhas foi maior com a aplicação de 90 t de esterco bovino.ha⁻¹. Quando se utilizou esterco avícola, a maior resposta foi obtida com 45 t.ha⁻¹. Os pontos de máximo para a esta característica em melissa foram atingidos com a aplicação de 83 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 49 t de esterco avícola.ha⁻¹. Esta dosagem de esterco avícola é muito inferior à de bovino e isto se deve ao fato de o esterco avícola ser mais rico na sua composição química.

Sales (2006), avaliando adubo bovino, concluiu que as doses de 60; 90 e 120 t .ha⁻¹ favoreceram a produção de fitomassa de folhas de *Hyptis marruboides* (Lamiaceae). Já a dosagem de 30 t.ha⁻¹ apresentou resultado inferior às demais.

Quanto à biomassa caulinar de melissa, as doses de esterco que proporcionaram maiores resultados foram semelhantes à característica citada de folhas (Figura 1).

Para a biomassa seca da parte aérea de melissa, o maior valor encontrado para o esterco bovino foi com a aplicação de 90 t.ha⁻¹. Já o esterco avícola apresentou maiores valores quando foram utilizadas as doses de 45 e 60 t.ha⁻¹. Observou-se que a testemunha apresentou crescimento da parte aérea inferior às plantas de melissa adubadas com fertilizante orgânico mostrando ser uma espécie responsiva à este fator de produção (Figura 2).



FIGURA 2- Plantas de *Melissa officinalis* L. cultivadas em vasos com 0; 30(b); 60(b); 90(b) e 120(b) t de esterco bovino.ha⁻¹; 15(a); 30(a); 45(a) e 60(a) t de esterco avícola.ha⁻¹, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

A comparação entre os resultados de biomassa seca de folhas, caules e parte aérea revelou um crescimento interessante das plantas de melissa, com acréscimo de esterco avícola. A dose de 45 t.ha⁻¹ apresentou maior eficiência na conversão de nutrientes e assimilados para folhas do que para a produção de caules. Ao aumentar a dose para 60 t de esterco.ha⁻¹, aumentou a biomassa de caules em detrimento de folhas (Figura1).

Já Silva (2005), trabalhando com *Aloysia triphylla* (Verbenaceae), avaliou as seguintes doses de adubo bovino: 0; 30; 60; 90 e 120 t.ha⁻¹ e concluiu que, à medida que se aumenta a dose do adubo, há uma resposta linear em produção de biomassa seca de folhas, caules e raízes.

A biomassa radicular de melissa apresentou a mesma tendência de resposta para a produção de biomassa dos demais órgãos da planta (Figura 1), obtendo-se maior valor ao aplicar 90 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 45 t de esterco avícola.ha⁻¹. Isso, provavelmente se deve ao fato de essas doses conterem quantidades adequadas dos nutrientes requeridos pela espécie, promovendo um bom crescimento dos órgãos da planta.

As doses de 90 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 45 t de esterco avícola ha⁻¹, proporcionaram, em relação à testemunha, um aumento médio na produção de biomassa da parte aérea e de raízes de melissa de 701% e 1.595% e 993% e 1.468, respectivamente.

Para a produção de biomassa seca particionada (folhas, ramos e raízes) e total em *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) entre as doses de esterco bovino, Maia (2006) observou que a dose máxima 120 t.ha⁻¹ forneceu um incremento sem alcançar o máximo de produção. Já quando cultivadas com diferentes doses de esterco avícola, a produção de massa seca da parte aérea das plantas alcançou produção máxima com a dose de 90 t.ha⁻¹ para folhas e caules e 60 t.ha⁻¹ para massa seca de raízes. Concluiu o autor que as doses de esterco avícola

possibilitaram maior produção de massa seca de folhas que na produção de massa seca de caules e raízes. E, ainda, que a dose de 90 t de esterco avícola.ha⁻¹ proporcionou a produção máxima de biomassa seca total e a grande contribuição foi da massa seca de folhas.

Na biomassa seca total de melissa, a dose de 90 t de esterco bovino.ha⁻¹ proporcionou a maior média para esta fonte adubo orgânico, enquanto que para esterco avícola foi com a aplicação de 45 t de esterco avícola.ha⁻¹. Isto é atribuído às altas produções de biomassa de todos os órgãos da planta que, somados, originou altos valores da biomassa total (Figura 3). Deve-se enfatizar que este desempenho do adubo bovino, de alta produção de biomassa total deve-se à expressiva produção de raízes ocorrida nesse tratamento (Figura 1).

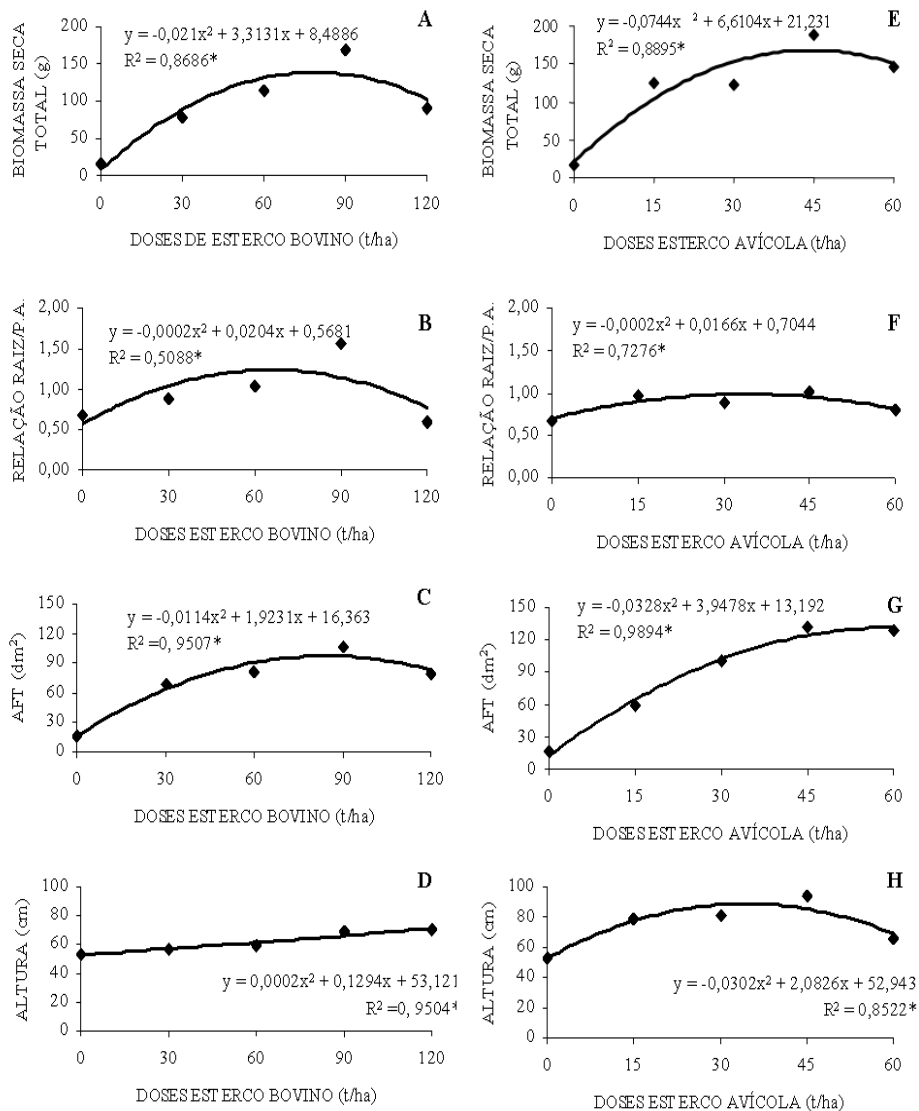


FIGURA 3- Biomassa seca total (gramas) (A, E), relação raiz/parte aérea (B, F), área foliar total (AFT = dm²) (C, G) e altura da parte aérea (cm) (D, H) de *Melissae officinalis* L., cultivadas em vasos com 0; 30; 60; 90 e 120 t de esterco bovino.ha⁻¹; 15; 30; 45 e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹, em casa de vegetação. *Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Analisando-se as fontes de esterco isoladamente, bovino e avícola, pode-se inferir que, de modo geral, o comportamento foi semelhante. À medida que se aumentaram as doses, ocorreu incremento da produção de biomassa até a penúltima dose e, posteriormente, uma redução. A utilização das doses mais elevadas das duas fontes de esterco pode ter causado um desbalanço nutricional nas plantas, justificando, assim, a diminuição da biomassa seca.

Corroborando com os resultados de melissa, Vasconcelos et al. (2004) estudando aplicação de doses de NPK, verificaram um aumento de biomassa verde e seca de melissa à medida que se acrescem as doses, até determinada quantidade. Após isto, ocorreu uma redução no ganho de biomassa.

A relação raiz/P.A. de melissa apresentou diferença entre os tratamentos. O maior valor foi encontrado quando se utilizou a dose de 90 t de esterco bovino.ha⁻¹, mostrando maior alocação de assimilados para a raiz. Já para o esterco avícola este índice pouco variou (Figura 3). Isso pode ter ocorrido devido à estrutura física do esterco bovino ser mais poroso.

A área foliar total (AFT) foi afetada pela dose do adubo orgânico. Aplicando-se a dose de 90 t de esterco bovino.ha⁻¹ houve maior média, enquanto para o adubo orgânico avícola, as maiores doses proporcionaram os maiores valores (45 e 60 t.ha⁻¹), o que se deve, provavelmente, à maior quantidade de nitrogênio presente nesta fonte. Os menores valores foram observados quando as plantas de melissa foram cultivadas com ausência de adubação.

Resultados semelhantes foram encontrados por Benincasa et al. (1980) que encontraram menor área foliar e biomassa seca da parte aérea de *Euphorbia tirucalli* (Euphorbiaceae) em plantas cultivadas com pouca matéria orgânica.

Já plantas de *Pfaffia glomerata* (Amaranthaceae) cultivadas com as mesmas doses de esterco avícola desta pesquisa apresentaram tendência de aumento da área foliar com o aumento da dose, porém, a partir da dose 30 t.ha⁻¹, não houve diferença entre os tratamentos (Guerreiro, 2006). Resultados esses

divergentes dos encontrados nesse trabalho, uma vez que os maiores valores foram encontrados justamente nas doses subseqüentes à de 30 t de esterco avícola.ha⁻¹.

O esterco bovino pouco influenciou na altura de plantas de melissa (Figura3). Já os resultados obtidos por Ferreira (2003) mostram que doses crescentes de esterco bovino proporcionaram aumento linear na altura de *Catharanthus roseus* L. (Apocynaceae). Por outro lado, com a utilização de 45 t de esterco avícola.ha⁻¹ houve valor superior às demais doses desta fonte. Assim, salienta-se que plantas mais altas favorecem a operação da colheita e, além disso, o arejamento entre as plantas é maior, diminuindo, assim, a incidência de doenças.

Analisando-se as composições dos adubos orgânicos e os nutrientes quantificados na análise foliar das folhas de melissa, é possível fazer algumas inferências.

Observou-se superioridade na quantidade de nutrientes no esterco bovino, excetuando os nutrientes fósforo e potássio. O P e K são macronutrientes e requeridos em alta quantidade pelas plantas (Malavolta, 1979). A maior disponibilidade desses nutrientes no esterco avícola pode ter favorecido a produção de biomassa seca de melissa.

É sabido, também, que o esterco avícola possui quantidades de N muito superiores às do esterco bovino. E, de forma geral, foram verificados maiores teores de nitrogênio nas folhas de melissa, oriundas de plantas adubadas com o primeiro, em relação às adubadas com esterco bovino (Tabela 2). Este nutriente é, por excelência, o mais requerido para a produção de biomassa (CFSEMG, 1999).

Outrossim, Amaral (2005), trabalhando com *Chamomila reticulita* (Asteraceae), ao utilizar a adubação orgânica com maior dose de N, encontrou maior massa seca de plantas e número de capítulos abertos.

TABELA 2- Nutrientes das folhas de *Melissa officinalis* L., cultivadas em vasos com 0; 30; 60; 90 e 120 t de esterco bovino.ha⁻¹; 15; 30; 45 e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	%N	%P	%K	%Ca	%Mg	%S	ppm B	ppm Cu	ppm Mn	ppm Zn	ppm Fe
0	1,67	0,17	2,20	1,55	0,29	0,30	48,9	16,8	20,3	25,5	600,9
30 bovino	1,22	0,18	2,41	1,47	0,23	0,22	54,7	13,9	12,6	24,3	774,4
60 bovino	1,15	0,21	2,60	1,33	0,22	0,21	55,2	14,3	15,6	23,2	421,7
90 bovino	1,75	0,25	2,68	1,09	0,43	0,26	49,9	16,5	16,8	36,7	645,8
120 bovino	1,39	0,23	2,69	1,28	0,41	0,25	69,5	16,1	26,8	38,5	1446,7
15 avícola	2,01	0,25	2,51	1,64	0,45	0,25	55,6	18,2	17,8	42,6	1626,1
30 avícola	1,40	0,28	2,69	1,18	0,34	0,23	82,8	15,8	20,0	32,6	333,3
45 avícola	1,87	0,24	2,40	1,28	0,39	0,26	53,9	18,1	13,4	30,0	988,3
60 avícola	2,48	0,12	2,55	1,45	0,43	0,34	57,7	24,6	13,9	36,0	617,8

As respostas de crescimento avaliadas em plantas de melissa apontaram muitas diferenças quando adubadas com diferentes fontes e doses de esterco. Do mesmo modo, o conteúdo de óleo essencial também sofreu variações (Figura 4).

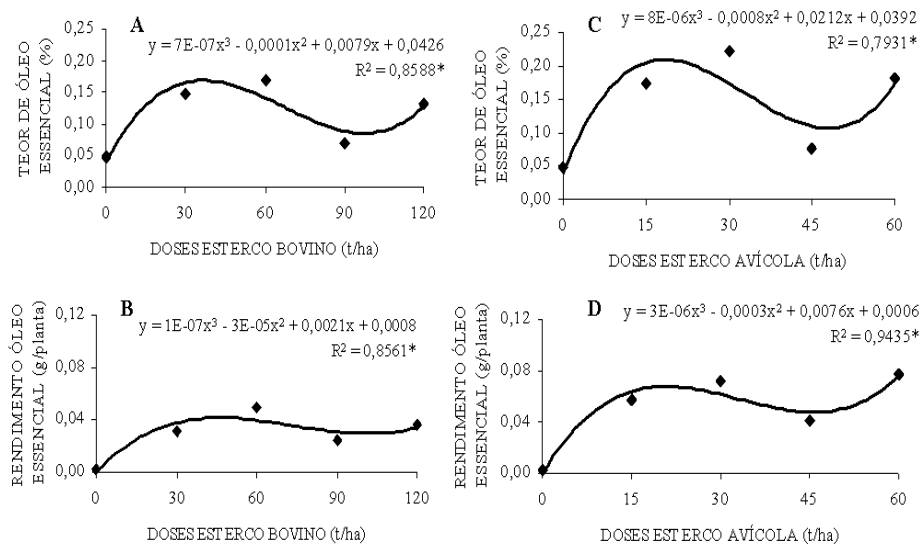


FIGURA 4- Teor (%) (A, C) e rendimento de óleo essencial (g.folhas secas da planta⁻¹) (B, D) de *Melissa officinalis* L., cultivadas em vasos com 0; 30; 60; 90 e 120 t de esterco bovino.ha⁻¹; 15; 30; 45 e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹, em casa de vegetação. *Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. UFLA, Lavras, MG, 2008.

O teor e o rendimento de óleo essencial de folhas de melissa apresentaram ajuste cúbico e o maior valor observado com a utilização do esterco bovino foi no cultivo das plantas com 60 t.ha⁻¹ e para o esterco avícola foi com 30 t.ha⁻¹. Os valores mais baixos ocorreram nos tratamentos: 0; 90 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 45 t de esterco avícola.ha⁻¹.

Os tratamentos que, de modo geral, apresentaram maiores resultados de biomassa seca aérea para as diferentes fontes- 90 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 45 t de esterco avícola.ha⁻¹ - apresentaram os menores teores e rendimento de óleo essencial e de citral (Figuras 1 e 4 e Tabela 3). Isto pode ser explicado pelo “efeito de diluição”. Gil et al. (2003) verificaram que, quando a biomassa aérea de *Aloysia triphylla* (Verbenaceae) foi alta, as concentrações médias de óleo

essencial caíram em folhas e flores. Os autores explicaram que isto é devido às diferenças entre as taxas de crescimento de biomassa e síntese do óleo essencial. Este fenômeno pode ter ocorrido com plantas de melissa.

Chaves et al. (2002), estudando *Lippia sidoides* (Verbenaceae), aplicaram 0; 15; 30; 45 e 60 t.ha⁻¹ de esterco de aves e observaram que, à medida que se aumentou a dose do adubo orgânico, houve maior produção de biomassa seca. Por outro lado, o maior rendimento de óleo essencial foi encontrado aplicando-se 15 t.ha⁻¹ de esterco de aves, tendo ocorrido redução paulatina do metabólito secundário crescendo-se as doses.

Silva et al. (2007), ao avaliar as doses de 0%; 5%; 10%; 20% e 30% de adubo orgânico no cultivo de *Baccharis trimera* (Asteraceae) verificaram que na ausência do adubo houve menor teor do óleo essencial, porém o rendimento cresceu à medida que aumentou a concentração de adubo orgânico no solo.

Trabalhando com *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae), Maia (2006) aplicou as doses de esterco bovino: 0; 30; 60; 90 e 120 t.ha⁻¹ e de esterco avícola: 0; 15; 30; 60 e 90 t.ha⁻¹. Os resultados apontaram que os maiores teores de óleo essencial foram encontrados aplicando-se 120 t de esterco bovino.ha⁻¹ (com aumento progressivo até esta dose) e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹. Apesar de ser da mesma família de melissa, os resultados foram divergentes, mostrando, mais uma vez, que cada espécie medicinal e aromática se comporta de maneira diferente.

TABELA 3- Composição química e percentagem relativa da área do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (%) cultivadas em vasos com 0; 30(b); 60(b); 90(b) e 120(b) t de esterco bovino.ha⁻¹; 15(a); 30(a); 45(a) e 60(a) t de esterco avícola.ha⁻¹, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

IK	Composto químico	Esterco bovino					Esterco avícola			
		0	30b	60b	90b	120b	15a	30a	45a	60a
1141	desconhecido	0	4,86	0,5	0,5	0,55	0,33	0,63	1,13	0
1152	citronelal	2,04	3,77	1,44	2,22	0,55	0,51	0,83	1,55	0
1193	angelato de prenila	2,76	0,50	0,50	0,0	0,77	0,73	0,86	1,12	0,49
1240	neral	1,50	6,96	11,79	2,16	23,24	17,52	18,87	9,33	25,75
1270	geranial	5,82	17,40	31,56	6,72	40,69	38,42	37,63	20,53	42,21
1278	epóxi-linalol (isômero desconhecido)	12,60	8,81	3,22	6,38	1,62	1,90	2,30	4,52	2,50
1283	epóxi-linalol (isômero desconhecido)	13,46	5,83	1,71	8,53	0,84	1,42	1,35	2,79	1,36
1296	acetato de desconhecido	0	3,07	1,89	0	0,81	0,6	1,98	2,21	0,34
1363	nerila	39,36	10,34	14,99	36,96	1,77	2,40	9,21	27,61	6,49
1374	trans-6-hidróxi-terpineol	3,90	0,5	6,04	4,34	9,06	9,81	1,84	2,59	4,33
1404	desconhecido	2,50	10,55	5,94	0,5	2,58	2,12	5,38	5,45	1,26
1426	desconhecido	2,66	4,99	1,92	2,84	0,54	0,51	0,93	1,98	0,22
1529	desconhecido	7,34	11,45	6,48	8,51	1,18	0,92	2,93	5,35	0,37
1585	óxido de cariofileno	1,94	7,85	3,61	1,86	2,80	9,11	4,30	9,92	11,08
Total		83,38	61,96	74,86	69,17	81,34	81,82	77,19	79,96	94,21

O teor de citral foi maior com a aplicação de 120 t de esterco bovino.ha⁻¹ e 60 t de esterco avícola.ha⁻¹. Já as concentrações de citronelal variaram conforme a fonte e a dose do adubo orgânico. A aplicação de 30 t de esterco bovino.ha⁻¹ proporcionou o maior teor desse composto, enquanto que com a

utilização de 60 t de esterco avícola.ha⁻¹ houve ausência do citronelal no óleo essencial de melissa.

4 CONCLUSÕES

Os tratamentos que proporcionaram maior crescimento das plantas com maior incremento de folhas secas, bem como teor, rendimento de óleo essencial e citral de *Melissa officinalis* L., foram com a aplicação do esterco bovino na dose de 60 t.ha⁻¹ e esterco avícola, nas doses de 30 e 60 t.ha⁻¹.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry**. Illinois: Allured, 2001.

AMARAL, W. **Desenvolvimento de camomila e produção do óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 2005. 83 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

BENINCASA, M.M.P.; RODRIGUES, T.J.D.; LEITE, I.C.; PAVANI, M.C.M.D.; BANZATTO, D.A. Estudos biológicos de *Euphorbia tirucalli* (avelós): efeitos do tipo do solo e adubação sobre índices de crescimento de plantas. **Revista Brasileira de Botânica**, Campinas, v. 3, n. 1/2, p. 49-53, 1980.

BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; OLIVEIRA, A.S.; MENDONÇA, M.C.; SILVA-MANN, R.; ARRIGONI-BLANK, M.F. Produção de mudas, altura e intervalo de cortes de melissa. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.23, n.3, p.780-784. 2005.

BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; AMANCIO, V.F.; MENDONÇA, F.C.; SANTANA FILHO, L.G.M. Densidades de plantio e doses de biofertilizante na produção de capim-limão. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.25, n.3, p.343-349. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normas climatológicas de 1961- 1990**. Brasília, 992. 84 p.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação.** Adubação orgânica. Viçosa, 1999. p. 87-92.

CHAVES, F.C.M. et al. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e teor de timol em alecrim-pimenta, em função da adubação orgânica. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

CHAVES, F.C.M. **Produção de biomassa, rendimento e composição de óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) em função da adubação orgânica e épocas de corte.** 2002. 144 p. Tese (Doutorado em Horticultura) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

CORRÊA, A.D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L.E.M. **Plantas Medicinais: do cultivo à terapêutica.** Petrópolis: Vozes, 2008. v.1. 247 p.

FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.3:** sistema de análise estatística. Lavras: UFLA/DEX, 1999. Software.

FERREIRA, M.M. **Crescimento, alocação de biomassa e abordagem fitoquímica de plantas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don em função de adubação orgânica e época de colheita.** 2003. 63p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GIL, A.; MORVILLO, C.; CONDE, C. *Aloysia citriodora* variabilidad intraespecífica y compromiso entre la acumulación de biomasa y el aceite esencial. . In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: diagnóstico e perspectivas, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: Instituto Agrônomo, 2003. p.21.

GUERREIRO, C.P.V. **Análise de crescimento, curva de absorção de macronutrientes (N, P e K) e teor de β -ecdisona em fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) em função da adubação orgânica.** 2006. 124p. Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

KOSHIMA, F.A.T.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e de citral em capim limão, *Cymbopogon citratus*, com cobertura morta, nas estações do ano. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS: diagnóstico e perspectivas, 2., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: Instituto Agrônomo, 2003. p.161.

LORENZI, H.; MATOS, F.S.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. p.245.

MAIA, S.S.S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Lamiaceae**. 2006. 150 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MALAVOLTA, E. Nutrição mineral. In: FERRI, M.G. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EDUSP, 1979. v.1, p. 97-113.

MORAIS, T.P.S. **Produção e composição do óleo essencial de mangericão (*Ocimum basilicum* L.) sob doses de cama de frango**. 2006. 38p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database**. Gaithersburg, MD: U.S. Department of Commerce, 1998.

PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA, 2002. p.47.

SALES, J.F. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 80 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, M.A.S.; MARQUES, M.O.M.; MING, L.C. Influência da adubação orgânica no teor e na composição do óleo essencial de gengibre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, jul. 2002. Suplemento, 2.

SILVA, R. **Crescimento e teor de óleo essencial de *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton (Verbenaceae), em função da adubação orgânica, sazonalidade, horário de colheita e processamento pós-colheita**. 2005. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, F.G.; PINTO, J.E.B.P.P.; CARDOSO, M.G.; SALES, J.F.; MOL, D.J.S.; DIVINO, S.P. Influence of manure and fertilizer on *Baccharis trimera* (Less.) D.C. growth and essential oil yield. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Binghamton, v. 13, n. 1, p.83-92, 2007.

SUBHADRA. **Produtos:** óleos essenciais. Disponível em:
<[http://www.subhadra.com.br/ecom/produtos/produtos.php?idc=1&min=20&co
unter=10&pagina=3](http://www.subhadra.com.br/ecom/produtos/produtos.php?idc=1&min=20&counter=10&pagina=3)>. Acesso em: 25 nov. 2007.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, n. 4, p. 463-471, 1963.

VASCONCELOS, W.E.; SOUSA, A.H.; BARROS JÚNIOR, A.P.; SILVEIRA, L.M.; PEREIRA, D.S. FREITAS, R.S.; MARACAJÁ, P.B. Eficiência da adubação NPK na produção de erva cidreira em casa de vegetação. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, 2004. Suplemento CD ROM.

CAPÍTULO III

Características fisiológicas de crescimento, quantidade e qualidade do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. cultivada sob malhas termo-refletoras em diferentes intensidades luminosas

BRANT, R.S.; PINTO, J.E.B.P. et al.

Preparado de acordo com as normas do periódico: *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*.

RESUMO

A luz é um fator determinante no crescimento e no desenvolvimento das espécies vegetais e, com relação ao metabolismo secundário, esse fator se torna ainda mais relevante. Este estudo foi realizado com o objetivo de caracterizar as variações fisiológicas de crescimento e a quantidade e qualidade do óleo essencial de plantas de melissa crescidas a 20%, 60% e 100% de intensidade luminosa, com o emprego de malhas termo-refletoras. Para a análise fisiológica de crescimento e da quantidade do óleo essencial, as plantas foram dispostas em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três níveis de luz e sete repetições, sendo cada parcela composta de dois vasos (uma planta por vaso); a análise de qualidade foi realizada a partir de amostra composta do óleo essencial. As características fisiológicas indicaram que o uso do sombreamento por meio de malhas termo-refletoras favorece o crescimento da planta. O emprego de 20% e 60% de intensidade luminosa proporcionou altas produções de biomassa seca de folhas. Não houve diferença para teor do óleo essencial, enquanto o seu rendimento foi maior sob sombreamento. Já o teor de citral foi superior a 60% de intensidade luminosa.

Palavras-chave: planta medicinal; luz; aluminet®; citral.

ABSTRACT

Physiological characteristics of growth, essential oil's quantity and quality of *Melissa officinalis* L. cultivated under thermo-reflectors shading nets in different luminous intensities

The light is a determinant factor on growth and development of vegetable species and, relating to secondary metabolism this factor becomes more relevant.

The objective of this study was to characterize the physiological variations growth and the quantity and quality of the essential oil of lemon balm's plants, grown under 20%, 60% and 100% of luminous intensity, using thermo-reflectors shading nets. For the physiological analysis growth and essential oil quantity the plants were disposed at completely randomized design (CRD), with three levels of light and seven replications, composed by two pots (one plant per pot) and the quality of the essential oil was made by a composed sample. The physiological characteristics showed that using thermo-reflectors shading nets increase the growth of the plant. At 20% and 60% of luminous intensity occurred high productions of leaves dry biomass. There was no difference for essential oil content, while its yield showed superior with cultivation under shading, and the citral's yield was more efficient at 60% light intensity. **Keywords:** medicinal plant; light; aluminet[®]; citral.

1 INTRODUÇÃO

Conhecida popularmente no Brasil como melissa ou erva-cidreira-verdadeira, a *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) é uma planta perene, herbácea, que pode atingir de 30 a 100 cm de altura, ramificando-se a partir da base, formando touceiras. As folhas são verde-escuras na face superior e verde-claras na face inferior, com 5 a 8 cm de comprimento (Hertwig, 1986). É originária da Europa e Ásia (Lorenzi & Matos, 2002).

O chá de melissa possui ação sedativa, tranqüilizante e indutora do sono, tendo um papel importante no controle da ansiedade. O citral, seu componente majoritário, é responsável pela ação relaxante (Sadraey et al., 2003). O mercado interno de chás oferece R\$ 11,00 (US\$6,50) por quilo de folha seca (Blank et al., 2005), enquanto que pelo seu óleo essencial são pagos por R\$23,50 (US\$13,90) a cada 10 mL (Subhadra, 2007).

Considerando a importância de um material vegetativo com padrão de qualidade, é fundamental pesquisar as diferentes técnicas de cultivo que influenciam na produção dos metabólitos secundários pelas plantas. De forma que a atenção não deve ser voltada apenas para o crescimento vegetal, mas também à obtenção do princípio ativo.

No que tange ao cultivo protegido, as telas de sombreamento têm sido empregadas, principalmente, como solução de menor custo econômico, visando níveis adequados de luz. O fabricante afirma que as malhas termo-refletoras, recentemente lançadas no mercado brasileiro, por serem revestidas de alumínio e terem fios retorcidos, fazem com que a temperatura do ambiente abaixe de 10% a 20%, fornecendo, em média, 15% de luz difusa ao ambiente, não afetando os processos fotossintéticos, promovendo, ainda, o sombreamento.

A luz controla o desenvolvimento das plantas, sendo um fator muito importante do meio ambiente em plantas superiores. Fator eletivo, influencia a expressão gênica por meio da fotossíntese (intensidade) (Felippe, 1986).

Silva et al. (2006), estudando *Baccharis trimera* (carqueja amarga), verificaram que a intensidade de luz causou grandes modificações na morfologia interna e externa da planta. Conseqüentemente, houve diferenças na produção de biomassa e no rendimento de óleo essencial.

Em *Thymus vulgaris* (tomilho), a concentração total do óleo foi mais alta em plantas cultivadas a 100% de intensidade luminosa e diminuiu com o decréscimo no nível da intensidade. Dos 19 compostos comparados nos vários tratamentos de intensidade de luz, a maioria diminuiu com os decréscimos dos níveis de luz. O timol, composto majoritário, foi aproximadamente 10% mais alto em plantas submetidas a 100% de intensidade luminosa do que a 27% (Li et al., 1996).

Pode-se observar que as espécies se comportam de variadas formas quando submetidas a diferentes intensidades luminosas. Assim, é de

fundamental importância conhecer o efeito da radiação sobre vários aspectos da produção de melissa.

Vislumbrando a necessidade desse conhecimento, o objetivo da realização deste estudo foi avaliar o comportamento fisiológico e a produção de óleos essenciais de plantas de *Melissa officinalis* L, cultivadas sob diferentes intensidades luminosas, com a utilização de malhas termo-refletoras (Aluminet®).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Horto Medicinal do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras está situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 metros de altitude, latitude de 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992).

Obtenção do material vegetal

As exsiccatas da espécie estudada estão depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA e correspondem ao nº 22155.

As mudas de melissa foram produzidas a partir de uma planta matriz utilizando-se microestacas apicais de 5 cm de comprimento e 2 mm de diâmetro e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Foram cultivadas em estufa com 60% de sombreamento e, posteriormente, aclimatizadas por meio do aumento gradativo da intensidade luminosa.

Condições climatológicas durante a condução do experimento

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Tabela 1 e a temperatura média incidente nas plantas de melissa sob as diferentes intensidades luminosas são mostrados na Tabela 2.

TABELA 1- Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de agosto de 2006 a janeiro de 2007. UFLA, Lavras, MG, 2008.

MESES/ANOS	T _x	T _n	T _{méd.}	Prec.total	UR.	Insol.
AGOSTO/06	27,8	15,4	20,4	82,5	71,4	7,0
SETEMBRO/06	27,3	13,8	19,4	73,2	65,4	7,0
OUTUBRO/06	27,3	16,9	21,2	107,0	73,9	5,2
NOVEMBRO/06	28,0	17,4	21,3	262,0	77,1	5,9
DEZEMBRO/06	28,5	18,7	22,8	220,6	79,1	4,8
JANEIRO/07	27,6	18,7	22,1	554,7	87,0	3,0

T_x- Média mensal da temperatura máxima (° C)

T_n – Média mensal da temperatura mínima (° C)

T_{méd.} – Média mensal de T_x e T_n diárias (° C)

Prec. total – Precipitação total mensal (mm)

UR – Umidade relativa do ar média mensal (%)

Insol.- Insolação média mensal (horas)

TABELA 2- Temperatura média local sob 20%, 60% e 100% de intensidade luminosa, utilizando malhas termo-refletoras. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	T méd. (°C)
20%	28
60%	29
100%	31

Instalação do experimento

Em outubro de 2006, 42 mudas de 10 cm de altura foram transplantadas para vasos de 5 L, contendo solo, areia e esterco bovino (2:1:1).

Foram estabelecidos três tratamentos e sete repetições, sendo cada parcela composta de dois vasos (uma planta/vaso), dispostos conforme o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram caracterizados pela disponibilidade de radiação solar incidente: 20%, 60% e 100% de intensidade de luz (pleno sol). O controle foi realizado por meio de tela Aluminet[®], com especificação comercial de 80% e 40% de interceptação da radiação solar. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Avaliações de crescimento

As características de crescimento avaliadas foram: altura da parte aérea, biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raízes, total, razão raiz/parte aérea, área foliar total (AFT), RAF, RPF e AFE.

Após 13 semanas de cultivo, foi mensurada a altura da parte aérea (colo ao ápice), com o auxílio de uma régua e, posteriormente, todo o material vegetal foi coletado, entre 7 e 8 horas da manhã.

As folhas foram destacadas dos ramos e foi realizada a detecção da área foliar (AFT) de sete plantas representativas de cada tratamento, em 100% das folhas, utilizando-se um integralizador de área foliar MODEL LI-3100, Área Meter marca LICOR.

Posteriormente, as folhas e os caules foram colocados em sacos de papel kraft e acondicionados em estufa de circulação forçada de ar, a 35°C, enquanto as raízes foram lavadas e, depois de retirada a umidade excessiva, foram também conduzidas à estufa. Depois de atingido peso constante, obtiveram-se suas massas.

A razão da área foliar (RAF), a razão de peso foliar (RPF) e a área foliar específica (AFE) foram determinadas a partir dos valores de área foliar total (AFT), expressos em dm^2 , da biomassa seca da planta (P) e a biomassa seca das folhas (Pt), expressos de acordo com Benincasa (1988).

Extração e identificação da composição química dos óleos essenciais

Para a extração dos óleos essenciais, as plantas sofreram uma triagem, selecionando-se apenas as folhas sadias. Foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger. Dez gramas de folhas secas foram colocadas em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 750 mL de água destilada.

Após a detecção de início de fervura, teve início a cronometragem. Findo o período de extração de uma hora e meia, o hidrolato, obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 25mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com uma porção em excesso de sulfato de magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado, à temperatura ambiente, em capela de exaustão de gases até alcançar peso constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas: $T\% = \text{massa do óleo (g)} / 10\text{g} \times 100$. O rendimento foi calculado pela fórmula: $R = \text{biomassa seca total das folhas/planta (g)} \times \text{massa do óleo obtido (g)} / 10 \text{ g}$.

As amostras foram identificadas por meio de cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro quadrupolar de massas CG-EM, Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão). Foram empregadas as seguintes condições: coluna CBP-5 (Shimadzu) preenchida em coluna capilar de sílica (30 m comprimento x

0,25 mm diâmetro interno x 0,25µm de espessura do filme, composto de fenilmetilpolisiloxano 5%) conectada a um detector quadrupólo operando em energia de impacto a 70 eV com intervalo de massa entre 40-400 u, à razão de 0,5 scans s⁻¹; gás: He (1 mL s⁻¹); injetor e temperatura de interface a 220°C e 240°C, respectivamente, com razão de fluxo 1:20. O volume de injeção foi de 0,2 µL (20% em CH₂Cl₂) em fluxo e temperatura de 60°C e 246°C, com aumento de 3°C min⁻¹, após 10°C min⁻¹ para 270°C, mantendo-se a temperatura final por 5 minutos. A identificação dos constituintes foi realizada por comparação, automática e manual, dos espectros de massas obtidos com os das bibliotecas NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os da literatura (Adams, 2001) e co-injeção com padrões autênticos. Os IR foram calculados a partir da co-injeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C8–C32 (Sigma, EUA) e com a aplicação da equação de Van Den Dool & Kratz (1963).

As concentrações relativas dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos e expressas com valores aferidos nas três análises.

Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa Sisvar[®] versão 4.3 (Ferreira, 1999). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F e comparadas pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A planta em estudo utiliza a folha para acumular seu princípio ativo, e é o órgão responsável pela captação de luz. Assim, a produtividade vegetal depende muito das taxas fotossintéticas, ou seja, da intensidade luminosa incidente nas

folhas. Dessa forma, para todas as medidas biométricas (e conseqüentemente, de produtividade) dos diferentes órgãos das plantas de melissa, submetidas aos regimes luminosos, foram observadas diferenças (Figura 1).

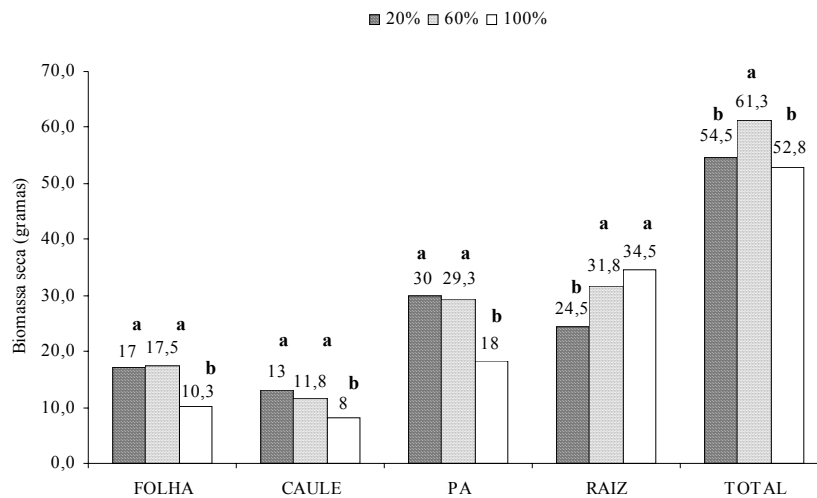


FIGURA 1- Biomassa seca das folhas, caules, parte aérea, raiz e total (gramas) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletores (Aluminet®). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

A biomassa seca das folhas, do caule e da parte aérea apresentou-se superior quando as plantas foram submetidas a 20% e a 60% de intensidade de luz. Isso sugere que o sombreamento com malhas termo-refletores favorece a produção de biomassa dos órgãos da parte aérea de melissa. Para a produção comercial, a malha termo-refletores pode prevenir danos decorrentes da incidência direta de luz sobre as folhas reduzir a temperatura em dias de calor,

pois a espécie se adapta melhor a temperaturas mais baixas, que não ocorreram durante a condução do experimento, realizado na primavera-verão.

Além disso, de acordo com Taiz & Zeiger (2004), quando as folhas são expostas a uma intensidade de luz maior do que podem utilizar, o centro de reação do fotossistema é inativado e danificado (fotoinibição). Estudos com populações naturais do salgueiro, de culturas de colza e de milho, têm mostrado que os efeitos cumulativos de uma depressão diária de taxas fotossintéticas, causada por fotoinibição, diminuem em 10% a biomassa ao final da estação de crescimento. Assim, pode-se inferir que plantas de melissa cultivadas a pleno sol podem ter menor quantidade de biomassa aérea devido a este fator.

Visualmente, as plantas sob as malhas mostraram arquitetura da parte aérea arqueada com caules mais alongados e maior quantidade de folhas com coloração verde-escuras enquanto as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram arquitetura ereta com caules menores e folhas de coloração verde-clara (Figura 2).



FIGURA 2- Plantas de *Melissa officinalis* L. cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletoras (Aluminet[®]). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Em trabalhos com plantas da mesma família de melissa (Lamiaceae), Castrillo et al. (2005) obtiveram resultados discordantes. Plantas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit., *Ocimum basilicum* L., *Rosmarinus officinalis* L. e *Salvia officinalis* L. apresentaram acúmulos mais elevados de fitomassa seca de folhas quando cultivadas sob sombrite em maiores níveis de intensidade luminosa.

Corroborando com os resultados desta pesquisa, Lima Júnior (2005), trabalhando com *Cupania vernalis* Camb. (Sapindaceae) sob diferentes níveis de sombreamento relatou que o crescimento da parte aérea foi reduzido nas plantas

cultivadas a pleno sol em relação àquelas sob 50% e 70% de intensidade luminosa.

Por outro lado, a biomassa radicular de melissa mostrou-se maior nos tratamentos de 60% e 100% de intensidade luminosa (Figura 1). Pode-se inferir que uma grande intensidade de luz incidente nas plantas destes tratamentos aumenta a evapotranspiração das folhas, induzindo o crescimento radicular à busca de água. E, ainda, as plantas submetidas ao alto sombreamento com malha termo-refletora (80%), com apenas 20% de luz, priorizaram a produção de parte aérea, principalmente folhas (em número e tamanho), em detrimento de raízes, para melhor captação da energia luminosa.

Ao analisar a massa seca de toda a planta, notou-se o emprego de 60% de luz utilizando-se malha termo-refletora proporcionou valor superior aos demais, e estes não apresentaram diferença entre si. Salienta-se, assim, o primeiro ambiente citado promoveu melhor desenvolvimento de toda a planta, bem como particionado. Em enfoque fitotécnico, deve-se empregar o sistema em que priorize-se a produção de biomassa foliar, já que o óleo essencial é produzido pelas folhas.

A razão biomassa seca raiz/P.A. indicou eficácia das plantas submetidas a 100% de intensidade luminosa para a drenagem de fotoassimilados para as raízes (Figura 3). Os tratamentos em que foi empregado o sombreamento com malhas termo-refletoras (40% e 80%) apresentaram-se inferiores para esta característica. Além disso, pôde-se observar que quanto maior o sombreamento com malha termo-refletora, menor é esta eficiência. Em 20% de intensidade luminosa (ou malha de 80%), houve menor biomassa do sistema radicular e alta produção de biomassa da parte aérea, o que ocasionou baixos valores de raiz/P.A. A 60% de intensidade de luz, houve maiores valores de biomassa de raiz e parte aérea, originando medianos valores do referido índice. A pleno sol, o

sistema radicular apresentou alto valor de biomassa, enquanto a parte aérea apresentou os menores valores.

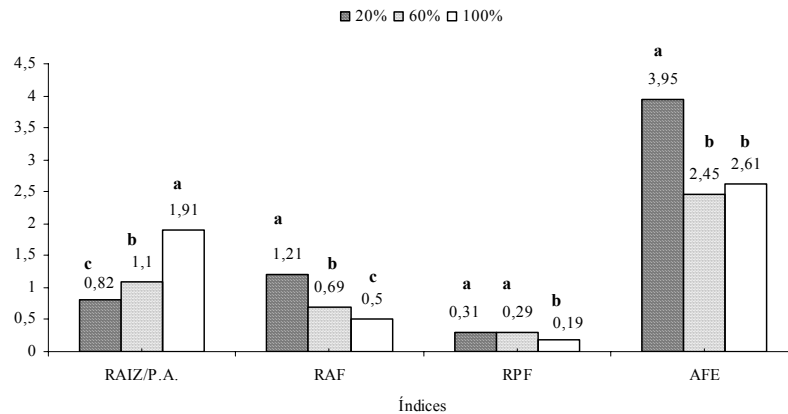


FIGURA 3- Relação raiz/parte aérea, razão de peso foliar (RPF = $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), razão de área foliar (RAF = $\text{dm}^2\cdot\text{g}^{-1}$) e área foliar específica (AFE = $\text{dm}^2\cdot\text{g}^{-1}$) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletores (Aluminet®). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Thompson et al. (1992) e Walters et al. (1993) sugerem que a menor distribuição de massa seca para raízes, quando as plantas são submetidas a condições de menor luminosidade, possivelmente revela uma resposta adaptativa que proporciona maiores ganhos de carbono, como, por exemplo, um aumento na razão de área foliar (Figura 3).

Os índices fisiológicos RAF, RPF e AFE mostram a eficiência produtiva das plantas de melissa, visto que o interesse fitotécnico está nas folhas. Segundo Benincasa (1988), a RAF expressa a área foliar útil para a fotossíntese, que indicou diferença entre todos os tratamentos, de modo que o sombreamento

favoreceu a produção das folhas em área, pois, quanto maior a intensidade de luz, menor foi a eficiência produtiva de folhas em área, em relação ao peso da planta. Isso mostra a capacidade adaptativa da espécie, por investir na expansão das folhas, que é o órgão fotossintético (Patterson, 1980) (Figura 3).

A baixa RAF verificada no tratamento em pleno sol pode ser considerada como benéfica como mecanismo fisiológico de sobrevivência, uma vez que menos material vegetal é exposto a eventuais danos causados por excesso de luz (Claussen, 1996). Houve, também, alocação de assimilados em peso, para as raízes, caracterizadas como forte dreno quando cultivada a pleno sol, em detrimento das folhas, mostrando, assim, um melhor desempenho da espécie em produzir folhas quando submetidas a menores intensidades de luz.

Para a RPF, os tratamentos em que houve emprego de sombreamento com malha termo-refletora não diferiram entre si, porém, foram superiores ao tratamento em que não houve sombreamento (100% de intensidade de luz). A AFE indicou maior tamanho por grama de folha, em plantas cultivadas com 20% de intensidade de luz (80% de sombreamento com malha termo-refletora) e, as plantas de melissa tratadas com 60% a 100% de intensidade luminosa foram iguais. Isso pode ser atribuído ao fato de ter ocorrido, a 20% de luz, um investimento metabólico em aumento no tamanho das folhas para melhor captação da pouca energia solar incidente. De acordo com Benincasa (1988), o inverso desse índice reflete a espessura da folha, podendo-se concluir que as folhas de melissa cultivada a pleno sol e com baixo sombreamento com malha termo-refletora (40%) apresentaram maior espessura foliar.

Larcher (2004) afirma que plantas que crescem sob forte radiação apresentam folhas mais espessas, o que também foi verificado nesta pesquisa e, além disso, apresentam metabolismo mais ativo; como consequência, essas plantas apresentam maior produção de massa seca, com maior conteúdo energético. Isso não foi verificado com melissa, pois, os resultados de produção

de massa seca total indicaram valores superiores quando as plantas foram cultivadas sob 60% de luz havendo, também, grande variação na biomassa particionada. Assim, torna-se evidente a eficiência adaptativa da espécie ao sombreamento com malha termo-refletora.

Reportando-se à área foliar total (AFT), Jones & Mcleod (1990) afirmam que esta é uma característica muito utilizada na avaliação do efeito do sombreamento sob a planta. Em geral, asseveram que o aumento da área foliar com o sombreamento é uma das maneiras da planta incrementar a superfície fotossintética, assegurando um melhor aproveitamento de baixas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensando as baixas taxas fotossintéticas por unidade de área foliar, que é uma característica da planta de sombra cultivada sob sombra (Figura 4). Isso, mais uma vez, confirma os resultados obtidos nessa pesquisa, pois, observou-se o mesmo comportamento encontrado na AFE.

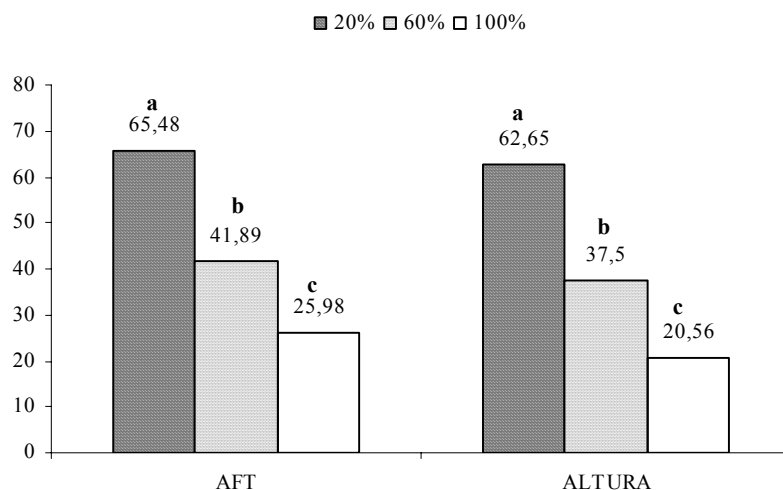


FIGURA 4- Área foliar (AFT = dm²) e altura da parte aérea (cm) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletoras (Aluminet[®]). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Para a altura da parte aérea de melissa, o tratamento que proporcionou a maior valor foi o de 20% de intensidade de luz. À medida que aumentou a intensidade luminosa, ou seja, diminuiu o sombreamento com malha termo-refletora, houve decréscimo na altura da espécie (Figura 4). Thompson et al. (1992) e Walters et al. (1993) sugerem que, provavelmente, ocorre uma resposta adaptativa que proporciona maiores ganhos de carbono, como, por exemplo, numa estratégia buscando luminosidade, como um aumento na altura.

Silva et al. (2006) verificaram, em *Baccharis trimera* (Less) DC, Asteraceae, cultivada sob intensidades luminosas 20%, 50%, 60% e 100%, reduções na altura da parte aérea, à medida que aumentaram a intensidade de luz. Esses resultados corroboram aos encontrados nesta pesquisa.

Analisando-se a produção de óleos essenciais, pôde-se concluir que a intensidade de luz não afetou o teor de óleo essencial produzido pelas plantas de melissa. Já o rendimento, por ser expresso pela produção de folhas por planta, foi semelhante nos tratamentos em que houve a adoção do sombreamento e superiores ao das plantas de melissa cultivadas a pleno sol (Figura 5).

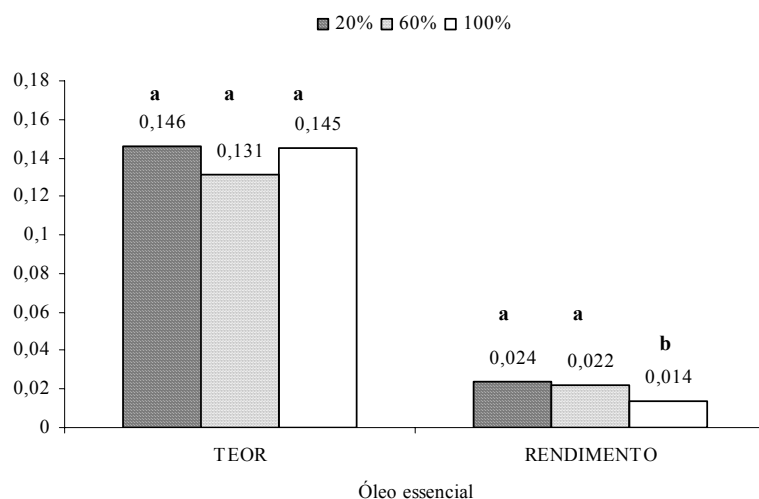


FIGURA 5- Teor (%) e rendimento de óleo essencial (g.planta⁻¹) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletores (Aluminet[®]). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Resultados semelhantes para teor do óleo essencial foram obtidos por Sales (2006), utilizando a mesma malha, no cultivo de *Hyptis marrubioides*. Em trabalho com *Lippia alba* (Verbenaceae), constatou-se que níveis crescentes de 30% a 100% de intensidade de luz favoreceram a produção de óleo essencial (Ventrella & Ming, 2000).

Silva et al. (2006), avaliando a influência da intensidade de luz no rendimento e no crescimento de óleo essencial de carqueja amarga, utilizaram sombrite com quatro níveis, de 20%, 50%, 60% e 100%. Os resultados obtidos indicaram que o aumento da intensidade luminosa tendeu a aumentar o teor de óleos essenciais, elevando o rendimento por planta. Esses resultados estão em contraste com os obtidos com melissa.

Pinto et al. (2007), estudando *Aloysia gratissima* (Verbenaceae), usando a mesma malha, observaram que não houve diferença entre os teores de óleo essencial. Com relação ao rendimento, os tratamentos 60% e 100% de intensidade de luz apresentaram-se superiores em detrimento do emprego de 20% de intensidade luminosa, o que contrasta com os resultados deste trabalho.

Ademais, a composição química do óleo essencial indicou que o citral (neral + geranial), composto químico majoritário e de maior interesse para melissa, foi encontrado em altas concentrações em folhas de plantas submetidas a 60% de intensidade de luz, com 63,57% (Tabela 3). Em seguida, os tratamentos com 20% e 100% de intensidade luminosa apresentaram porcentagem relativa da área quase semelhante e menor em comparação ao primeiro: 39,8% e 37,58%. Ou seja, o cultivo à “meia-sombra” favorece tanto o rendimento, quanto a qualidade do óleo essencial de melissa.

TABELA 3- Composição química e percentagem relativa da área do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (%) cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletoras (Aluminet®). UFLA, Lavras, MG, 2008.

IK	Composto químico	20%	60%	100%
1141	desconhecido	1,05	0	1,51
1152	citronelal	2,14	2,62	2,13
1193	angelato de prenila	0,50	3,31	1,36
1240	neral	13,15	23,38	12,95
1270	geranial	26,65	40,19	24,63
1278	epóxi-linalol (isômero desconhecido)	4,30	2,82	10,88
1283	epóxi-linalol (isômero desconhecido)	2,49	3,29	7,83
1296	desconhecido	1,97	0,77	1,53
1363	acetato de nerila	20,94	3,24	8,96
1374	trans-6-hidróxi-terpineol	0,60	2,62	1,80
1404	desconhecido	7,92	5,72	8,48
1426	desconhecido	2,29	2,89	3,52
1529	desconhecido	7,79	5,04	6,86
1585	óxido de cariofileno	3,39	2,65	4,15
Total identificado		74,16	84,12	74,69

Já a concentração de angelato de prenila apresentou menor valor em plantas cultivadas sob 20% de intensidade luminosa.

4 CONCLUSÕES

As características fisiológicas indicaram que o uso do sombreamento por meio de malhas termo-refletoras favoreceu o crescimento da planta.

O emprego de 20% e 60% de intensidade luminosa proporcionou altas produções de biomassa seca de folhas.

Não houve diferença para teor do óleo essencial, enquanto o seu rendimento foi maior sob sombreamento. Já o teor de citral foi superior a 60% de intensidade luminosa.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry**. Illinois: Allured, 2001
- BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: UNESP/FCAV, 1988. 41 p.
- BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; OLIVEIRA, A.S.; MENDONÇA, M.C.; SILVA-MANN; ARRIGONI-BLANK, M.F. Produção de mudas, altura e intervalo de cortes de melissa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normas climatológicas de 1961- 1990**. Brasília, 1992. 84 p.
- CASTRILLO, M.; VIZCAINO, D.; MORENO, E.; LATORRACA, Z. Specific leaf mass, fresh:dry weight ratio, sugar and protein contents in species of Lamiaceae from different light environments. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 53, n. 1/2, p. 23-28, mar./jun. 2005.
- CLAUSSEN, J. W. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 80, n. 1/3, p. 245-255, jan. 1996.
- FELIPPE, G.M. **Fisiologia vegetal 2**. São Paulo: EPU, 1986. 401 p.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4. 3**-Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999.
- HERTWIG, I.F. **Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem e comercialização**. São Paulo: Icone, 1986. 449 p.
- JONES, R.H.; MCLEOD, K.W. Grow and photosynthetic responses to a range of light environments in Chinese tallow tree a Carolina ash seedlings. **Forest Science**, Washington, v. 36, n. 4, p. 851-862, Dec. 1990.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.

LI, Y.; CRAKER, L.E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.426, p.419-426, 1996.

LIMA JÚNIOR, E.C.; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, M.C.; VIEIRA, C.V.; OLIVEIRA, H.M. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1092-1097, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.S.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. p.245.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database**. Gaithersburg, MD: U.S. Department of Commerce, 1998.

PATTERSON, D.T. Light and temperature adaptation. In: HESKETH, J.D.; JONES, J.W. (Ed.). **Predicting photosynthesis for ecosystems models**. Boca Raton, Florida: CRC, 1980. p. 205-235.

PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, J.C.W.; CASTRO, E.M.; BERTOLUCCI, S.K.V.; MELO, L.A.; DOUSSEAU, S. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 210-214, 2007.

SADRAEY, H.; GHANNADI, A.; MALEKSHAHI, K. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. **Fitoterapia**, n.74, p.445-452, 2003.

SILVA, F. G.; PINTO, J. E. B. P.; CARDOSO, M. G.; NASCIMENTO, E. A.; NELSON, D. L.; SALES, J. F.; MOL, D. J. S. Influence of radiation level on plant growth, yield and quality of essential oil in [*Baccharis trimera* (Less.) D. C.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 52-57, jan./fev. 2006.

SUBHADRA. **Produtos: óleos essenciais**. Disponível em: <<http://www.subhadra.com.br/ecom/produtos/produtos.php?idc=1&min=20&count=10&pagina=3>>. Acesso em: 25 nov. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

THOMPSON, K. Germination at alternating temperatures. In: HENDRY, G. A.F.; GRIME, J. P. (Ed.). **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 176-205.

VAN DEN DOOL, D.H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

VENTELLA, M. C.; MING, L. C. Produção de matéria seca e óleo essencial em folhas de erva-cidreira sob diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 972-974, 2000. Suplemento.

WALTERS, M. B. et al. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. **Oecologia**, Berlin, v. 94, n. 1, p. 7-16, May 1993.

CAPÍTULO IV

Características fisiológicas e anatômicas de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) cultivada sob malhas termo-refletoras

BRANT, R.S.; PINTO, J.E.B.P. et al.

Preparado de acordo com as normas do periódico: *Revista Brasileira de
Biotecnologia*.

RESUMO

A morfologia dos cloroplastos e seus grãos de amido, clorofilas, epiderme e parênquimas é muito variável quando as plantas são submetidas a diferentes intensidades de luz. Assim, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar modificações fisiológicas e anatômicas em plantas de melissa, cultivadas sob malhas termo-refletores (Aluminet[®]), em diferentes níveis de sombreamento. Os tratamentos foram caracterizados por plantas mantidas a pleno sol, a 20% e a 60% de intensidade luminosa, e arranjos conforme o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Plantas submetidas a 20% de intensidade luminosa apresentaram maior quantidade de clorofila *a* e, portanto, maior razão clorofila *a/b*. As folhas de melissa a pleno sol e a 60% de luz apresentaram células da face superior mais espessas, mas as células da superfície inferior mostraram características encontradas em folhas de sombra, ou seja, mais finas. Quanto maior a intensidade luminosa, maior o número de cloroplastos, porém, a pleno sol, mostraram-se mais finos e com menor área. Os grãos de amido de plantas cultivadas sob 60% de intensidade luminosa mostraram maior área ocuparam maior parte nos cloroplastos.

Palavras-chave: planta medicinal; cloroplasto; epiderme; sombreamento; aluminet[®].

ABSTRACT

Physiological and anatomical characteristics of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) cultivated under thermo-reflectors shading nets

The morphology of the chloroplasts and its starch grains, chlorophylls, epidermis and parenchymas is much variable when the plants are submitted at

different light intensity. Thus, the objective of this research was to evaluate physiological and anatomical modifications in lemon balm's plants, cultivated under thermo-reflectors nets (Aluminet[®]) at different levels of shading. The treatments were characterized by plants submitted at full sunshine, 20% and 60% of luminous quantity, and arranged by completely randomized design (CRD). Plants submitted at 20% of luminous intensity showed higher *a* chlorophyll and, therefore, higher *a/b* chlorophyll ratio. Lemon balm's leaves under full sunshine and 60% of light showed cells of up face thicker, but its low face cells showed characteristics found in shaded leaves, or being, thinner. As much as added the availability of light, occurred higher chloroplasts number, however, under full sunshine it exhibited thinner and with smaller area. The starch grains of leaves grown under 60% of luminous intensity showed higher area and occupied higher part on chloroplasts.

Keywords: medicinal plant; chloroplast; epidermis; shading; aluminet[®].

1 INTRODUÇÃO

A melissa (*Melissa officinalis*), também chamada de erva-cidreira-verdadeira, pertencente à família Lamiaceae, é perene, herbácea, podendo atingir de 30 a 100 cm de altura. Tem caule quadrangular, herbáceo, ereto, piloso e aromático, ramificando-se a partir da base, formando touceiras. As folhas são verde-escuras na face superior e verde-claras na face inferior, com 5 a 8 cm de comprimento, são pecioladas, opostas, ovais, pilosas e com nervuras salientes (Hertwig, 1986). É originária da Europa e Ásia (Lorenzi & Matos, 2002). O chá de melissa possui atividade sedativa, tendo um papel importante no controle da ansiedade. É tranqüilizante e indutora do sono (Sadraey et al., 2003).

Existe íntima relação entre a produção dos diferentes metabólitos e os tipos e organização dos tecidos vegetais. Assim, a obtenção de informações que

permitam conhecer o efeito dos tratamentos utilizados nos cultivos das plantas medicinais sobre a estrutura interna dessas plantas é de fundamental importância (Taiz & Zeiger, 2004).

A luz controla o desenvolvimento das plantas, sendo um fator muito importante do meio ambiente em plantas superiores. Fator eletivo, influencia a expressão gênica por meio da fotossíntese (intensidade) (Felippe, 1986).

Diferenças nas condições de luminosidade podem acarretar variações nos teores de clorofilas, já luz é essencial à síntese deste pigmento (Whatley & Whatley, 1982). Folhas de sombra, por exemplo, possuem concentração maior de clorofila (mg/g) do que as folhas de sol (Kramer & Kozłowski, 1979).

Outrossim, a anatomia foliar é altamente especializada para a absorção de luz, e as características do mesófilo, principalmente as do parênquima paliçádico, garantem a absorção uniforme da luz através da folha. De acordo com Taiz & Zeiger (2004), em geral as folhas de sol são mais espessas e apresentam células paliçádicas mais longas do que as de sombra. Castro (2002), estudando plantas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae) sob diferentes níveis de sombreamento, observou que a epiderme foi mais espessa em condições de pleno sol. Gonçalves (2001) observou que plantas de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) cultivadas em radiação solar plena apresentaram maiores espessuras nos parênquimas foliares que as plantas cultivadas a 50% da radiação solar incidente.

Nery et al. (2007), trabalhando com Sombrite® a 0%, 30%, 50% e 70% de sombreamento com a *Calophyllum brasiliense*, concluíram que não houve diferença para número de cloroplastos por célula, o qual variou de seis a sete. Todos os tratamentos apresentaram grãos de amido, tendo a 70% de sombreamento mostrado maior irregularidade morfológica.

Assim, as respostas estruturais das espécies são diferenciadas se fazendo necessário conhecê-las para cada qual, com vistas a uma maior eficiência

produtiva. Dessa forma, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar modificações fisiológicas e anatômicas em melissa, cultivada sob malhas termorefléticas (Aluminet[®]), em diferentes níveis de sombreamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Horto Medicinal do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras está situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 metros de altitude, latitude de 21°14'S e longitude de 45°00'W GRW. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992).

Obtenção do material vegetal

As exsicatas estão depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA e correspondem ao nº 22155.

As mudas de melissa foram produzidas a partir de uma planta matriz, utilizando-se microestacas apicais de cinco centímetros de comprimento e dois mm de diâmetro e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®]. Foram cultivadas em estufa com 60% de sombreamento e, posteriormente, aclimatizadas por meio do aumento gradativo da intensidade luminosa.

Condições climatológicas durante a condução do experimento

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e

estão expostos na Tabela 1 e a temperatura média incidente nas plantas de melissa sob as diferentes intensidades luminosas são mostrados na Tabela 2.

TABELA 1- Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de agosto de 2006 a janeiro de 2007. UFLA, Lavras, MG, 2008.

MESES/ANOS	Tx	Tn	Tméd.	Prec.total	UR.	Insol.
AGOSTO/06	27,8	15,4	20,4	82,5	71,4	7,0
SETEMBRO/06	27,3	13,8	19,4	73,2	65,4	7,0
OUTUBRO/06	27,3	16,9	21,2	107,0	73,9	5,2
NOVEMBRO/06	28,0	17,4	21,3	262,0	77,1	5,9
DEZEMBRO/06	28,5	18,7	22,8	220,6	79,1	4,8
JANEIRO/07	27,6	18,7	22,1	554,7	87,0	3,0

Tx- Média mensal da temperatura máxima (° C)

Tn – Média mensal da temperatura mínima (° C)

Tméd – Média mensal de Tx e Tn diárias (° C)

Prec. total – Precipitação total mensal (mm)

UR – Umidade relativa do ar média mensal (%)

Insol.- Insolação média mensal (horas)

TABELA 2- Temperatura média local sob 20%, 60% e 100% de intensidade luminosa, utilizando malhas termo-refletoras. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	T méd. (°C)
20%	28
60%	29
100%	31

Instalação do experimento

Em outubro de 2006, 42 mudas de 10 cm de altura foram transplantadas para vasos de 5 L, contendo solo, areia e esterco bovino (2:1:1).

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os tratamentos foram caracterizados pela disponibilidade de radiação solar incidente: 20%, 60% e 100% de intensidade de luz (pleno sol). O controle foi realizado por meio de tela Aluminet[®], com especificação comercial de 80% e 40% de interceptação da radiação solar. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Avaliações

As avaliações foram iniciadas após 13 semanas da instalação do experimento, a partir 15 de folhas completamente expandidas do terceiro nó da parte superior da planta, tomadas ao acaso, em cada tratamento.

Determinação dos conteúdos de clorofila

As folhas foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e em caixa de isopor com gelo até serem transferidas ao laboratório. A quantificação das clorofilas *a*, *b* e total foi realizada segundo a metodologia de Arnon (1949), utilizando-se quatro repetições.

As folhas foram cortadas em pedaços de 1cm, eliminando-se a nervura central e, em seguida, foram determinadas as massas frescas para cada avaliação (com quatro repetições) e a absorbância das amostras, a 663nm, para a clorofila *a* e a 645nm, para a clorofila *b*, num espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B. Os cálculos de mg de clorofila por grama de massa seca de tecido foliar foram realizados a partir das equações: clorofila *a* = $[12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}] \times [V/(1000 \times W)]$; clorofila *b* = $[22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}] \times [V/(1000 \times W)]$; clorofila total = $[20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}] \times [V/(1000 \times W)]$, em que: A= absorbância dos extratos no comprimento de onda indicado; V= volume final do extrato clorofiliano-cetônico; W= massa fresca, em gramas do material vegetal utilizado.

Anatomia foliar

As folhas foram fixadas em FAA 70%, por 72 horas e, posteriormente conservadas em álcool etílico 70 GL (Johansen, 1940).

O exame pela microscopia de luz das seções transversais foi feito a partir de cortes realizados na região mediana das folhas, em micrótomo de mesa, e submetidos à clarificação em solução de 1% de hipoclorito de sódio, por 15 minutos. Em seguida, foram lavadas em água destilada, neutralizadas em solução acética a 1%. A coloração com safranina (5%) e azul de astra (95%) foi realizada de acordo com os métodos descritos por Bukatsch (1972). Os cortes corados foram montados em lâminas semi-permanentes em glicerina 50%.

As medições da espessura dos tecidos foram realizadas por meio do software de medição Sigma Scan Pro, utilizando-se fotomicrografias registradas em câmera digital Canon PowerShot A620 acoplada ao microscópio KEN-A-VISION TT18. Foram utilizadas 15 repetições, por tratamento, das características: espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial e dos parênquimas paliádico e esponjoso.

Para a realização das observações em microscópio eletrônico de transmissão, fragmentos de aproximadamente $0,5 \text{ cm}^2$, retirados da porção mediana das folhas foram fixados em solução de glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0, 0,05 M + CaCl_2 0,001 M por, aproximadamente, quatro horas, em temperatura ambiente.

Posteriormente, esses fragmentos foram lavados em tampão cacodilato 0,05 M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05 M, por 4 horas. Em seguida, iniciou-se a desidratação em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90%, por 10 minutos e 3 vezes em 100%, por 10 minutos). Logo após, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30%, por 8 horas, a 70%, por 12 horas e 2 vezes a 100%, em intervalos de 24 horas. Os tecidos foram emblocados em

resina pura e colocados em estufa, a 70°C, por 48 horas, para a polimerização. Os blocos obtidos foram desbastados com lâminas de aço para a retirada da resina excedente. Foram realizados os cortes em seções semifinas (1 µm) e ultrafinas (<100 nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung com navalha de diamante.

Os cortes semifinos foram coletados com anel de ouro, colocados em lâminas de vidro, corados com azul de toluidina (1 g de azul de toluidina, 1 g de borato de sódio e 100 mL de água purificados por meio de filtro Millipore 0,2 µm) e montados permanentemente em meio Permunt. Os cortes ultrafinos foram coletados em grades de ouro (*golden slot grids*) e secos em raques de alumínio cobertos com *formvar* (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo, por três minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 109. Foram utilizadas 10 repetições para cada tratamento e as características observadas para as análises ultra-estruturais foram o número de cloroplastos por célula, a área, o comprimento e a largura, a área dos grãos de amido e a proporção da área ocupada pelos grãos de amido nos cloroplastos, em células do parênquima paliçádico.

Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa SISVAR[®] versão 4.3 (Ferreira, 1999). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F e comparadas pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do conteúdo de clorofila revelou variabilidade entre os as plantas mantidas sob as diferentes intensidades luminosas para clorofila *a* e a razão *a/b* (Figura 1).

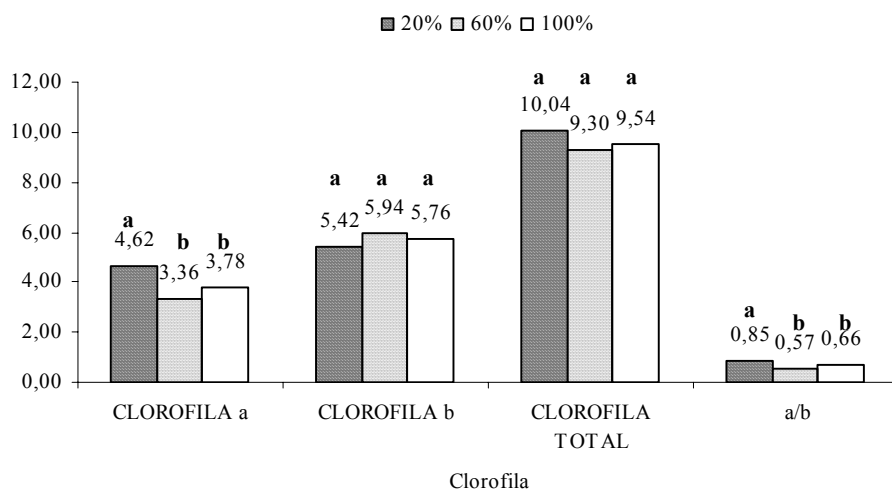


FIGURA 1- Conteúdo de clorofila *a*, *b* e total (mg g^{-1} de massa fresca) e razão clorofila *a/b* em plantas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletoras (Aluminet®). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Em plantas de melissa submetidas a 20% de intensidade de luz, houve o maior teor de clorofila *a*, porém, não houve diferença entre os demais tratamentos. Pinto et al. (2007) empregaram os mesmos tratamentos desta

pesquisa com *Aloysia gratissima* [Gilles & Hook) Tronc] (Verbenaceae) e encontraram resultados semelhantes. Em *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae), foi verificado que, quando foram utilizadas malhas termorefletoras, independentemente da intensidade de luz, houve maior teor de clorofila *a*, em detrimento de plantas cultivadas a pleno sol (Maia, 2006).

Já para clorofila *b*, não houve resposta entre os tratamentos, indicando que, para melissa, nas condições desta pesquisa, a intensidade luminosa não interferiu na síntese e degradação de clorofila *b*. Pinto et al. (2007) concluíram que o emprego de 20% de intensidade de luz aumenta o teor de clorofila *b* em plantas de *Aloysia gratissima* e os demais foram semelhantes entre si. Para a espécie *Hyptis suaveolens*, à medida que reduziu a intensidade luminosa, resultou em aumento de clorofila *b* (Maia, 2006).

Quanto aos teores de clorofila total de melissa, não foi verificada diferença (Figura 1). Pinto et al. (2007) encontraram maiores teores de clorofila total em plantas de *Aloysia gratissima* cultivadas sob 20% de intensidade luminosa.

A análise da razão clorofila *a/b* mostrou que plantas cultivadas sob 20% de intensidade de luz mostraram valores superiores às dos demais tratamentos. Taiz & Zeiger (2004) afirmam que folhas de sombra têm mais clorofila por centro de reação e a razão clorofila *b*/clorofila *a* é mais alta. Conseqüentemente, a razão *a/b* é menor em folhas de sombra.

Alguns trabalhos indicam que existe tendência de redução na razão clorofila *a/b*, à medida que se reduz a intensidade de luz (Boardman, 1977; Kozłowski et al., 1991; Scalón et al., 2003). Isto se deve à maior proporção de clorofila *b* em ambientes sombreados, o que está associado ao fato de a sua degradação ser mais lenta do que a da clorofila *a* (Engel & Poggiani, 1991). Assim, pode-se observar que esta tendência depende da espécie em questão.

Os resultados da razão clorofila *a/b* desta pesquisa coincidem com os de Pinto et al. (2007), que verificaram aumento dessa razão com o emprego de 20% de intensidade de luz em plantas de *Aloysia gratissima*.

Em *Mikania glomerata*, Castro et al. (2005) constataram que houve uma diminuição na proporção da clorofila *a/b* com o aumento do sombreamento, devido ao incremento da clorofila *b*.

As plantas que crescem em ambientes com maior intensidade de luz têm, freqüentemente, características estruturais e químicas que reduzem a intensidade de luz que alcança o cloroplasto. Além disso, características anatômicas contrastantes podem ser encontradas em folhas da mesma planta expostas a regimes luminosos diferentes (Taiz & Zeiger, 2004). As análises da espessura da epiderme na face adaxial e do parênquima paliçádico de folhas melissa submetidas a diferentes intensidades de luz firmam estas observações (Figura 2).

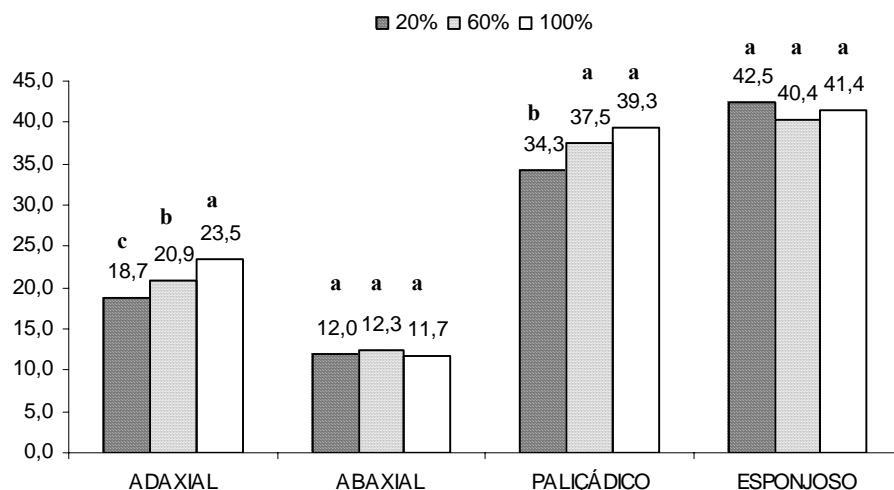


FIGURA 2- Espessura (μm) da epiderme nas faces adaxial e abaxial, do parênquima paliçádico e esponjoso de folhas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletores (Aluminet[®]). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Acrescendo-se a intensidade de luz, observa-se um aumento na espessura da epiderme na face adaxial de folhas de melissa. Os mesmos resultados foram encontrados por Pinto et al. (2007), ao trabalharem com *Aloysia gratissima*. No entanto, para *Hyptis suaveolens*, Maia (2006) não encontrou diferença para esta característica. Castro (2002) concluiu que a epiderme foi mais espessa quando plantas de *Mikania glomerata* foram cultivadas a pleno sol.

Reportando-se à face abaxial da epiderme, não houve diferença entre os tratamentos empregados para melissa. Resultados semelhantes foram encontrados por Maia (2006) em *Hyptis suaveolens*.

As células do parênquima paliçádico das folhas de melissa cultivada a pleno sol e a 60% de intensidade de luz apresentaram maior espessura que o tratamento de 20% de intensidade luminosa (Figura 2). Em *Aloysia gratissima*, Pinto et al. (2007) verificaram um aumento progressivo dos parênquimas paliçádico e esponjoso, com o aumento da intensidade luminosa. No entanto, para melissa, a espessura do parênquima esponjoso não apresentou diferença.

De acordo com Taiz & Zeiger (2004), mesmo partes distintas de uma folha mostram adaptações ao seu microambiente luminoso. As células na superfície superior na folha, expostas ao fluxo fotônico mais alto, caracterizam folhas crescendo à plena luz do sol; as células na superfície inferior têm características encontradas em folhas de sombra. Assim, pode-se inferir que as em folhas de melissa submetidas a maiores intensidades de luz (60% e 100%), as células da epiderme na face adaxial e do parênquima paliçádico tiveram características de folhas crescendo à plena luz do sol, e as células da superfície inferior (do parênquima esponjoso e da epiderme na face abaxial) apresentaram as características encontradas em folhas de sombra.

Os resultados encontrados para as células epidérmicas da face adaxial e do parênquima paliçádico de folhas de melissa podem ser explicados pela diferença de distribuição de fotoassimilados. Em menor intensidade luminosa, as plantas apresentaram folhas mais finas, devido ao consumo de assimilados para a expansão de área foliar (Sert, 1992), já que estas apresentaram-se maiores em melissa.

Isto também pode ser explicado pelas teorias da ação da radiação solar na morfogenética vegetal. Plantas submetidas a maiores níveis de intensidade luminosa apresentam, geralmente, elevadas concentrações de açúcares solúveis e, como conseqüência, aumento da pressão osmótica, favorecendo a expansão celular (Rizzini, 1976).

De acordo com Taiz & Zeiger (2004), as folhas mostram uma característica adaptativa que pode alterar a distribuição intracelular dos cloroplastos, a fim de controlar a absorção de luz e prevenir o dano causado pelo excesso de luz. A ultra-estrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de melissa é mostrada na Figura 3.

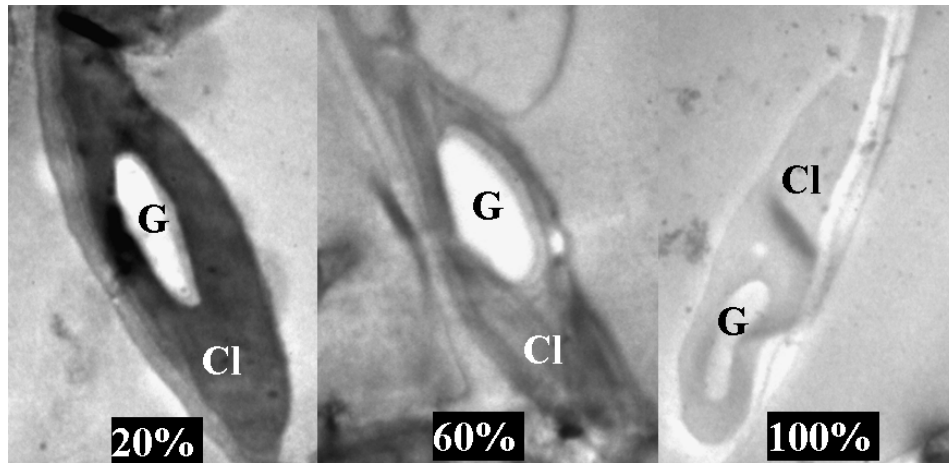


FIGURA 3- Eletromicrografias de transmissão eletrônica (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliçádico de lâminas foliares de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletoras (Aluminet®). CL- cloroplasto, G- grão de amido, P- parede celular. Escala = 2 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Dessa forma, em plantas de melissa, pode-se observar que ocorreram alterações no número, na área e na largura dos cloroplastos do parênquima paliçádico (Figura 4). O número de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico foi influenciado pela intensidade luminosa. À medida que aumentou a

intensidade luminosa, houve maior número de cloroplastos por célula. Esses resultados contrastam com os encontrados por Nery et al. (2007) que, trabalhando com *Calophyllum brasiliense* mantidas sob Sombrite® a 0%, 30%, 50% e 70% de sombreamento, verificaram que não houve diferença para esta característica.

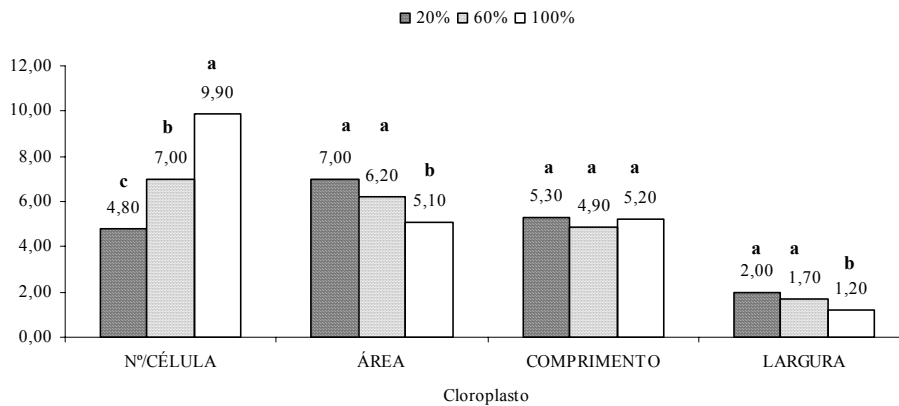


FIGURA 4- Número de cloroplastos por célula, área (μm^2), comprimento (μm) e largura (μm) de cloroplastos de plantas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletoras (Aluminet®). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Já Costa et al. (2007), estudando *Ocimum selloi* (Lamiaceae) submetidas ao cultivo sob malhas coloridas, observaram que o número de cloroplastos por célula do parênquima paliçádico, bem como o seu tamanho, foi maior nos tratamentos sombreados.

Apesar de estarem presentes em maior número, foi observada menor área e largura dos cloroplastos de folhas de melissa cultivada a pleno sol, porém,

o comprimento apresentou semelhança entre os tratamentos (Figura 4). De acordo com Taiz & Zeiger (2004), quando as folhas são expostas a uma intensidade de luz maior do que podem utilizar, o centro de reação do fotossistema é inativado e danificado (fotoinibição) e causa uma depressão diária de taxas fotossintéticas. Assim, plantas de melissa podem ter desenvolvido, por adaptabilidade, cloroplastos mais finos, com o objetivo de oferecer maior proteção aos fotossistemas.

Além disso, cloroplastos mais finos podem ter maior facilidade de movimentação na célula. De acordo com Taiz & Zeiger (2004), sob luz fraca, os cloroplastos acumulam-se paralelamente ao plano da folha, de modo que ficam alinhados perpendicularmente à luz incidente – uma posição que maximiza a absorção de luz. Sob luz forte, os cloroplastos movem-se para as superfícies celulares paralelas à luz incidente, de modo a evitar a absorção em excesso. Provavelmente, as folhas de melissa submetidas a pleno sol produziram cloroplastos mais finos como resposta adaptativa e, assim, com menor densidade têm maior mobilidade para responder a variações de luz que ocorrem durante o dia.

No cloroplasto ocorre a síntese dos grãos de amido e estes apresentaram maior área em plantas de melissa cultivadas sob 60% de intensidade luminosa, em detrimento das demais. Em seguida, plantas sob 20% de luz apresentaram grãos de amido com área superior à das plantas cultivadas a 60% e este, maior que em plantas cultivadas a pleno sol (Figura 5).

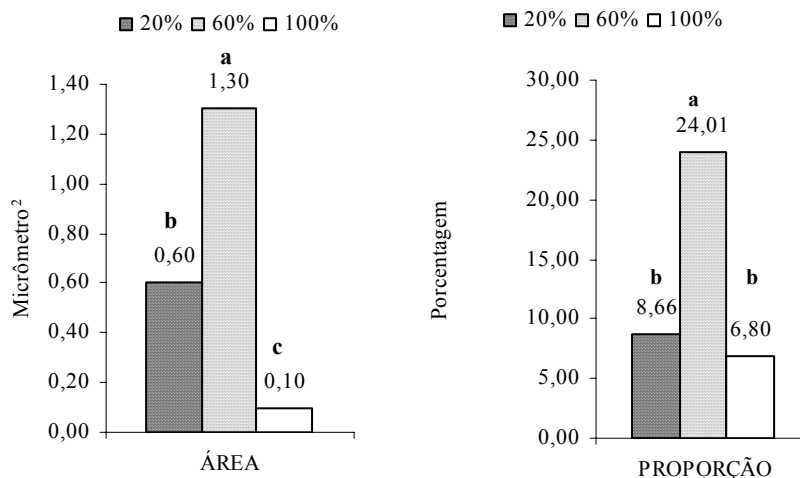


FIGURA 5- Área dos grãos de amido (μm^2) e proporção dos grãos de amido em relação aos cloroplastos (%) de plantas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob intensidade luminosa de 20%, 60% e 100%, com malhas termo-refletores (Aluminet®). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Quanto à percentagem de ocupação dos grãos de amido nos cloroplastos de parênquima paliçádico de folhas de melissa, plantas submetidas a 60% de intensidade de luz apresentaram valor médio superior aos demais, que não diferiram entre si.

4 CONCLUSÕES

Plantas submetidas a 20% de intensidade luminosa apresentaram maior quantidade de clorofila *a* e, portanto, maior razão clorofila *a/b*.

As folhas de melissa cultivada a pleno sol e a 60% de intensidade de apresentaram células da epiderme na face superior mais espessas, enquanto as

células da superfície inferior mostraram características encontradas em folhas de sombra, ou seja, mais finas.

Quanto maior a intensidade luminosa, maior o número de cloroplastos, porém, a pleno sol, eles mostraram-se mais finos e com menor área.

Os grãos de amido de plantas cultivadas a 60% de intensidade luminosa tiveram maior área e ocuparam maior parte nos cloroplastos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolates choroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.

BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normas climatológicas de 1961- 1990**. Brasília, 1992. 84 p.

BUKATSCH, F. Benerkrugen zur doppelfarbung astrablausafranina. **Microkosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 255, 1972.

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

CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; MELO, H.C.; SOARES, A.M.; ALVARENGA, A.A.; LIMA JÚNIOR, E.C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a fotoperíodos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 846-850, 2005.

COSTA, L.C.B.; CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; ALVES, E.; BERTOLUCCI, S.K.V.; ROSAL, L.F.; MOREIRA, C.M. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 6-8, 2007. Suplemento 1.

ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, p. 39-45, 1991.

FELIPPE, G.M. **Fisiologia vegetal 2**. São Paulo: EPU, 1986. 401 p.

FERREIRA, D.F. **SISVAR 4. 3**-Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999.

HERTWIG, I.F. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem e comercialização. São Paulo: Icone, 1986. 449 p.

GONÇALVES, L.A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae)**. 2001. 95 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

KOZLOWSKI, T.T.; KRAMER, P.J.; PALLARDY, S.G. **The physiological ecology of woody plants**. London: Academic, 1991. 657 p.

KRAMER, P.J.; KOSLOWSKI, T. T. **Physiology of woody plants**. New York: Academic, 1979. 811 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.S.A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. p.245.

MAIA, S.S.S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Lamiaceae**. 2006. 150 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NERY, F.C.; ALVARENGA, A.A.; JUSTO, C.F.; CASTRO, E.M.; SOUZA, G.S.; ALVES, E. Aspectos anatômicos de folhas de plantas jovens de *Clophyllum brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 129-131, jul. 2007. Suplemento, 2.

PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, J.C.W.; CASTRO, E.M.; BERTOLUCCI, S.K.V.; MELO, L.A.; DOUSSEAU, S. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 210-214, 2007.

RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**: aspectos ecológicos. São Paulo: HUCITEC/EDUSP, 1976. 327 p.

ROWLEY, C.R.; MORAN, D.T. A simple procedure for mounting wrinkle free section on *formvar*-coated slot grids. **Ultramicrotomy**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 151-155, 1975.

SADRAEY, H.; GHANNADI, A.; MALEKSHAHI, A. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on a rat ileum concentrations. **Fitoterapia**, n. 74, p. 445-452, 2003.

SCALON, S.P.Q.; ALVARENGA, A.A. Efeito do sombreamento sobre a formação de mudas de pau-pereira (*Platycyamus regnelli* Benth). **Revista Árvore**, v. 17, n.3, p. 265-270, 1993.

SERT, M.A. **Anatomia foliar e teores de clorofila em três variedades de soja [*Glycine max* (L.) MEDRILL] e dois níveis de radiação solar**. 1992. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Feral de Viçosa, Viçosa, MG.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

WHATLEY, J.M.; WHATLEY, F.R. **A luz e a vida das plantas**. Tradução de Gil Martins Felipe. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1982. 101 p.

CAPÍTULO V

Crescimento, teor e qualidade do óleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras

BRANT, R.S.; PINTO, J.E.B.P. et al.

Preparado de acordo com as normas do periódico: *Ciência Rural*.

RESUMO

A utilização de malhas fotoconversoras para o cultivo de algumas espécies ornamentais e olerícolas está em voga. Dessa forma, vislumbrando a grande influência que a radiação solar exerce sobre a fisiologia dos vegetais, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar o efeito da intensidade e da qualidade espectral da luz transmitida pelas malhas coloridas (Chromatinet®) em aspectos fisiológicos de crescimento e no teor, no rendimento e na composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. Em delineamento inteiramente casualizado, foram dispostos quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela composta de quatro vasos (uma planta por vaso). Os tratamentos foram caracterizados por plantas de melissa cultivadas a pleno sol, malha preta (50%), malha Chromatinet® vermelha (50%) e Chromatinet® azul (50%). As características avaliadas consistiram em: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raízes e total; razão raiz/parte aérea; área foliar total; razão de área foliar; razão de peso foliar; área foliar específica; teor, rendimento e composição química do óleo essencial. A utilização de malhas favoreceu o crescimento, independentemente da cor, em relação a pleno sol. Para o óleo essencial, sob a malha vermelha houve menores teor e rendimento, porém apresentou o maior teor de citral.

Palavras-chave: planta medicinal; luz; chromatinet®; citral.

ABSTRACT

Growth, content and quality of essential oil of lemon balm cultivated under color shading nets

The utilization of color shading nets for cultivation of some ornamentals and vegetables is in vogue. Thus, observing the great influence that the solar radiation performs in physiology of the plants, the objective of this research was to evaluate the effect of the quantity and quality of spectral of light transmitted through color shading nets (Chromatinet®) in *Melissa officinalis* L. physiological aspects of growth and content and chemistry composition. In completely randomized design were disposed four treatments and five replications, being each portion composed by four pots (one plant per pot). The treatments were lemon balm's plants cultivated under full sunshine, black shading net (50%), red shading net (50%) and blue shading net (50%). The characteristics evaluated were: plant's height; dry biomass of leaves, stems, aerial part, roots and total; root/aerial part ratio; total leaf area; leaf area ratio; leaf weight ratio; specific leaf area; content, yield and composition of the essential oil. The utilization of nets favored the growth organs dry biomass yield, independently of the color, in comparison with total sun light. For essential oil, under red shading net had lower content and yield, but its showed the higher citral's content.

Keywords: medicinal plant; light; chromatinet®; citral.

1 INTRODUÇÃO

Originária do sul da Europa, a melissa (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae) também é conhecida pelos nomes populares de erva-cidreira, cidrilha e melitéia. É uma erva perene, de caule de secção quadrangular; folhas opostas ovais, verde-claras, brilhantes e denteadas. As flores são esbranquiçadas, reunidas em glomérulos axilares. Possui odor semelhante ao do limão e é melífera. Os constituintes químicos principais são o tanino e o óleo essencial (Martins et al., 2000).

De acordo com Martins et al. (2000), a melissa é indicada como calmante, digestiva, carminativa, antiespasmódica e antinevrálgica. É usada ainda contra a insônia, para problemas nervosos e no tratamento de feridas e atua, ainda, como hipotensor. É aromatizante na culinária e em licores.

Em plantios comerciais, chega produzir 1.800kg de folhas secas.ha⁻¹.ano⁻¹ (Martins et al., 2000), sendo o quilograma de folhas secas comercializado a R\$ 11,00 (US\$6,50) (Blank et al., 2005) e cada 10 mL do óleo essencial são comercializados a R\$23,50 (US\$13,90) (Subhadra, 2007).

Nas últimas décadas, tem-se dispensado atenção ao comportamento das plantas em relação à energia solar incidente. A partir disso, surgiram no mercado várias opções para oferecer proteção às plantas. Foram desenvolvidas algumas estruturas com telas, plásticos e vidros, originando o que se denominou telados, estufas e casas de vegetação. De forma geral, os cultivos protegidos têm apresentado êxito para a produção comercial de algumas espécies.

As malhas coloridas Chromatinet da empresa Polysac Plastic Industries[®] são unidas mais densamente para atingir o mesmo efeito de sombreamento (50%) e, de acordo com o fabricante, alteram o espectro de luz por elas transmitidas. A malha azul transmite luz de uma banda larga em 470 nm (azul), além de outros picos na região do vermelho distante e infravermelho (acima de 750 nm), enquanto que a malha vermelha possui uma maior transmitância em comprimentos de onda acima de 590 nm (vermelho) e um pico menor em torno de 400 nm (violeta), reduzindo ondas azuis, verdes e amarelas.

Pesquisas realizadas por Oren-Shamir (2001) e Shahak et al. (2004) revelaram que plantas crescidas sob malhas vermelhas apresentaram maior comprimento das ramificações e, sob malhas azuis, apresentaram menor tamanho em relação à malha preta (neutra).

Antonious & Kasperbauer (2002), em pesquisas com cultivo de cenoura, concluíram que, quando cultivadas sobre coberturas amarelas, foi detectado

maior teor de β -caroteno e vitamina C. Isso indicou que a reflexão da luz pode ter ação direta no sistema de regulação do crescimento natural das plantas entre caules e raízes, como também pode influenciar no rendimento e na composição química de cenoura.

No que concerne à fisiologia, os fitocromos ativam fatores transcricionais que induzem respostas das plantas à luz. Desempenham algumas funções nos vegetais, dentre as quais se destaca a capacidade que ele fornece às plantas de perceberem o sombreamento por outras plantas. Nesse caso, a razão luz vermelha/vermelho-distante diminui, induzindo plantas de sombra a alocarem maior parte de seus recursos para o crescimento em altura; tal comportamento é conhecido como “resposta de evitação da sombra” (Taiz & Zeiger, 2004).

Dessa forma, sobre a melissa, sabe-se que parece ter bom desenvolvimento em meia sombra, sem excesso. Assim, as informações que se têm são apenas práticas (Martins et al., 2000), sem bases científicas e não existem pesquisas referentes ao comportamento fisiológico desta espécie quando submetida ao sombreamento e com espectros definidos. Ainda, por se tratar de tecnologia recente, existem poucos trabalhos nessa área e os resultados obtidos com outras espécies não nos permitem estendê-los a outras.

Assim, vislumbrando a grande influência que a radiação solar exerce sobre a produção de biomassa e de óleo essenciais, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de avaliar o efeito da intensidade e da qualidade espectral da luz transmitida pelas malhas coloridas (Chromatinet[®]) no crescimento e no teor, no rendimento e na composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no município de Lavras, situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 metros de altitude, latitude de

21°14'S e longitude de 45°00'W GRW. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992).

Obtenção do material vegetal

As exsiccatas estão depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA e correspondem ao nº 22155.

As mudas de melissa foram produzidas a partir de uma planta matriz utilizando-se microestacas apicais de 5 centímetros de comprimento e 2 milímetros de diâmetro e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Foram cultivadas em estufa com 60% de sombreamento e, posteriormente, aclimatizadas por meio do aumento gradativo da intensidade luminosa.

Condições climatológicas durante a condução do experimento

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Tabela 1 e a temperatura média incidente nas plantas de melissa sob as diferentes condições luminosas são mostrados na Tabela 2.

TABELA 1- Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de outubro de 2005 a março de 2006. UFLA, Lavras, MG, 2008.

MESES/ANOS	T _x	T _n	T _{méd.}	Prec.total	UR.	Insol.
OUTUBRO/05	30,4	17,4	22,6	102,5	63,9	7,3
NOVEMBRO/05	26,8	17,0	20,9	191,2	77,8	4,8
DEZEMBRO/05	27,4	16,9	21,2	257,3	77,5	5,0
JANEIRO/06	29,4	18,3	23,0	149,9	70,5	7,3
FEVEREIRO/06	30,4	18,5	23,3	284,9	76,5	6,3
MARÇO/06	29,3	18,0	22,4	281,5	79,2	6,9

T_x- Média mensal da temperatura máxima (° C)

T_n – Média mensal da temperatura mínima (° C)

T_{méd.} – Média mensal de T_x e T_n diárias (° C)

Prec. total – Precipitação total mensal (mm)

UR – Umidade relativa do ar média mensal (%)

Insol.- Insolação média mensal (horas)

TABELA 2- Temperatura média local sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	T méd. (°C)
Pleno sol	31
Preta	27
Azul	30
Vermelha	28

Instalação do experimento

Em dezembro de 2005, 80 mudas de 10 cm de altura foram transplantadas para vasos de 10 L, contendo solo, areia e esterco (2:1:1).

Foram dispostos quatro tratamentos e cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo cada parcela composta de quatro vasos (uma planta/vaso). Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas sob disponibilidade de radiação solar incidente e qualidade espectral: pleno sol,

malha preta com 50%, malha Chromatinet® vermelha 50% e Chromatinet® azul 50%. As malhas fotoconversoras utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries®. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Avaliações de crescimento

As características de crescimento avaliadas foram: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raízes, total, razão raiz/parte aérea, área foliar total (AFT), RAF, RPF e AFE.

Após 13 semanas de cultivo, as plantas foram coletadas entre as 7 e às 8 horas da manhã. As folhas foram destacadas dos ramos e foi realizada a detecção da área foliar de quatro plantas representativas de cada tratamento, em 100% das folhas, por meio de um integralizador de área foliar MODEL LI-3100, Área Meter marca LICOR.

Posteriormente, as folhas e os caules foram colocados em sacos de papel kraft e acondicionados em estufa de circulação forçada de ar, a 35°C, enquanto as raízes foram lavadas e, depois de retirada a umidade excessiva, foram também conduzidas à estufa. Depois de ser atingido peso constante, foram obtidas as suas massas.

A razão da área foliar (RAF), a razão de peso foliar (RPF) e a área foliar específica (AFE) foram determinadas a partir dos valores de área foliar total (AFT), expressos em dm^2 , da biomassa seca da planta (P) e a biomassa seca das folhas (Pt), expressos de acordo com Benincasa (1988).

Extração e identificação da composição química dos óleos essenciais

Para a extração dos óleos essenciais, as plantas sofreram uma triagem, selecionando-se apenas as folhas sadias. Foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger. Dez gramas de folhas

secas foram colocadas em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 750 mL de água destilada.

Após a detecção de início de fervura, teve início a cronometragem. Findo o período de extração de uma hora e meia, o hidrolato, obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 25mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com uma porção em excesso de sulfato de magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado, à temperatura ambiente, em capela de exaustão de gases até alcançar peso constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas: $T\% = \text{massa do óleo (g)}/10\text{g} \times 100$. O rendimento foi calculado pela fórmula: $R = \text{biomassa seca total das folhas/planta (g)} \times \text{massa do óleo obtido (g)}/10 \text{ g}$.

As amostras foram identificadas por meio de cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro quadrupolar de massas CG-EM, Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão). Foram empregadas as seguintes condições: coluna CBP-5 (Shimadzu) preenchida em coluna capilar de sílica (30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 μm de espessura do filme, composto de fenilmetilpolisiloxano 5%) conectada a um detector quadrupólo operando em energia de impacto a 70 eV com intervalo de massa entre 40-400 u, à razão de 0,5 scans s^{-1} ; gás: He (1 mL s^{-1}); injetor e temperatura de interface a 220°C e 240°C, respectivamente, com razão de fluxo 1:20. O volume de injeção foi de 0,2 μL (20% em CH_2Cl_2) em fluxo e temperatura de 60°C e 246°C, com aumento de 3°C min^{-1} , após 10°C min^{-1} para 270°C, mantendo-se a temperatura final por 5 minutos. A identificação dos constituintes foi realizada por comparação, automática e manual, dos espectros de massas obtidos com os das bibliotecas

NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os da literatura (Adams, 2001) e co-injeção com padrões autênticos. Os IR foram calculados a partir da co-injeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C8–C32 (Sigma, EUA) e com a aplicação da equação de Van Den Dool & Kratz (1963).

As concentrações relativas dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos e expressas com valores aferidos nas três análises.

Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa Sisvar[®] versão 4.3 (Ferreira, 1999). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F e teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção vegetal da melissa foi afetada pelas condições de cultivo. Houve diferença para as características de biomassa seca de folha, caule, parte aérea, raiz, total e área foliar (Figura 1). Observou-se, entre as malhas, que o comportamento de crescimento foi semelhante; variando em relação ao cultivo a pleno sol.

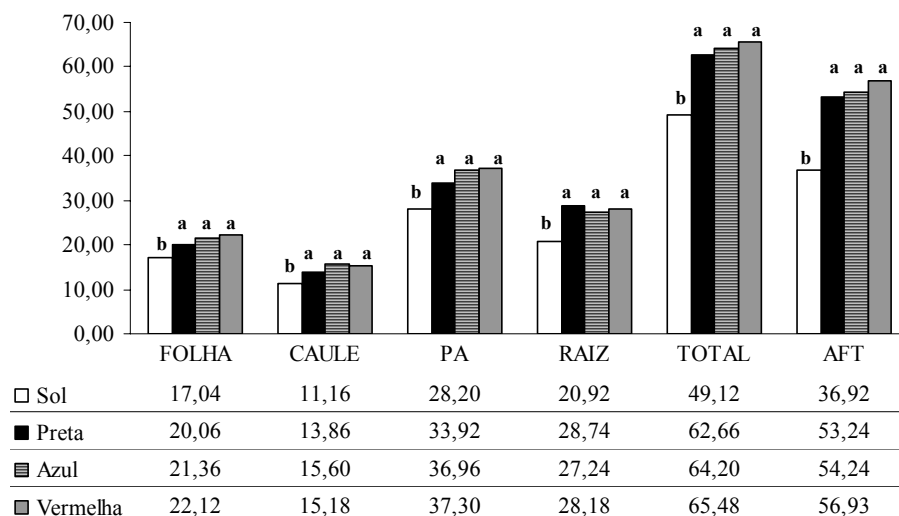


FIGURA 1- Biomassa das folhas, caules, parte aérea, raiz e total (gramas) e área foliar total (AFT = dm²) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

As plantas cultivadas sob as malhas, independentemente da cor apresentaram um aspecto melhor que as plantas cultivadas a pleno sol, que foram menores e com manchas escuras no limbo (Figura 2).



FIGURA 2- Plantas de *Melissa officinalis* L. cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Diante disso, é lícito inferir que as plantas de melissa são insensíveis à qualidade de luz para produção de biomassa e expansão foliar, sendo sensível apenas quanto à intensidade de luz, de forma que o sombreamento empregado pelas malhas (50%), independente de sua cor foi benéfico, em detrimento das plantas cultivadas a pleno sol. Larcher (2004) assevera que plantas crescidas sob forte radiação têm maior produção e um maior conteúdo energético da massa seca. No entanto, para melissa, esse conteúdo energético pode ter ficado alocado nas folhas sob forma de amido, sem que este fosse mobilizado para a produção de biomassa.

Este comportamento pode variar entre as espécies. Oren-Shamir et al. (2001) verificaram maior percentual de ramos de maior comprimento e peso em plantas de *Pittosporum variegatum* sob malha vermelha, em relação ao sombreamento com malha azul ou preta.

Plantas de *Catharanthus roseus* cv. Pacifica White (Apocynaceae) se adaptam melhor a ambientes sombreados, independentemente da variação espectral, uma vez que plantas cultivadas a pleno sol mostram menor massa seca total (Melo, 2006). Estes resultados estão de acordo com os encontrados em melissa.

Ainda não está bem esclarecida a razão das alterações que ocorrem na alocação de biomassa entre os órgãos da planta em resposta a alterações espectrais. Alguns estudos, no entanto, associam a percepção do sinal ambiental pelo fitocromo e receptores de luz azul (criptocromos e fototropinas), e a resposta de crescimento de caules em *Arabidopsis*, atribuindo-lhes uma ação coordenada (Parks et al., 2001). Segundo Wei & Deng (1996) e Colón-Carmona et al. (2000), existe participação de genes, cujas ações mediadas por fotorreceptores modificam as relações entre reguladores de crescimento, alterando o balanço de auxinas, giberelinas e citocininas, em resposta a modificações espectrais, o que poderia modificar a distribuição de fotoassimilados. Desse modo, pode-se supor que plantas de melissa não respondem a esse mecanismo, nas condições desse experimento, pois não apresentaram respostas diferentes à incidência dos distintos espectros empregados.

Abordando a relação raiz/parte aérea, plantas sob malha preta apresentaram maior relação, superior às demais (Figura 3).

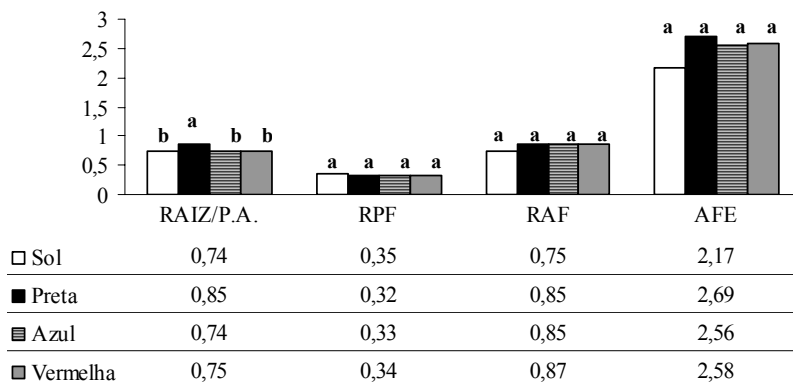


FIGURA 3- Relação raiz/parte aérea, razão de peso foliar (RPF = g.g^{-1}), razão de área foliar (RAF = $\text{dm}^2.\text{g}^{-1}$) e área foliar específica (AFE = $\text{dm}^2.\text{g}^{-1}$) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Martins (2006) empregou os mesmos tratamentos deste trabalho e concluiu que razão raiz/parte aérea de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae), foi expressivamente maior a pleno sol, o que indica uma alocação preferencial de massa seca para o sistema radicular, em comparação a plantas mantidas sob sombreamento. Esses resultados são contrastantes aos encontrados para melissa. Ou seja, para melissa, apenas a redução da intensidade luminosa fez com que houvesse maior alocação de assimilados para a raiz. Alterações espectrais não interferiram nessa variável.

De acordo com Patterson (1980), aumentos na RAF consistem na maior proporção de tecido fotossinteticamente ativo. No entanto, não foi detectada diferença entre os tratamentos. Já *Dracaena marginata* 'Colorama', cultivada

sob malhas preta, azul, vermelha e cinza, apresentou maiores valores de RAF quando as plantas foram cultivadas sob malha vermelha (Kawabata et al., 2007).

A RPF informa a eficiência produtiva do tratamento na produção massa seca foliar, em relação ao peso da planta toda. Assim, para melissa, não foram encontradas diferenças (Figura 3).

Já plantas de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae) crescidas em ambiente de pleno sol e as sob malha azul apresentaram menores valores de RPF que as plantas sob malhas preta e vermelha. Isso demonstra que tratamentos sob pleno sol ou sob malha azul alocam menos fotoassimilados para as folhas em relação aos demais tratamentos. Valores de AFE foram mais reduzidos na condição de pleno sol, indicando que as folhas de *O. gratissimum* tornam-se mais espessas quando as plantas são mantidas em local sem nenhum tipo de sombreamento (Martins, 2006). Estes resultados são distintos dos encontrados neste trabalho com melissa.

A AFE relaciona um componente morfológico, a superfície da folha, com um componente anatômico, a fitomassa seca da folha (Benincasa, 1988). Porém, não houve diferença nesta pesquisa (Figura 3).

Em estudo da palmeira-ráfia, com os mesmo tratamentos adotados nessa pesquisa, concluiu-se que não houve efeito dos diferentes tipos de malhas utilizadas para o cultivo, no crescimento de mudas de *Rhapis* (Meirelles et al., 2007). Esses dados confirmam os encontrados com melissa.

Reportando-se aos óleos essenciais, as análises apontaram diferença entre os tratamentos e mostraram que, com o emprego do cultivo de melissa sob malha vermelha, foram obtidos menor teor e rendimento de óleo essencial. Os demais tratamentos foram iguais (Figura 4).

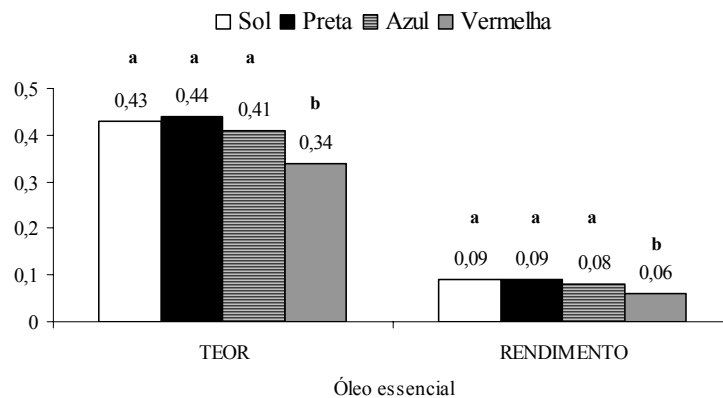


FIGURA 4- Teor (%) e rendimento de óleo essencial (g.planta⁻¹) de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Assim, pode-se inferir que plantas de melissa não respondem positivamente à utilização da malha vermelha para a produção de óleo. Assim é possível que a alteração no espectro incidente nas plantas, promovida pela malha vermelha, ocasione a falta de outro comprimento de luz (já que a malha possui filtro de transmissão de determinados espectros) que não absorvido pelos pigmentos, ocorra a anulação de alguma rota importante para a síntese de terpenos e prejudique a produção do óleo essencial.

Em estudos com *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata* (Asteraceae), Souza (2006) empregou malhas vermelha, cinza, azul e pleno sol e concluiu que, para a primeira espécie, houve maior teor de óleo essencial sob malha vermelha e, para a segunda, sob malha azul. Para ambas, as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram os menores valores.

Em *Thymus vulgaris* (Lamiaceae), a concentração total do óleo foi mais alta em plantas cultivadas a 100% de intensidade luminosa e diminuiu com o decréscimo no nível da intensidade. Dos 19 compostos comparados nos vários tratamentos de intensidade de luz, a maioria diminuiu com os decréscimos dos níveis de luz. O timol, composto majoritário, foi aproximadamente 10% mais alto em plantas submetidas a 100% de intensidade de luz do que a 27% (Li et al., 1996).

No entanto, para melissa, os tratamentos com malha preta e azul, ambas com 50% de sombreamento, não diferiram dos valores de teor de óleo essencial encontrados para plantas cultivadas a pleno sol. Isso mostra que a intensidade de luz não interferiu na produção do óleo essencial.

Referindo-se à qualidade do óleo, plantas cultivadas sob malha vermelha apresentaram maior quantidade de citral (neral + geranial), que é o composto majoritário de maior interesse comercial de melissa. Resultados aproximados foram verificados entre os tratamentos malha azul e plantas cultivadas a pleno sol. O menor valor de citral no óleo essencial de plantas de melissa foi encontrado sob malha preta. Já o citronelal foi maior em plantas cultivadas sob malha vermelha e a pleno sol (Tabela 3).

TABELA 3- Composição química e percentagem relativa da área do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (%) cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. UFLA, Lavras, MG, 2008.

IK	Compostos químicos	Pleno sol	Preta	Azul	Vermelha
1141	desconhecido	1,35	1,58	1,04	1,21
1152	citronelal	0,76	0,10	0,10	1,61
1193	angelato de prenila	2,84	3,59	3,62	3,31
1240	neral	10,32	7,94	11,38	13,82
1270	geranial	16,55	12,78	18,45	22,72
1278	epóxi-linalol (isômero desconhecido)	20,90	26,82	19,89	18,45
1283	epóxi-linalol (isômero desconhecido)	21,73	22,89	22,48	16,41
1296	desconhecido	2,65	3,47	3,47	3,67
1363	acetato de nerila	7,54	7,45	6,61	4,50
1374	trans-6-hidróxi-terpineol	0,10	0,10	0,10	2,36
1404	desconhecido	2,03	2,35	2,00	2,25
1426	desconhecido	1,76	2,24	1,68	2,47
1529	desconhecido	4,35	6,41	3,79	4,57
1585	óxido de cariofileno	4,38	2,49	2,24	2,64
Total identificado		85,12	84,16	84,87	85,82

De acordo com Shahak et al. (2004), as malhas fotoconversoras representam um conceito agrotecnológico novo, que objetiva combinar a proteção física, juntamente com a filtragem diferencial da radiação solar, para promover respostas fisiológicas desejáveis, reguladas pela luz. No entanto, para melissa, este último objetivo não foi atingido.

4 CONCLUSÕES

A utilização de malhas favoreceu o crescimento, independentemente da cor, em relação a pleno sol.

Sob a malha vermelha, houve menor teor e rendimento de óleo essencial, porém o apresentou o maior teor de citral.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry**. Illinois: Allured Publ. 2001
- ANTONIOUS, G.F.; KASPERBAUER, M.J. Color of light reflected to leaves modifies nutrient of carrot roots. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 1211-1216, July/Aug. 2002.
- BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: UNESP/FCAV, 1988. 41 p.
- BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; OLIVEIRA, A.S.; MENDONÇA, M.C.; SILVA-MANN; ARRIGONI-BLANK, M.F. Produção de mudas, altura e intervalo de cortes de melissa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normas climatológicas de 1961- 1990**. Brasília, 1992. 84 p.
- COLÓN-CARMONA, A.; CHEN, D.L.; YEH, K.; ABEL, S. Aux/IAA proteins are phosphorylated by phytochrome in vitro. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 124, n. 3, p. 1728-1738, 2000.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4. 3**-Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999.
- KAWABATA, A.F.; LICHTY, J.S.; KOBAYASHI; SAKAI, W.S. Effects of photosensitive shade cloths on potted *Dracaena deremensis* 'Janet Craig' and *Dracaena marginata* 'Colorama'. **Journal of Hawaiian and Pacific Agriculture**, v. 14, p. 49-54, 2007.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.
- LI, Y.; CRAKER, L.E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.426, p.419-426, 1996.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, p. 136-137, 2000.

MARTINS, J.R. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** 2006. 176 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MEIRELLES, A.J.A. Influência de diferentes sombreamentos e nutrição foliar no desenvolvimento de mudas de Palmeiras Ráfia *Rhapis excelsa* (Thunberg) Henry ex. Rehder. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.6, p.1884-1887, 2007.

MELO, A.A.M. **Germinação de sementes e ação da qualidade da luz sobre o desenvolvimento vegetativo e aspectos fisicoquímicos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.** 2006. 86p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database**. Gaithersburg, MD: U.S. Department of Commerce, 1998.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E.E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, Y.E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of Green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.

PARKS, B.M.; FOLTA, K.M.; SPALDING, E.P. Photocontrol of stem growth. **Current Opinion Plant Biology**, London, v. 4, n. 5, p. 436-440, Oct. 2001.

PATTERSON, D.T. Light and temperature adaptation. In: HESKETH, J.D.; JONES, J.W. (Ed.). **Predicting photosynthesis for ecosystems models**. Boca Raton, Florida: CRC, 1980. p. 205-235.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E.E. ColorNets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, p. 143-151, 2004.

SOUZA, G.S. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação.** 2006. 117p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SUBHADRA. **Produtos:** óleos essenciais. Disponível em:
<<http://www.subhadra.com.br/ecom/produtos/produtos.php?idc=1&min=20&counter=10&pagina=3>>. Acesso em: 25 nov. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

VAN DEN DOOL, D.H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

WEI, N.; DENG, X.W. The role of the COP/DET/FUS genes in light control of *Arabidopsis* seedling development. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 112, n. 3, p. 871-878, 1996.

CAPÍTULO VI

Características fisiológicas e anatômicas de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) cultivada sob malhas fotoconversoras

BRANT, R.S.; PINTO, J.E.B.P. et al.

Preparado de acordo com as normas do periódico: *Ciência e Agrotecnologia*.

RESUMO

Plantas medicinais têm apresentado importantes diferenças em suas características morfofisiológicas, quando submetidas a variações no regime luminoso. Dessa forma, o objetivou-se avaliar modificações fisiológicas e anatômicas em plantas de melissa, cultivadas sob malhas fotoconversoras (Chromatinet®). Os tratamentos foram caracterizados pela disponibilidade de radiação solar incidente e qualidade espectral no cultivo das plantas: pleno sol, malha preta (50%), malha Chromatinet® vermelha (50%) e malha Chromatinet® azul (50%). Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Plantas de melissa crescidas sob malha azul apresentaram maior conteúdo de clorofila *a*, *b* e total. A pleno sol, houve maior espessura das faces da epiderme e do mesofilo, bem como em quantidade de cloroplastos e área de grãos de amido. A maior proporção ocupada pelos grãos de amido nos cloroplastos foi sob a malha preta.

Palavras-chave: planta medicinal; clorofila; cloroplasto; epiderme; sombreamento; chromatinet®.

ABSTRACT

Physiological and anatomical characteristics of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) cultivated under color shading nets

Medicinal plants have shown important differences in their morphophysiological characteristics when submitted at variations of light programs. Thus, the objective of this work was to evaluate physiological and anatomical modifications in plants of lemon balm, grew under color shading nets (Chromatinet®). The treatments were characterized by availability of the incident

solar radiation and spectral variation on plants cultivation: full sunshine, black shading net (50%), red shading net (50%) and blue shading net (50%). It was adopted the completely randomized design (CRD). Lemon balm's plants grew under blue shading net showed higher *a*, *b*, and total chlorophyll content. At full sunshine had higher thickness of epidermis and mesophyll, as well in chloroplast quantity and starch grains area. The major proportion occupied for starch grain on chloroplasts was under black shading net.

Keywords: medicinal plant; chlorophyll; chloroplast; epidermis; shading; chromatinet®.

1 INTRODUÇÃO

A melissa (*Melissa officinalis* L. – Lamiaceae) também é conhecida pelos nomes populares de cidreira, erva-cidreira, cidreira-verdadeira, cidrila, melitéia, chá-da-frança, limonete, salva-do-brasil, erva-luísia, chá-de-tabuleiro e melissa-romana. É originária da Europa e Ásia. As suas folhas e inflorescências são empregadas na forma de chá, de preferência com a planta fresca, como calmante nos casos de ansiedade e insônia e também como medicação contra dispepsia, estados gripais, bronquite crônica, cefaléias, enxaqueca, dores de origem reumática, para normalizar as funções gastrintestinais e, externamente, no tratamento de manifestações virais. Na composição química do óleo essencial é registrada a presença de citral, citronelal, citronelol, limoneno, linalol e geraniol (Lorenzi & Matos, 2002).

Reportando-se ao cultivo, alguns estudos de plantas têm sido realizados em busca do conhecimento da ecofisiologia de diferentes espécies submetidas a condições de luminosidade variadas (Cooley et al., 2000; Musil et al., 2002; Farias et al., 1997; Muroya et al., 1997). Da mesma forma, atenções têm sido

dispensadas a modificações internas ocorridas nas plantas, já que externamente várias espécies têm apresentado morfologia diferenciada.

A anatomia foliar é altamente especializada para a absorção de luz e as características do mesofilo, principalmente as do parênquima paliçádico, garantem a absorção uniforme da luz através da folha (Taiz & Zeiger, 2004). Assim, podem ocorrer modificações estruturais nas células destes, para que ocorra a adaptação da planta a condições ambientais.

As malhas fotoconversoras Chromatinet da empresa Polysac Plastic Industries[®] são unidas mais densamente para atingir o mesmo efeito de sombreamento (50%) e, de acordo com o fabricante, alteram o espectro de luz por elas transmitidas. A malha azul transmite luz de uma banda larga em 470 nm (azul), além de outros picos na região do vermelho distante e infravermelho (acima de 750 nm), enquanto que a malha vermelha possui maior transmitância em comprimentos de onda acima de 590 nm (vermelho) e um pico menor em torno de 400 nm (violeta), reduzindo ondas azuis, verdes e amarelas.

Estudando o comportamento de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae) sob malhas fotoconversoras, Souza (2006) concluiu que maiores teores de clorofila *a*, *b* e total foram encontrados em plantas sob malha azul, em detrimento das cultivadas sob malhas vermelha e cinza. Em condições de pleno sol, foi constatado o menor teor das clorofilas.

Costa et al. (2007), estudando o cultivo de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) sob malhas Chromatinet[®] 50% vermelha e azul e a pleno sol, concluíram que houve aumento da espessura do limbo foliar em plantas cultivadas a pleno sol, já o número de cloroplastos do parênquima paliçádico e o seu tamanho foram maiores nos tratamentos sombreados.

Pesquisas relatando o efeito da qualidade da luz no cultivo de melissa são inexistentes. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar

modificações fisiológicas e anatômicas em melissa, cultivada sob malhas fotoconversoras (Chromatinet®).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no município de Lavras, situado na região Sul do estado de Minas Gerais, a 918,87 metros de altitude, latitude de 21°14'S e longitude de 45°00'W GRW. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992).

Obtenção do material vegetal

As exsiccatas estão depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA e correspondem ao nº 22155.

As mudas de melissa foram produzidas a partir de uma planta matriz, utilizando-se microestacas apicais de 5 centímetros de comprimento e 2 milímetros de diâmetro e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Foram cultivadas em estufa com 60% de sombreamento e, posteriormente, aclimatizadas por meio do aumento gradativo da intensidade luminosa.

Condições climatológicas durante a condução do experimento

Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG foram fornecidos pela Estação Climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Tabela 1 e a temperatura média incidente nas plantas de melissa sob as diferentes condições luminosas são mostrados na Tabela 2.

TABELA 1- Dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, no período de outubro de 2005 a março de 2006. UFLA, Lavras, MG, 2008.

MESES/ANOS	T _x	T _n	T _{méd.}	Prec.total	UR.	Insol.
OUTUBRO/05	30,4	17,4	22,6	102,5	63,9	7,3
NOVEMBRO/05	26,8	17,0	20,9	191,2	77,8	4,8
DEZEMBRO/05	27,4	16,9	21,2	257,3	77,5	5,0
JANEIRO/06	29,4	18,3	23,0	149,9	70,5	7,3
FEVEREIRO/06	30,4	18,5	23,3	284,9	76,5	6,3
MARÇO/06	29,3	18,0	22,4	281,5	79,2	6,9

T_x- Média mensal da temperatura máxima (° C)

T_n – Média mensal da temperatura mínima (° C)

T_{méd.} – Média mensal de T_x e T_n diárias (° C)

Prec. total – Precipitação total mensal (mm)

UR – Umidade relativa do ar média mensal (%)

Insol.- Insolação média mensal (horas)

TABELA 2- Temperatura média local sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	T méd. (°C)
Pleno sol	31
Preta	27
Azul	30
Vermelha	28

Instalação do experimento

Em dezembro de 2005, 80 mudas de 10 cm de altura foram transplantadas para vasos de 10 L, contendo solo, areia e esterco (2:1:1).

Os tratamentos foram arrançados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e caracterizados pelo cultivo das plantas sob disponibilidade de radiação solar incidente e qualidade espectral: pleno sol, malha preta com 50%, malha Chromatinet® vermelha 50% e Chromatinet® azul 50%. As malhas

fotoconversoras utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries[®]. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Avaliações

As avaliações foram iniciadas após 13 semanas da instalação do experimento, a partir de 15 folhas completamente expandidas do terceiro nó da parte superior da planta, tomadas ao acaso, em cada tratamento.

Determinação dos conteúdos de clorofila

As folhas foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e em caixa de isopor com gelo até serem transferidas ao laboratório. A quantificação das clorofilas *a*, *b* e total foi realizada segundo a metodologia de Arnon (1949), utilizando-se quatro repetições.

As folhas foram cortadas em pedaços de 1cm, eliminando-se a nervura central e, em seguida, foram determinadas as massas frescas para cada avaliação (com quatro repetições) e a absorbância das amostras, a 663nm, para a clorofila *a* e a 645nm, para a clorofila *b*, num espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B. Os cálculos de mg de clorofila por grama de massa seca de tecido foliar foram realizados a partir das equações: clorofila *a* = $[12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}] \times [V/(1000 \times W)]$; clorofila *b* = $[22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}] \times [V/(1000 \times W)]$; clorofila total = $[20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}] \times [V/(1000 \times W)]$, em que: A= absorbância dos extratos no comprimento de onda indicado; V= volume final do extrato clorofiliano-cetônico; W= massa fresca, em gramas do material vegetal utilizado.

Anatomia foliar

As folhas foram fixadas em FAA 70%, por 72 horas e, posteriormente conservadas em álcool etílico 70 GL (Johansen, 1940).

O exame pela microscopia de luz das seções transversais foi feito a partir de cortes realizados na região mediana das folhas, em micrótomo de mesa, e submetidos à clarificação em solução de 1% de hipoclorito de sódio, por 15 minutos. Em seguida, foram lavadas em água destilada, neutralizadas em solução acética a 1%. A coloração com safranina (5%) e azul de astra (95%) foi realizada de acordo com os métodos descritos por Bukatsch (1972). Os cortes corados foram montados em lâminas semi-permanentes em glicerina 50%.

As medições da espessura dos tecidos foram realizadas por meio do software de medição Sigma Scan Pro, utilizando-se fotomicrografias registradas em câmera digital Canon PowerShot A620 acoplada ao microscópio KEN-A-VISION TT18. Foram utilizadas 15 repetições, por tratamento, das características: espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial e dos parênquimas paliádico e esponjoso.

Para a realização das observações em microscópio eletrônico de transmissão, fragmentos de aproximadamente 0,5 cm², retirados da porção mediana das folhas foram fixados em solução de glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0, 0,05 M + CaCl₂ 0,001 M por, aproximadamente, quatro horas, em temperatura ambiente.

Posteriormente, esses fragmentos foram lavados em tampão cacodilato 0,05 M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05 M, por 4 horas. Em seguida, iniciou-se a desidratação em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90%, por 10 minutos e 3 vezes em 100%, por 10 minutos). Logo após, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30%, por 8 horas, a 70%, por 12 horas e 2 vezes a 100%, em intervalos de 24 horas. Os tecidos foram emblocados em

resina pura e colocados em estufa, a 70°C, por 48 horas, para a polimerização. Os blocos obtidos foram desbastados com lâminas de aço para a retirada da resina excedente. Foram realizados os cortes em seções semifinas (1 µm) e ultrafinas (<100 nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung com navalha de diamante.

Os cortes semifinos foram coletados com anel de ouro, colocados em lâminas de vidro, corados com azul de toluidina (1 g de azul de toluidina, 1 g de borato de sódio e 100 mL de água purificados por meio de filtro Millipore 0,2 µm) e montados permanentemente em meio Permunt. Os cortes ultrafinos foram coletados em grades de ouro (*golden slot grids*) e secos em raques de alumínio cobertos com *formvar* (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo, por três minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 109. Foram utilizadas 10 repetições para cada tratamento e as características observadas para as análises ultra-estruturais foram o número de cloroplastos por célula, a área, o comprimento e a largura, a área dos grãos de amido e a proporção da área ocupada pelos grãos de amido nos cloroplastos, em células do parênquima paliçádico.

Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada pelo programa Sisvar[®] versão 4.3 (Ferreira, 1999). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F e comparadas pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos conteúdos de clorofila indicou que houve diferença entre plantas de melissa submetidas a condições luminosas distintas (Figura 1).

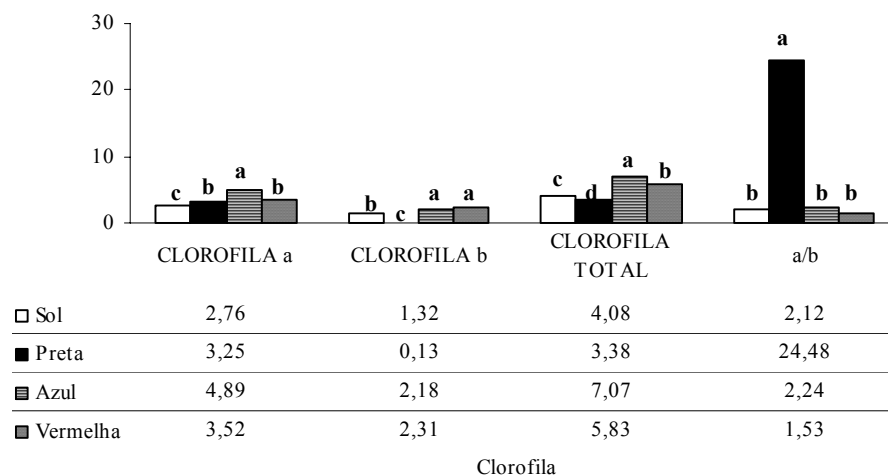


FIGURA 1- Conteúdo de clorofila *a*, *b* e total (mg g^{-1} de massa fresca) e razão clorofila *a/b* em plantas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

As folhas de melissa cultivada a pleno sol apresentaram menor teor de clorofila *a* que os demais tratamentos, indicando, assim, que o sombreamento favoreceu a produção deste pigmento para a espécie. Martins (2006), trabalhando com *Ocimum gratissimum* e Souza (2006), estudando *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata*, relataram resultados semelhantes.

Taiz & Zeiger (2004) asseveram que algumas espécies adicionam mais clorofila de antena ao fotossistema II em ambientes sombrios. Essa adaptação parece acentuar a absorção de luz e a transferência de energia. Isso pode ter ocorrido com a clorofila *a* de folhas de melissa cultivada sob as malhas.

Sob malha azul, foi encontrado o maior teor de clorofila *a* e *b* de melissa. No entanto, não houve diferença com a malha vermelha no teor de clorofila *b* em relação à malha azul. A pleno sol, houve comportamento intermediário, enquanto que, em plantas submetidas à malha preta, foi encontrada a menor quantidade de clorofila *b*, mostrando que o sombreamento não determina a quantidade desta em melissa e, sim, a qualidade da luz incidente (Figura 1).

A luz azul favoreceu os conteúdos de clorofila total para a melissa, sendo seguida pela luz vermelha. Sabe-se que em ambiente sob luz vermelha há menor relação vermelho/vermelho distante. Kasperbauer & Peaslee (1973), estudando o conteúdo de clorofila por unidade de área em plantas de tabaco, verificaram menores valores quando em ambiente com baixa relação V/VD. Isso pode ter ocorrido também com melissa, comparando-se as malhas azul e vermelha. Além disso, alguns trabalhos relatam que a luz azul regula a expressão de certos genes envolvidos em vários processos morfogenéticos importantes, como a biossíntese de clorofila e de outros pigmentos (Tsunoyama et al., 2002; Schwartz & Zeiger, 1984). Ainda, Schuerger et al. (1997) asseguram a luz azul é importante na síntese deste pigmento. Assim, sob a luz azul, provavelmente, as plantas de melissa produzem maior quantidade de clorofilas.

Souza (2006) encontrou respostas semelhantes em *Mikania laevigata* e *Mikania glomerata*. Já Martins (2006) verificou resultados divergentes ao desta pesquisa, apontando a malha preta com o maior conteúdo de clorofilas.

Já sob malha preta, houve menor quantidade de clorofila total, isto creditado aos baixíssimos valores de clorofila *b* verificados neste tratamento,

menores ainda que os sob pleno sol. As alterações no conteúdo dos pigmentos em resposta à composição espectral da luz constituem uma adaptação cromática que proporciona vantagem ecológica em virtude da melhoria no desempenho fotossintético da planta (Larcher, 2004).

Na relação clorofila *a/b*, verificou-se que, sob malha preta, houve maior valor em detrimento dos demais, que foram semelhantes entre si. Isto ocorreu devido ao valor muito baixo de clorofila *b* presente em plantas de melissa sob malha preta.

Taiz & Zeiger (2004) afirmam que em ambientes sombreados há uma alta relação clorofila *b/a*. Isso não foi observado para melissa, cultivada nas condições deste experimento.

Além de modificações bioquímicas ocorrem também características anatômicas contrastantes e estas podem ser encontradas em folhas da mesma planta expostas a regimes luminosos diferentes (Taiz & Zeiger, 2004). Folhas de melissa apresentaram adaptações anatômicas consentâneas aos diferentes ambientes luminosos (Figura 2).

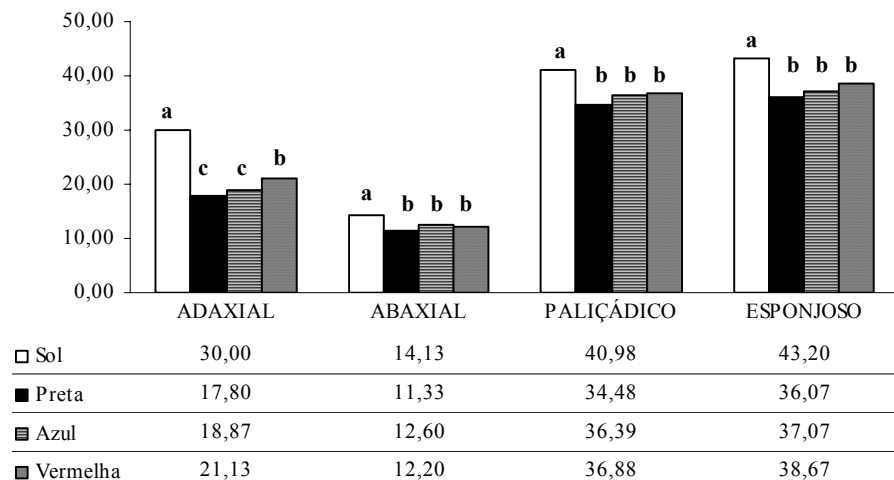


FIGURA 2- Espessura (μm) da epiderme nas faces adaxial e abaxial, do parênquima paliçádico e esponjoso de folhas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Plantas de melissa cultivadas a pleno sol apresentaram maior espessura da epiderme na face adaxial e, em seguida, as plantas cultivadas sob malha vermelha. Sob as malhas preta e azul houve os menores valores e semelhantes entre si (Figura 2). Souza et al. (2007) verificaram que plantas de *Mikania laevigata* a pleno sol e sob malha azul apresentaram a maior espessura.

Já Martins (2006) observou que, para plantas de *Ocimum gratissimum*, não houve diferença entre os tratamentos para esta característica, bem como para a face abaxial da epiderme. Isso não ocorreu com melissa, que apresentou maior espessura da face abaxial quando cultivada a pleno sol e os demais tratamentos foram semelhantes entre si. Taiz & Zeiger (2004) afirmam que folhas

submetidas a pleno sol são mais espessas e possuem células paliçádicas mais longas do que as de sombra.

A camada do parênquima paliçádico apresentou maior espessura em plantas de melissa cultivadas a pleno sol e os demais tratamentos não diferiram entre si (Figura 2). O mesmo resultado foi observado para o parênquima lacunoso, indicando que a espécie apresenta esta característica adaptativa quando em 100% de luz. Plantas de *Ocimum gratissimum* apresentaram o mesmo comportamento, quando submetida a tratamentos semelhantes aos desta pesquisa (Martins, 2006). Lee et al. (2000) asseveram que o espessamento foliar é efeito apenas da intensidade luminosa, pois a qualidade espectral não é capaz de afetar a contribuição das camadas de tecido do mesofilo. Estes resultados corroboram com os de melissa.

Costa et al. (2007), estudando *Ocimum selloi* sob pleno sol, malha vermelha e azul, concluíram que a face adaxial da epiderme e a camada paliçádica não apresentaram diferença, enquanto a face abaxial da epiderme e a camada lacunosa foram mais espessas, superiores à plantas a pleno sol.

Os resultados encontrados para as células epidérmicas da face adaxial e do parênquima paliçádico de folhas de melissa podem ser explicados pela diferença de distribuição de fotoassimilados. De acordo com Sert (1992), em menor intensidade luminosa, as plantas apresentam folhas mais finas, devido ao consumo de assimilados para a expansão de área foliar.

Isso também pode ser explicado pelas teorias da ação da radiação solar na morfogenética vegetal. Plantas submetidas a maiores intensidades luminosas apresentam, geralmente, elevadas concentrações de açúcares solúveis e, como consequência, aumento da pressão osmótica, favorecendo a expansão celular (Rizzini, 1976).

Variações são encontradas quando a planta é submetida a diferentes regimes luminosos, o que ocorreu também em nível de cloroplasto. A ultra-estrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de melissa é mostrada na Figura 3.

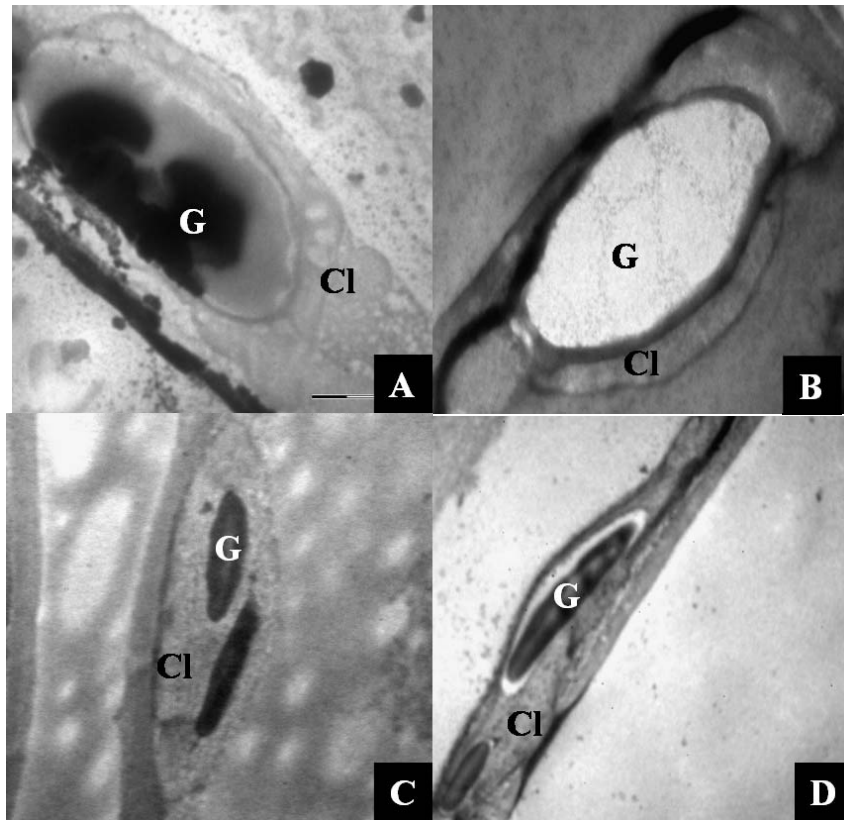


FIGURA 3- Eletromicrografias de transmissão eletrônica (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliçádico de lâminas foliares de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol (A), malha preta (B), malha azul (C) e malha vermelha (D). Cl- cloroplasto e G- grão de amido. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Em plantas de melissa foram observadas diferenças entre número, área, comprimento e largura dos cloroplastos do parênquima paliçádico (Figura 4). Quando submetidas a pleno sol, plantas de melissa apresentaram maior número de cloroplastos, superior aos demais. A malha azul proporcionou maior quantidade de cloroplastos que a malha preta e, por último, a malha vermelha.

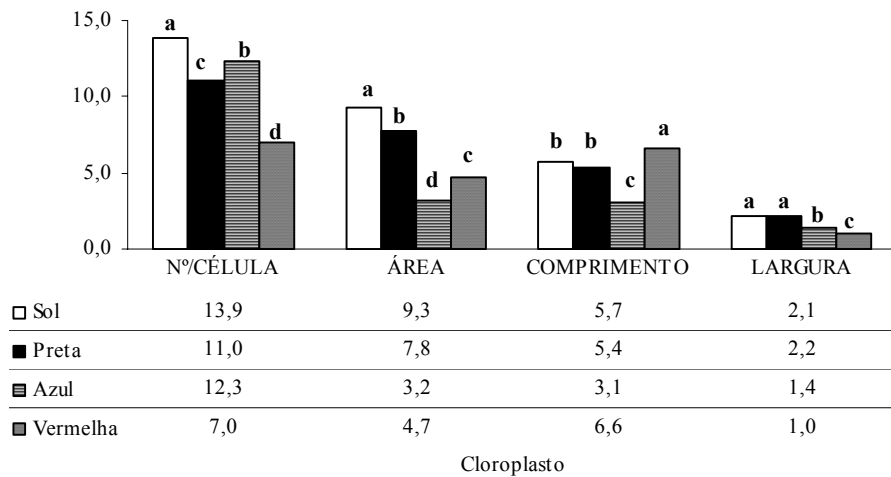


FIGURA 4- Número por célula, área (μm^2), comprimento (μm) e largura (μm) de cloroplastos de plantas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Schuerger et al. (1997) asseguram que a luz azul é importante para o desenvolvimento dos cloroplastos e tem se mostrado mais eficiente que a luz vermelha. A exposição à radiação na faixa do vermelho e vermelho distante

durante o crescimento e o desenvolvimento foliar influencia o desenvolvimento dos cloroplastos (Leong et al., 1985). O que não ocorreu com melissa.

Em resultados contrastantes, Souza et al. (2007) verificaram que, em *Mikania glomerata*, há maior número de cloroplastos quando ela é cultivada sob malha azul e os demais tratamentos influenciaram de forma semelhante à característica em questão. Costa et al. (2007) encontraram maior quantidade de cloroplastos em plantas de *Ocimum selloi* submetidas a malhas azul e vermelha, em detrimento de pleno sol.

Além de estarem presentes em maior número, os cloroplastos de folhas de melissa cultivada a pleno sol apresentaram a maior área (Figura 4). Larcher (2004) afirma que plantas que crescem sob forte radiação desenvolvem células do mesofilo ricas em cloroplasto. Sob malha azul, os cloroplastos de melissa apresentaram a menor área. Já Souza et al. (2007) encontraram maior área de cloroplastos de *Mikania laevigata* sob pleno sol e malhas vermelha e azul.

O maior comprimento dos cloroplastos foi detectado em plantas submetidas ao cultivo sob malha vermelha, porém, apresentaram a menor largura. Esses resultados estão de acordo com os de Souza et al. (2007), trabalhando com espécie *Mikania laevigata*.

Referindo-se à largura dos cloroplastos de melissa, o maior valor encontrado para esta característica foi em plantas submetidas ao cultivo sob pleno sol e malha preta. Martins (2006) verificou que, a pleno sol e sob malha azul, houve maior largura dos cloroplastos de *Ocimum gratissimum*.

Nos cloroplastos ocorre a síntese de amido e estes apresentaram maior área quando as plantas de melissa foram cultivadas sob pleno sol e malha preta (Figura 5).

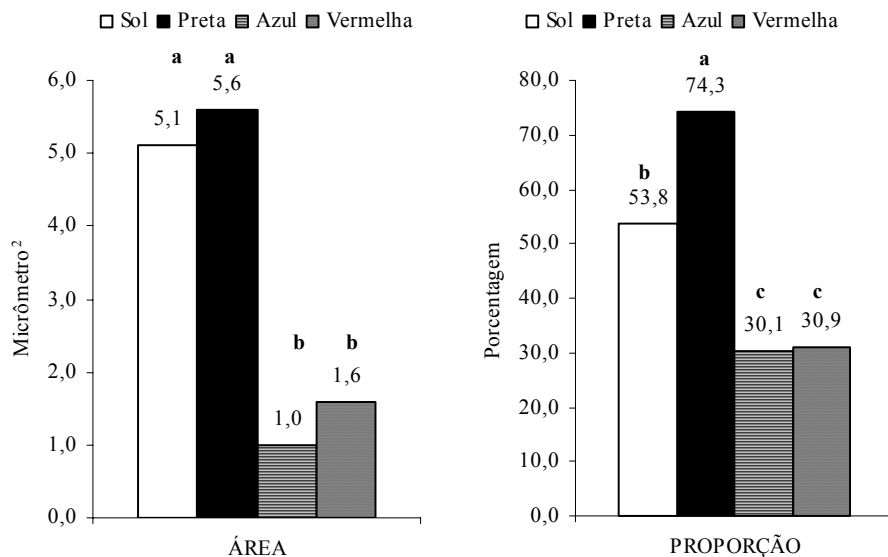


FIGURA 5- Área dos grãos de amido (μm^2) e proporção dos grãos de amido em relação aos cloroplastos (%) de plantas de *Melissa officinalis* L., cultivadas sob pleno sol, malha preta, malha azul e malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=5\%$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Valores inferiores foram encontrados em plantas de melissa sob malha azul e vermelha, indicando que a qualidade espectral desfavorece em área os grãos de amido presentes no cloroplasto. Já Costa et al. (2007) concluíram que não houve diferença entre os tratamentos para área dos grãos de amido de *Ocimum selloi*. Em *Ocimum gratissimum* (Martins, 2006) e *Mikania laevigata* (Souza, 2006), plantas cultivadas sob pleno sol e malhas vermelha e azul apresentaram maior área dos grãos de amido.

Sob malha preta houve a maior proporção de ocupação em área dos grãos de amido nos cloroplastos (Figura 5). Larcher (2004) assevera que plantas crescidas sob forte radiação têm maior produção e um maior conteúdo

energético da massa seca. Assim, provavelmente, as plantas sob pleno sol tiveram seu conteúdo energético armazenado no cloroplasto sob forma de grãos de amido.

Outrossim, aparentemente, as plantas de melissa cultivadas sob malhas apresentaram aspecto melhor do que as plantas a pleno sol; as folhas apresentaram menos danos e coloração mais homogênea.

4 CONCLUSÕES

Plantas de melissa crescidas sob malha azul tiveram maior conteúdo de clorofila *a*, *b* e total.

A pleno sol, obteve-se maior espessura de epiderme e do mesofilo, bem como de quantidade de cloroplastos e área de grãos de amido.

A maior proporção ocupada pelos grãos de amido nos cloroplastos ocorreu sob a malha preta.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolates choroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normas climatológicas de 1961- 1990**. Brasília, 1992. 84 p.

BUKATSCH, F. Benerkrugen zur doppelfarbung astrablausafranina. **Microkosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 255, 1972.

COOLEY, N.M.; HOLMES, M.G.; ATTRIDGE, T.H. Outdoor ultraviolet polychromatic action spectra for growth responses of *Bellis perennis* and *Cynosurus cristatus*. **Journal Photochemistry Photobiology B - Biology**, Lausanne, v. 59, n. 1/3, p. 64-71, Dec. 2000.

- COSTA, L.C.B.; CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; ALVES, E.; BERTOLUCCI, S.K.; ROSAL, F.; MOREIRA, C.M. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 6-8, 2007. Suplemento, 1.
- FARIAS, V.C.C. et al. Análise de crescimento de mudas cedrorana (*Cedrelinga catenaeformis* (Ducke) Ducke) cultivadas em condições de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 193-200, 1997.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4. 3**. Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA/DEX, 1999. Software.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- KASPERBAUER, M.J.; PEASLEE, D.E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that receive end-of day red or far red light. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 5, p. 440-442, 1973.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.
- LEONG, T.; GOODCHILD, D.J.; ANDERSON, J.M. Effect of light quality on the composition, function and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium australicum* (Sm.) Hook. **Plant Physiology**, Rock, v. 78, n. 3, p. 561-567, 1985.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. p. 245.
- LEE, D.W.; OBERBAUER, F.; JOHNSON, P.; BASKARAN, K.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, 2000.
- MARTINS, J.R. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** 2006. 176 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MUROYA, K.; VARELA, V.P.; CAMPOS, M.A.A. Análise de crescimento de mudas de jacareúba (*Calophyllum angulare* A. C. Smith - Guttiferae) cultivadas em condições de viveiro. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 27, n. 3, p.197-212, set. 1997.

MUSIL, C.F.; CHIMPHANGO, S.B.M.; DAKORA, F.D. Effects of elevated ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of southern Africa. **Annals of Botany**, London, v. 90, n. 1, p. 127-137, July 2002.

RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos**. São Paulo: HUCITEC/EDUSP, 1976. 327 p.

ROWLEY, C.R.; MORAN, D.T. A simple procedure for mounting wrinkle free section on *formvar*-coated slot grids. **Ultramicrotomy**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 151-155, 1975.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STYJEWSKI, E. C. Anatomical features of piper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SCHWARTZ, A.; ZEIGER, E. Metabolic energy for stomatal opening roles of photophosphorylation and oxidative phosphorylation. **Planta**, Berlin, v. 161, n. 2, p. 129-136, 1984.

SERT, M.A. **Anatomia foliar e teores de clorofila em três variedades de soja [Glycine max (L.) MEDRILL] e dois níveis de radiação solar**. 1992. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SOUZA, G.S. **Desenvolvimento vegetativo, características anatômicas e fitoquímicas de plantas jovens de duas espécies de guaco, submetidas a diferentes condições de qualidade de radiação**. 2006. 117p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOUZA, G.S.; CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; ALVES, E.; BIAGIOTTIS, G.; DEUNERI, S. Estrutura foliar e de cloroplastídeos de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 78-80, 2007. Suplemento, 1.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TSUNOYAMA, Y.; MORIKAWA, K.; SHIINA, T.; TOYOSHIMA, Y. Blue light specific and differential expression of a plastid factor, *Sig* in *Arabidopsis thaliana*. **Febs Letters**, Amsterdam, v. 516, n. 1/3, p. 225-228, 2002.

ANEXOS

ANEXO A

TABELA 1 A. Resumo da análise de variância do capítulo II, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, razão raiz/parte aérea, área foliar total (AFT), altura da parte aérea, teor e rendimento de óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. UFLA, Lavras, MG, 2008.....	131
TABELA 2 A. Resumo da análise de variância do capítulo III, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, razão raiz/parte aérea, razão de área foliar (RAF), razão peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE), área foliar total (AFT), altura da parte aérea, teor e rendimento de óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. UFLA, Lavras, MG, 2008.....	133
TABELA 3 A. Resumo da análise de variância do capítulo IV, referentes à: conteúdos de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> , total, razão clorofila <i>a/b</i> , espessuras das faces adaxial e abaxial da epiderme, espessuras dos parênquimas paliçádico, esponjoso, número de cloroplastos por célula, área, comprimento e largura dos cloroplastos, área e proporção dos grãos de amido de <i>Melissa officinalis</i> L. UFLA, Lavras, MG, 2008.....	135

TABELA 4 A. Resumo da análise de variância do capítulo V, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, área foliar total (AFT), razão raiz/parte aérea, razão peso foliar (RPF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), teor e rendimento de óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. UFLA, Lavras, MG, 2008.....	136
TABELA 5 A. Resumo da análise de variância do capítulo VI, referentes à: conteúdos de clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> , total, razão clorofila <i>a/b</i> , espessuras das faces adaxial e abaxial da epiderme, espessuras dos parênquimas paliçádico, esponjoso, número de cloroplastos por célula, área, comprimento e largura dos cloroplastos, área e proporção dos grãos de amido de <i>Melissa officinalis</i> L. UFLA, Lavras, MG, 2008.....	137

TABELA 1 A. Resumo da análise de variância do capítulo II, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, razão raiz/parte aérea, razão peso foliar (RPF), área foliar total (AFT), altura da parte aérea, teor e rendimento de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO					
	Trat	Bloco	Resíduo	Total	C.V. (%)
G.L.	4	3	12	19	-
ESTERCO BOVINO					
B.S. Folhas	510,83*	6,18	11,56	-	14,38
B.S. Caules	471,20*	16,93	14,10	-	16,76
B.S. P.A.	1949,83*	17,80	24,93	-	10,83
B.S. Raiz	5160,70*	46,85	32,77	-	12,01
Q. B.S. Total	12265,93*	16,73	94,19	-	10,36
M. Razão raiz/P.A.	0,582*	0,034	0,010	-	10,62
AFT	4485,15*	26,29	56,72	-	10,72
Altura	215,83*	16,98	35,69	-	9,66
Teor ó. e.	0,010821*	0,000919	0,000621	-	22,01
Rendim. ó. e.	0,001194*	0,000110	0,000042	-	22,65
ESTERCO AVÍCOLA					
B.S. Folhas	1252,80*	21,45	12,73	-	10,78
B.S. Caules	840,22*	2,71	9,10	-	10,35

Continuação...

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

...Continuação

TABELA 1 A. Resumo da análise de variância do capítulo II, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, razão raiz/parte aérea, razão peso foliar (RPF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), área foliar total (AFT), altura da parte aérea, teor e rendimento de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO						
	Trat	Bloco	Resíduo	Total	C.V. (%)	
	B.S. P.A.	4079,93*	30,85	23,23	-	7,75
	B.S. Raiz	4031,22*	83,48	45,77	-	11,90
Q.	B.S. Total	16045,10*	128,08	89,30	-	7,94
M.	Razão raiz/P.A.	0,070*	0,020	0,013	-	13,40
	AFT	9666,73*	815,42	714,06	-	30,61
	Altura	950,58*	31,20	45,58	-	8,75
	Teor ó. e.	0,022106*	0,001987	0,000507	-	16,09
	Rendim. ó. e.	0,003661*	0,000555	0,000124	-	22,30

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 2 A. Resumo da análise de variância do capítulo III, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, razão raiz/parte aérea, razão de área foliar (RAF), razão peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE), área foliar total (AFT), altura da parte aérea, teor e rendimento de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO				
	Tratamento	Resíduo	Total	C.V. (%)
G.L.	2	18	20	-
B.S. Folhas	111,60*	6,31	-	13,92
B.S. Caules	47,56*	4,22	-	10,07
B.S. P.A.	297,24*	8,80	-	9,45
B.S. Raiz	181,33*	16,62	-	7,61
Q. B.S. Total	131,48*	39,62	-	7,68
M. Razão raiz/P.A.	2,12*	0,014	-	5,41
RAF	94,69*	0,49	-	7,62
RPF	0,026*	0,0014	-	7,93
AFE	483,73*	32,95	-	11,15
AFT	276938,84*	3303,42	-	7,32
Altura	3117,77*	9,92	-	4,25
Teor ó. e.	0,00051 ^{NS}	0,0006	-	16,50
Rendim. ó. e.	0,00018*	0,000011	-	10,96

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 3 A. Resumo da análise de variância do capítulo IV, referentes à: conteúdos de clorofilas *a*, *b*, total, razão clorofila *a/b*, espessuras das faces adaxial e abaxial da epiderme, espessuras dos parênquimas paliçádico, esponjoso, número de cloroplastos por célula, área, comprimento e largura dos cloroplastos, área e proporção dos grãos de amido de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO					
		Tratamento	Resíduo	Total	C.V. (%)
	G.L.	2	6	11	-
Q.M.	Clorofila a	1,62*	0,23	-	10,02
	Clorofila b	0,276 ^{NS}	0,2576	-	3,98
	Clorofila total	0,579 ^{NS}	0,5154	-	5,33
	Razão a/b	0,093*	0,023	-	15,43
	G.L.	2	42	44	-
Q.M.	E.E. adaxial	86,60*	3,80	-	13,72
	E.E. abaxial	1,36 ^{NS}	3,63	-	15,84
	E.P. paliçádico	98,95*	17,48	-	11,28
	E.P. esponjoso	16,02 ^{NS}	42,69	-	15,77
	G.L.	2	27	29	-
Q.M.	Nº clorop./célula	65,43*	1,99	-	13,49
	Área cloroplasto	9,10*	3,31	-	20,86
	Comprimento cloroplasto	0,43 ^{NS}	1,04	-	11,68
	Largura cloroplasto	1,63*	0,26	-	23,86

Continuação...

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

...Continuação

TABELA 3 A. Resumo da análise de variância do capítulo IV, referentes à: conteúdos de clorofilas *a*, *b*, total, razão clorofila *a/b*, espessuras das faces adaxial e abaxial da epiderme, espessuras dos parênquimas paliçádico, esponjoso, número de cloroplastos por célula, área, comprimento e largura dos cloroplastos, área e proporção dos grãos de amido de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO					
		Tratamento	Resíduo	Total	C.V. (%)
Q.M.	Área amido	3,63*	0,48	-	30,83
	Proporção amido	892,99*	28,76	-	24,65

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 4 A. Resumo da análise de variância do capítulo V, referentes à: biomassa seca de folhas, caules, parte aérea, raiz, total, área foliar total (AFT), razão raiz/parte aérea, razão peso foliar (RPF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), teor e rendimento de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO				
	Tratamento	Resíduo	Total	C.V. (%)
G.L.	3	16	19	-
B.S. Folhas	25,04*	8,69	-	11,81
B.S. Caules	20,05*	2,28	-	10,45
B.S. P.A.	88,51*	17,54	-	10,66
B.S. Raiz	65,59*	14,72	-	12,59
Q.M. B.S. Total	286,49*	60,21	-	11,03
Razão raiz/P.A.	0,015*	0,0031	-	6,98
RAF	1,43 ^{NS}	0,1124	-	10,43
RPF	0,00067 ^{NS}	0,000339	-	4,75
AFE	25,69 ^{NS}	16,03	-	13,55
AFT	41171,93*	4556,76	-	9,96
Teor ó. e.	0,0100*	0,0037	-	14,13
Rendim. ó. e.	0,0014*	0,00024	-	15,15

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

TABELA 5 A. Resumo da análise de variância do capítulo VI, referentes à: conteúdos de clorofilas *a*, *b*, total, razão clorofila *a/b*, espessuras das faces adaxial e abaxial da epiderme, espessuras dos parênquimas paliçádico, esponjoso, número de cloroplastos por célula, área, comprimento e largura dos cloroplastos, área e proporção dos grãos de amido de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO					
		Tratamento	Resíduo	Total	C.V. (%)
	G.L.	3	16	19	-
Q.M.	Clorofila a	4,16*	0,18	-	6,99
	Clorofila b	5,04*	0,031	-	10,00
	Clorofila total	14,02*	0,26	-	6,32
	Razão a/b	634,21*	3,00	-	15,77
	G.L.	3	56	59	-
Q.M.	E.E. adaxial	460,99*	11,43	-	15,40
	E.E. abaxial	20,56*	3,45	-	14,78
	E.P. paliçádico	112,19*	15,89	-	10,72
	E.P. esponjoso	149,22*	38,81	-	16,08
	G.L.	3	36	39	-
Q.M.	Nº clorop./célula	86,97*	1,25	-	7,31
	Área cloroplasto	78,03*	1,38	-	15,52
	Comprimento cloroplasto	21,43*	0,50	-	12,99
	Largura cloroplasto	5,33*	0,40	-	21,38

Continuação...

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.

...Continuação

TABELA 5 A. Resumo da análise de variância do capítulo VI, referentes à: conteúdos de clorofilas *a*, *b*, total, razão clorofila *a/b*, espessuras das faces adaxial e abaxial da epiderme, espessuras dos parênquimas paliçádico, esponjoso, número de cloroplastos por célula, área, comprimento e largura dos cloroplastos, área e proporção dos grãos de amido de *Melissa officinalis* L. UFLA, Lavras, MG, 2008.

CAUSA DA VARIAÇÃO					
		Tratamento	Resíduo	Total	C.V. (%)
Q.M.	Área amido	55,69*	0,76	-	21,01
	Proporção amido	4453,81*	112,70	-	18,13

* Significativo a 5% de probabilidade.

NS – Não significativo a 5% de probabilidade.