

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ÓLEO
ESSENCIAL E CARACTERÍSTICAS
FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS FOLIARES
DE *Plectranthus neochilus* SCHLECHTER EM
FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO ORGÂNICA,
MALHAS COLORIDAS E IDADE DAS PLANTAS**

LOUISE FERREIRA ROSAL

2008

LOUISE FERREIRA ROSAL

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ÓLEO ESSENCIAL E
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS FOLIARES DE
Plectranthus neochilus SCHLECHTER EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO
ORGÂNICA, MALHAS COLORIDAS E IDADE DAS PLANTAS**

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

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

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

Rosal, Louise Ferreira.

Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas / Louise Ferreira Rosal. -- Lavras : UFLA, 2008.

123 p. : il.

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

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

Bibliografia.

1. Boldo pequeno. 2. Produção vegetal. 4. Óleo essencial. 5. Estádio de desenvolvimento. 6. Fertilizantes orgânicos. 7. Luz. 8. ChromatiNet®. 9. Índices fisiológicos. 10. Anatomia foliar. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 633.88387

LOUISE FERREIRA ROSAL

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ÓLEO ESSENCIAL E
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS FOLIARES DE
Plectranthus neochilus SCHLECHTER EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO
ORGÂNICA, MALHAS COLORIDAS E IDADE DAS PLANTAS**

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 07 de março de 2008.

Prof ^ª . Dr ^ª . Ana Valéria de Souza	UEL
Prof. Dr. Daniel Melo de Castro	UFLA
Prof. Dr. João Almir Oliveira	UFLA
Prof. Dr. Rovilson José de Souza	UFLA

Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

À minha família,
pelo amor e pelos melhores ensinamentos,
certamente eles foram decisivos para tornar mais
essa conquista possível,

OFEREÇO

À família que fiz em Lavras, que me ofertou cinco maravilhosos
anos de vivência com demonstrações evidentes de amor, alegria,
solidariedade, companheirismo e amizade,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que iluminou meu caminho com toda Sua maestria, tornando meus sonhos realizáveis.

Aos meus pais, Graça e Luis, e meus irmãos, Luis, Fernanda e Victória, pelo imenso amor que existe entre nós e mesmo estando longe ou perto, minha vida, com certeza, sempre foi cheia de alegria e perfeição por saber que tenho vocês comigo. Amo todos vocês profundamente!

À toda minha família, Araújo Alves Ferreira e Rosal, pelo amor, incentivo, amizade, confiança, respeito e ensinamentos, esse trabalho é nosso e tenho muito orgulho de dividi-lo com vocês.

Ao prof. José Eduardo Brasil Pereira Pinto, pela orientação que extrapolou a vida acadêmica, sem dúvida sua amizade e ensinamentos foram muito importantes durante toda a construção desse trabalho. Muito obrigada.

Aos membros da banca examinadora, pelo enriquecimento desse trabalho, suas contribuições foram valiosíssimas.

Aos professores e funcionários de todos os departamentos, pela ajuda, parceria e ensinamentos.

Aos irmãos de coração Lúcia, Gonzaga, Letícia, Marli, Vanessa Theodoro, Flavinha, Renata, João, Sirlei, Lucrécio, José Luiz, Ronaldo Libânio, Helton, Carlos Juliano, Simone, Daniella, Gleyce, que tornaram meus dias mais felizes e trouxeram consigo, cada um à sua maneira, o amor e o acolhimento que facilitaram suportar estar longe de casa. Adoro vocês.

Aos colegas Fábio, Pedro, Larissa, Flávia, Roseane, Priscila, Helen, Ricardo, Érika, Jorge, Luciana e Cynthia, pela ótima convivência.

Ao grande amigo Evaldo Arantes de Souza, pela amizade, cuidado e carinho sempre prontos para serem ofertados.

Ao Luiz Gonzaga, Dico e Paulo, pela boa vontade e ajuda na condução dos experimentos.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do mestrado e doutorado e pelo ensino de qualidade.

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

Enfim, a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a finalização desta etapa fundamental da minha vida, embora não citados aqui, meus mais verdadeiros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
CAPÍTULO I	1
1 Introdução geral.....	2
2 Revisão de literatura.....	4
2.1 Produção de plantas medicinais.....	4
2.2 Caracterização do gênero <i>Plectranthus</i> e da espécie <i>Plectranthus neochilus</i> Schlechter.....	5
2.3 Óleos essenciais.....	7
2.4 Idade da Planta.....	8
2.5 Adubação orgânica.....	9
2.6 Características fisiológicas e anatômicas dos vegetais sob efeito da luz.....	10
3 Referências bibliográficas.....	13
CAPÍTULO II - Teor e composição do óleo essencial de boldo pequeno em função da idade da planta e condições de cultivo	17
1 Resumo.....	18
2 Abstract.....	19
3 Introdução.....	20
4 Material e métodos.....	21
4.1 Preparo das mudas para instalação dos experimentos.....	21
4.2 Idade das plantas.....	22
4.3 Ambientes de cultivo.....	23
5 Resultados e discussão.....	25
5.1 Idade das plantas.....	25
5.2 Ambientes de cultivo.....	27
6 Conclusões.....	31
7 Agradecimentos.....	31
8 Referências bibliográficas.....	32
CAPÍTULO III - Uso de fontes de adubos orgânicos na produção vegetal e óleo essencial de boldo pequeno	35
1 Resumo.....	36
2 Abstract.....	37
3 Introdução.....	38
4 Material e métodos.....	39
4.1 Preparo das mudas para instalação dos experimentos.....	40
4.2 Instalação do experimento.....	40
4.3 Extração do óleo essencial.....	42
4.4 Identificação da composição química dos óleos essenciais.....	42
4.5 Análise estatística.....	43

5 Resultados e discussão.....	44
6 Conclusões.....	54
7 Agradecimentos.....	54
8 Referências bibliográficas.....	54
CAPÍTULO IV - Produção de biomassa e óleo essencial de boldo pequeno cultivado no campo sob níveis crescentes de adubo orgânico.....	59
1 Resumo.....	60
2 Abstract.....	61
3 Introdução.....	62
4 Material e métodos.....	63
4.1 Preparo das mudas para instalação dos experimentos.....	64
4.2 Instalação do experimento.....	64
4.3 Extração do óleo essencial.....	65
4.5 Análise estatística.....	66
5 Resultados e discussão.....	66
6 Conclusões.....	70
7 Agradecimentos.....	71
8 Referências bibliográficas.....	71
CAPÍTULO V - Características fisiológicas e rendimento de óleo essencial de boldo pequeno cultivado sob malhas fotoconversoras.....	75
1 Resumo.....	76
2 Abstract.....	77
3 Introdução.....	78
4 Material e métodos.....	80
4.1 Preparo das mudas para instalação dos experimentos.....	81
4.2 Instalação do experimento.....	81
4.3 Avaliações de crescimento.....	82
4.3.1 Produção de biomassa.....	82
4.3.2 Análise de crescimento.....	82
4.4 Teor de clorofila.....	83
4.5 Extração do óleo essencial.....	83
4.6 Análise estatística.....	84
5 Resultados e discussão.....	84
6 Conclusões.....	93
7 Agradecimentos.....	93
8 Referências bibliográficas.....	94
CAPÍTULO VI - Características anatômicas foliares, teor e composição do óleo essencial de <i>Plectranthus neochilus</i> Schlechter cultivado sob malhas fotoconversoras.....	99
1 Resumo.....	100

2 Abstract.....	101
3 Introdução.....	102
4 Material e métodos.....	103
4.1 Preparo das mudas para instalação dos experimentos.....	103
4.2 Instalação do experimento.....	103
4.3 Análises anatômicas.....	104
4.3.1 Microscopia fotônica (MF).....	104
4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	105
4.4 Extração do óleo essencial.....	106
4.5 Identificação da composição química dos óleos essenciais.....	107
4.6 Análise estatística.....	107
5 Resultados e discussão.....	108
6 Conclusões.....	120
7 Agradecimentos.....	120
8 Referências bibliográficas.....	120

RESUMO GERAL

ROSAL, Louise Ferreira. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas.** 2008. 123 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

A espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter é uma planta herbácea, perene, ramificada, muito aromática, conhecida também como boldo pequeno, boldo cheiroso, boldo rasteiro ou boldo gambá. Possui folhas pequenas quase triangulares, dispostas compactamente, pouco amargas, de odor forte e inflorescência racemosa de coloração violeta. Suas folhas são utilizadas para o tratamento de insuficiência hepática, dispepsia e dores no estômago. O objetivo na presente pesquisa foi avaliar a produção de biomassa e óleo essencial e as alterações anatômicas foliares da espécie em função da luz (intensidade e qualidade), adubação orgânica (tipos e níveis de adubos) e idade da planta. No experimento de avaliação de idades da planta e condições de cultivo, o teor de óleo essencial de boldo rasteiro foi influenciado pelo estágio de desenvolvimento da planta. A composição química do óleo volátil foi afetada pelo ambiente de cultivo em que as plantas se encontravam. As fontes de adubo orgânico testadas promoveram diferenças em relação à produção de biomassa, distribuição dos fotoassimilados, rendimento e composição do óleo essencial, mas não modificou o teor de óleo. Os níveis de adubo orgânico alteraram a produção de biomassa e o rendimento do óleo essencial, não modificando o teor do óleo. O crescimento, desenvolvimento e rendimento de óleo volátil das plantas foi influenciado pela luz azul. O sombreamento favoreceu a produção de óleo essencial e é mais proeminente sob luz azul. As plantas de *P. neochilus* apresentaram alta plasticidade fenotípica quanto à anatomia foliar sob as condições de cultivo utilizadas. O teor de óleo essencial foi maior nos ambientes que promoveram sombreamento. A composição química do óleo essencial varia em função do fornecimento de luz.

* Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto - UFLA (Orientador).

GENERAL ABSTRACT

ROSAL, Louise Ferreira. **Biomass production, essential oil and physiological and anatomical foliar characteristics of *Plectranthus neochilus* Schlechter in function of organic manure, color shading nets and plants age.** 2008. 123 p. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

Plectranthus neochilus Schlechter species is a herbaceous, perennial, branched, aromatic plant, also known as small “boldo”, aromatic “boldo”. It got small leaves almost triangular compactedly arranged not too bitter and with strong smell and inflorescence type racemose with violet color. Its leaves are used for hepatic insufficiency and stomach aches. The purpose of this work was to evaluate the biomass production, essential oil yield and composition and also anatomical changes of the species in function of light (intensity and quality), organic manure (types and doses) and plant age. In the experiment plants age evaluation and culture conditions the essential oil contents of “boldo” was influenced by the plant development stage. The chemical composition of essential oil was affected by the culture environment. The organic manure tested promoted differences related to biomass production, biomass distribution, yield and composition essential oil but did not modify the oil content. Organic manure contents altered biomass production and essential oil yield, but do not alter the oil content. The plants growth, development and volatile oil yield was influenced by the blue light. *Plectranthus neochilus* plants showed high phenotypical plasticity related to foliar anatomy under the cultured conditions used. Essential oil content was higher on the places that provide shading. Essential oil chemical composition changed in the function of light supplying.

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

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Plectranthus* abrange mais de 350 espécies e pertence à família Lamiaceae (Lukhoba et al., 2006). Dentre os indivíduos que compõem esse gênero, destaca-se a espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter, que é uma planta herbácea, perene, ramificada, aromática, conhecida também como boldo pequeno, boldo cheiroso, boldo rasteiro ou boldo gambá (Lorenzi & Matos, 2002). Suas folhas são utilizadas popularmente para o tratamento de insuficiência hepática, dispepsia e dores no estômago (Vendruscolo & Mentz, 2006; Duarte & Lopes, 2007).

Após verificar que na literatura as informações sobre essa espécie são escassas, e como se trata de uma planta utilizada para fins medicinais, o estudo sistematizado das técnicas empregadas no cultivo de plantas medicinais vai ao encontro da carência de informações sobre a espécie *Plectranthus neochilus*.

Sabe-se que são vários os fatores que devem ser levados em consideração quando pretende-se avaliar a produtividade do material vegetal e o rendimento do composto químico de interesse. Um dos fatores que interferem, sobremaneira, na sintetização de metabólitos secundários é a idade da planta, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e/ou reelaborados para expressar respostas biológicas, que são características de cada uma das fases em que a planta se encontra (Ming, 1996).

Simões & Spitzer (2003) acrescentam que o ambiente no qual o vegetal se desenvolve e o tipo de cultivo têm grande influência sobre a composição química dos óleos essenciais. O cultivo de plantas medicinais e aromáticas é, predominantemente, baseado na utilização de adubos orgânicos como fonte de nutrientes (Corrêa Júnior et al., 2006). Ademais, esses fertilizantes atuam nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, melhorando o ambiente edáfico. Portanto, agindo conjuntamente, esses inúmeros atributos conferidos aos adubos orgânicos levam a crer que promovam aumento da produtividade das

plantas e até redução nos custos globais com adubação (Rodrigues & Sumioka, 2003).

Outro fator que desempenha papel relevante no controle dos processos associados ao metabolismo geral das plantas é a luz, que influencia direta ou indiretamente o crescimento, desenvolvimento e produção de compostos químicos das plantas, causando alterações morfofisiológicas em plantas cultivadas sob diferentes níveis e qualidades de luz (Vilela & Ravetta, 2000; Valio, 2001).

Para atingir o objetivo de avaliar a influência dos fatores fitotécnicos na produção de biomassa, de óleos essenciais e na anatomia foliar de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter, a presente pesquisa dividiu-se em cinco experimentos, cujos resultados são apresentados na forma de capítulos.

No capítulo 1 é abordada uma breve revisão bibliográfica que abrange a caracterização da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter e os tópicos mencionados nos capítulos subseqüentes.

O capítulo 2 refere-se à influência da idade das plantas e de diferentes ambientes de cultivo no teor e na composição do óleo essencial de boldo pequeno.

O capítulo 3 descreve os efeitos de diferentes fontes de adubos orgânicos em plantas de boldo pequeno cultivadas em ambiente protegido sobre a produção de biomassa, teor, rendimento e qualidade de óleo essencial.

No capítulo 4 avaliou-se a produção de óleo essencial e biomassa de boldo pequeno cultivado no campo e adubado com níveis crescentes de esterco bovino.

No capítulo 5 foram estudadas características fisiológicas e rendimento de óleo essencial de boldo pequeno cultivado sob malhas fotoconversoras (Chromatinet®).

Por fim, o capítulo 6 tratou das respostas apresentadas pelas plantas de boldo pequeno cultivadas sob malhas fotoconversoras (Chromatinet[®]) sobre a avaliação das características anatômicas foliares, teor e composição do óleo essencial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de plantas medicinais

O valor das plantas medicinais, aromáticas e condimentares é determinado pelos compostos químicos especiais elaborados por elas, que são chamados de princípios ativos. Há diversos fatores que influenciam na elaboração dos princípios ativos, como os de ordem genética que são transmitidos de geração em geração. Essa constituição genética é diferente para cada espécie, podendo, também, haver variedades com composição química diferente. Há os fatores externos, como temperatura, água, vento, solo, altitude e latitude, que também interferem de maneira significativa na elaboração dos princípios ativos (Corrêa Júnior et al., 2006).

A qualidade das plantas medicinais e aromáticas é obtida durante todo o processo produtivo, desde a identificação botânica, escolha do material vegetal, época e local de plantio, tratos culturais, determinação da época e cuidados na colheita, de modo a garantir o máximo de integridade das propriedades terapêuticas que essas espécies possuem (Marchese & Figueira, 2005).

Segundo Corrêa Júnior et al. (2006), os fatores técnicos também merecem destaque. A forma de plantio, os tratos culturais e os aspectos fitossanitários determinam o estado geral de desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, sua maior ou menor produtividade. Os recursos fitotécnicos utilizados durante o processo de produção de plantas medicinais podem ser caracterizados como fontes de estímulo para a produção de metabólitos secundários, que por certas vezes são capazes de causar estresse cujo efeito pode

ser favorável ou não no que se refere ao acúmulo das substâncias de interesse. Nesse contexto, o estresse pode estar relacionado ao excesso ou déficit de algum fator de produção para o vegetal. Assim, uma vez que o vegetal possui capacidade genética para produzir princípios ativos, a concentração pode ser alterada por fatores bióticos e abióticos do meio ambiente onde se encontra (Rodrigues, 2007).

Verifica-se que o estudo sistematizado de todas as etapas pertinentes ao cultivo de plantas medicinais e aromáticas é de inestimável importância, visto que um fator ou mais podem determinar a qualidade final do produto. Entretanto, Blank et al. (2006) citam que pesquisas com plantas medicinais ainda estão voltadas, preferencialmente, para o conhecimento de espécies que produzem fitofármacos desejados, ignorando-se os processos genéticos, ambientais e fitotécnicos que influenciam a produção desses compostos químicos.

2.2 Caracterização do gênero *Plectranthus* e da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter

O gênero *Plectranthus* abrange mais de 350 espécies e pertence à família Lamiaceae. Essa família tem sido intensivamente estudada devido à ampla diversidade de usos etnobotânicos (Lukhoba et al., 2006) e à grande ocorrência de plantas utilizadas para fins medicinais onde, em muitas delas, verifica-se a produção de óleos essenciais (Ascensão et al., 1999).

O nome do gênero é de origem grega: “plectron” significa espora e “anthos” significa flor. A nomenclatura reporta uma estrutura que lembra uma espora encontrada na base das pétalas das flores (Super Floral Retailing, 2007).

Diversas espécies de *Plectranthus*, por serem aromáticas e por apresentarem uma beleza considerável, são cultivadas como ornamentais (Ascensão et al., 1999). *P. amboinicus*, *P. barbatus*, *P. grandis* e *P. neochilus*

são comumente chamadas de boldo devido ao sabor amargo similar ao verdadeiro boldo ou boldo-do-chile (*Peumus boldus*) (Schipper, 1999).

A espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter (Figura 1) é uma planta herbácea, perene, ramificada, aromática, conhecida também como boldo pequeno, boldo cheiroso, boldo rasteiro ou boldo gambá. Possui folhas pequenas, quase triangulares, dispostas compactamente, pouco amargas e de odor forte e inflorescência racemosa de coloração violeta (Lorenzi & Matos, 2002; Couto, 2006; Vendruscolo & Mentz, 2006). A sua propagação é feita por estacas e pode ser plantada em qualquer época do ano (Couto, 2006). Suas folhas são utilizadas para o tratamento de insuficiência hepática, dispepsia e dores no estômago (Vendruscolo & Mentz, 2006; Duarte & Lopes, 2007).



FIGURA 1 Aspecto visual de uma planta florida de *Plectranthus neochilus* Schlechter. UFLA, Lavras, MG, 2008.

2.3 Óleos essenciais

Os vegetais têm grande flexibilidade quimiossintética para produzir micromoléculas, como as que compõem as misturas químicas complexas que são os óleos essenciais. Esses, por sua vez, podem conter 100 ou mais constituintes orgânicos individuais, pertencentes às mais diversas classes de compostos. Entretanto, os terpenos e os fenilpropenos derivados da rota metabólica do ácido mevalônico e do ácido chiquímico, respectivamente, são as classes mais comumente encontradas (Waterman, 1993). Plantas ricas em óleos voláteis são abundantes em angiospermas eudicotiledôneas grupo basal, tais como as famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Rutaceae, entre outras (Simões & Spitzer, 2003).

Os óleos essenciais são substâncias produzidas pelo metabolismo secundário em pequenas quantidades em relação às substâncias produzidas pelo metabolismo primário, sendo responsáveis por funções nem sempre bem definidas. Difundem-se com facilidade a partir da evaporação, constituindo verdadeiro elo entre a fonte produtora e o meio ambiente. Apesar de terem sido considerados por muito tempo mero desvio de funções vitais da planta, os óleos essenciais são fundamentais para a inter-relação dos organismos, promovendo, assim, o equilíbrio entre os reinos vegetal e animal (Craveiro, 1981). Também denominados óleos etéreos ou essências, são misturas complexas e apresentam as características de volatilidade e baixa massa molecular, normalmente sendo líquidos de aparência oleosa, odoríferos, solúveis em solventes orgânicos e com solubilidade limitada em água (Simões & Spitzer, 2003).

Monoterpenos (C_{10}) e sesquiterpenos (C_{15}) voláteis de forma cíclica e acíclica são os componentes predominantes nos óleos essenciais. As essências possuem, geralmente, odor característico e auxiliam nas interações entre plantas, plantas/insetos e outros organismos, estando esses componentes presentes em quantidades variadas em diversos órgãos vegetais. São comumente encontrados

nas folhas e flores, em cavidades especializadas denominadas canais secretores e tricomas glandulares (Harbone, 1987). Nas espécies de gênero *Plectranthus* foram relatados monoterpênóides, sesquiterpenóides, diterpenóides e compostos fenólicos (Lukhoba et al., 2006).

2.4 Idade da planta

O metabolismo secundário das plantas é altamente influenciado por diversos fatores, como microclima, nutrição mineral, genética, relações ecológicas, sazonalidade, estágio de desenvolvimento e outros, ressaltando-se que as mínimas alterações ocorridas em um deles podem ocasionar grandes mudanças na qualidade das plantas produzidas (OMS, 2002).

Os princípios ativos não se distribuem de maneira uniforme nos vegetais, concentrando-se em órgãos preferenciais, de acordo com a espécie. Também não apresentam uma concentração uniforme durante o ciclo vegetativo (Pinto & Bertolucci, 2002).

Fatores fisiológicos interferem intensamente na produção de óleo essencial. Variáveis como idade da planta e ciclo fenológico são determinantes na quantidade e qualidade dos compostos químicos vegetais, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e/ou reelaborados para expressar respostas fisiológicas que são características de cada uma dessas fases (Ming, 1996). De acordo com Sacramento (2001), a planta não se comporta da mesma maneira durante todo o ano, sofrendo alterações e, com isso, a concentração dos princípios ativos varia.

As espécies medicinais, no que se refere à produção de substâncias com atividade terapêutica, apresentam alta variabilidade. Segundo Martins et al. (1994), a *Digitalis purpurea* (dedaleira), aos quatro meses após o plantio, apresenta 0,0014% de digitoxina (glicosídeo cardioativo), enquanto que, aos oito meses, este teor pode chegar até a 0.08% (cerca de 57 vezes maior do que o

anterior). Para Ming (1996), a idade das folhas pode determinar diferentes teores de óleos essenciais. Singh et al. (1989) verificaram que folhas jovens de *Cymbopogon flexuosus* são geneticamente mais ativas que folhas maduras, com relação à produção de óleos voláteis.

Silva et al. (2003) estudaram a relação entre o estágio de desenvolvimento e o teor de óleo essencial em plantas de *Ocimum basilicum* L. Foram realizadas duas colheitas, aos cinco e dez meses após o plantio. Com base nos resultados, os autores verificaram que o material vegetal utilizado para fazer a extração de óleo da segunda colheita teve produtividade 170% superior à primeira.

2.5 Adubação orgânica

Um elemento fundamental a ser considerado no cultivo de plantas medicinais é a necessidade de se associar à produção de biomassa a qualidade da planta, enquanto matéria-prima, para a fabricação de medicamentos fitoterápicos. Nesse sentido, é preciso almejar uma produtividade ótima, não só de biomassa, mas também dos princípios ativos que tornam a planta uma espécie medicinal (Reis et al., 2003).

Considerando a tendência mundial de busca por produtos naturais e sendo as plantas medicinais destinadas a pessoas com algum tipo de debilidade, é fundamental que estejam livres de agroquímicos. Portanto, recomenda-se que o sistema de agricultura a ser praticado na produção de plantas medicinais deva ser o agroecológico (Corrêa Júnior et al., 2006).

Com relação aos tratos culturais, irrigação e adubação são os principais fatores que interferem no rendimento das substâncias bioativas e, por consequência, a qualidade das plantas medicinais e aromáticas (Marchese & Figueira, 2005). A agricultura praticada de forma orgânica deve ser sempre considerada para a produção de plantas medicinais (Reis et al., 2003).

Os sistemas agropecuários dão origem a vários tipos de resíduos orgânicos, os quais, corretamente manejados e utilizados, revertem em fornecedores de nutrientes para a produção de culturas agrícolas e melhoradores das condições físicas, químicas e biológicas do solo (Konzen & Alvarenga, 2002). A adubação orgânica, além de fornecer nutrientes para as plantas, proporciona melhoria da estrutura física do solo, aumenta a retenção de água, diminui as perdas por erosão, favorece o controle biológico devido à maior população microbiana e melhora a capacidade tampão do solo. Aumenta também a capacidade de troca catiônica, eleva o pH e, com isso, reduz o teor de alumínio trocável, aumentando a disponibilidade de nutrientes (CFSEMG, 1999).

Carvalho et al. (2005) avaliaram em seus estudos o teor e rendimento de óleo essencial em plantas de capim-santo (*Cymbopogon citratus*) quando submetidas à adubação orgânica e convencional. Após a análise dos dados, constatou-se que não houve influência significativa dos tratamentos sobre o teor de óleo essencial. Porém, a variável rendimento foi influenciada e as maiores médias foram alcançadas em plantas cultivadas com adubo orgânico devido à maior produção de biomassa nessas condições.

O rendimento de óleo essencial é função de sua concentração no tecido e da produção de material vegetal (Oliveira Júnior et al., 2005). Sangwan et al. (2001) afirmam que a aplicação de fertilizantes em plantas aromáticas normalmente afeta a produtividade de óleos essenciais devido ao maior acúmulo de biomassa.

2.6 Características fisiológicas e anatômicas dos vegetais sob efeito da luz

A luz é fundamental para a regulação de alguns processos do desenvolvimento vegetal e as plantas possuem capacidade de se adaptar a diferentes condições luminosas. Por meio de seus fotorreceptores podem captar

as variações na quantidade e qualidade de luz, adaptando seu desenvolvimento às condições a que são expostas (Oren-Shamir et al, 2001).

Para a energia luminosa ser utilizada pelos sistemas vivos é necessário que ela seja primeiro absorvida. A substância que absorve a luz é denominada pigmento. Alguns pigmentos absorvem todos os comprimentos de onda da luz. A maioria dos pigmentos, entretanto, absorve somente um determinado comprimento de onda e transmite ou reflete os comprimentos de onda que não são absorvidos. O padrão de absorção da luz por um pigmento é conhecido como espectro de absorção de cada substância (Raven et al., 2001).

As plantas desenvolveram uma série de fotorreceptores que regulam seu crescimento e desenvolvimento em relação à presença, quantidade, qualidade, direção e duração da radiação luminosa incidente para aperfeiçoar a captação de energia proveniente da luz para a fotossíntese (Morini & Muleo, 2003). Esses fotorreceptores são múltiplos e possuem diversos alcances espectrais, que são capazes de absorver comprimentos de onda na região do ultravioleta, azul, vermelho e vermelho-distante (Larcher, 2004).

A radiação é percebida pelo fitocromo, o qual ativa certos genes que conduzem o desenvolvimento e a diferenciação. O fitocromo é um pigmento proteico que absorve luz mais fortemente nas regiões do vermelho (650-680nm) e vermelho-distante (710-740nm), mas também absorve luz azul (Larcher, 2004). Esse pigmento detecta a relação entre a luz vermelha e vermelho-distante, que codifica em sinal celular a excitação causada pela luz, alterando o metabolismo celular e influenciando no desenvolvimento das plantas (Ballaré et al., 1997).

Nesse contexto, para a luz vermelha são atribuídas respostas quanto ao desenvolvimento do aparato fotossintético das plantas, por incrementar o acúmulo de amido em várias espécies, em virtude da inibição do translocamento de fotoassimilados para fora da folha (Saebo et al., 1995). Além disso, pode a

mesma também ser promotora de estímulos para a elongação do caule, para o florescimento, mudanças na condutância estomática, bem como na anatomia das plantas (Boardman, 1977). A fisiologia das plantas é bastante variável em resposta à luz azul e inclui fototropismo, movimentos estomáticos, inibição do alongamento celular, ativação de genes, biossíntese de pigmentos, acompanhamento do sol pelas folhas e movimento dos cloroplastos dentro das células (Taiz & Zeiger, 2004).

Plantas têm plasticidade morfológica em resposta às condições ambientais em que sobrevivem (Lee et al., 2000). Não só a intensidade luminosa que chega às plantas pode promover alterações na anatomia foliar, mas também se deve levar em consideração a qualidade da luz, pois, de acordo com Schuerger et al. (1997) e Lee et al. (2000), a variação espectral pode modificar a biossíntese de compostos químicos e as estruturas anatômicas das folhas, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade da luz.

As alterações nas estruturas anatômicas das plantas em função da luz podem ser verificadas quando se avalia o arranjo do limbo foliar, a frequência estomática, o tamanho e a localização dos estômatos, a densidade e os tipos de tricomas, a espessura foliar, entre outros.

Assim, o entendimento dos fenômenos fotomorfogenéticos é fundamental para a determinação do ambiente capaz de promover uma adaptação ideal das culturas, a fim de que se possa obter uma produtividade máxima aliada a uma alta qualidade final do produto. E quando o cultivo visa à produção de plantas medicinais e aromáticas, o estudo da influência da luz torna-se indispensável, visto que a radiação é capaz de promover alterações no metabolismo primário e secundário dessas espécies, além de modificações na morfologia vegetal.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASCENSÃO, L.; MOTA, L.; CASTRO, M. de M. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. **Annals of Botany**, London, v. 84, p. 437-447, 1999.

BALLARÉ, C. L.; SCOPEL, A. L.; SANCHEZ, R. A. Foraging for light: photosensory ecology and agricultural implications. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 820-825, June 1997.

BLANK, A. F.; OLIVEIRA, A. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; FAQUIN, V. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hortelã-pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, abr./jun. 2006.

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

CARVALHO, M. de C.; COSTA, C. P. de M.; SOUSA, J. dos S.; SILVA, R. H. D. da; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. da. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005. Disponível em: <<http://www.uepb.edu.br/eduep/rbct/>>. Acesso em: 5 jan. 2008.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**: 5ª aproximação. Viçosa, 1999. 359 p.

CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C.; MING, L. C. **Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília, DF: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2006. 76 p.

COUTO, M. E. O. **Coleção de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília, DF: Embrapa, 2006. 91 p. (Documentos CPACT/Embrapa, 157).

CRAVEIRO, A. A. **Óleos de plantas do Nordeste**. Fortaleza: UFC, 1981. 210 p.

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 549-556, out./dez. 2007.

HARBONE, J. D. Chemical signals in the ecosystem. **Annals of Botany**, London, v. 60, n. 4, p. 39-57, 1987. Supplement.

KONZEN, E. A.; ALVARENGA, R. C. **Cultivo do milho**: adubação orgânica. Sete Lagoas: Embrapa, 2002. (Comunicado Técnico).

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

LEE, D. W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMED, 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, Apr. 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 544 p.

LUKHOBBA, C. W.; SIMMONDS, M. S. J.; PATON, A. J. *Plectranthus*: a review of ethnobotanical uses. **Journal of ethnopharmacol**, Lausanne, v. 103, p. 1-24, 2006.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1994. 220 p.

MING, L. C. **Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função de fases de desenvolvimento, calagem e adubações mineral e orgânica em *Ageratum conyzoides* L.** 1996. 152 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2003. p. 3-35.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C.; FAQUIN, V.; PINTO, J. E. B. P. P.; LIMA SOBRINHO, R. R.; BERTOLUCCI, S. K. V. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 735-739, 2005.

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

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Traditional medicine strategy 2002-2005**. Genebra, 2002. 6 p.

PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 169 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p. 45-74.

RODRIGUES, E. T.; SUMIOKA, A. T. Produção de cará em função de fontes orgânicas de adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 822-828, jul./ago. 2003.

RODRIGUES, V. E. G. **Etnobotânica e florística de plantas medicinais nativas de remanescentes de floresta estacional semidecidual na região do Alto do Rio Grande, MG**. 2007. 149 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SACRAMENTO, L. V. Reportagem ao natural. **Revista ISTOÉ**, São Paulo, n. 1653, p. 102, 2001.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy birch plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 34, n. 1, p. 3-21, May 2001.

SCHIPPER, L. P. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. São Paulo: Reader's Digest Brasil, 1999. 416 p.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown 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. da; SANTOS, R. H. S.; DINIZ, E. R.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R. de. Teor e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 33-38, 2003.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p. 467-496.

SINGH, N.; LUTHRA, R.; SANGWA, R. S. Effect of leaf position and age on the essential oil quality and quantity in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). **Planta medica**, Stuttgart, v. 35, n. 3, p. 254-256, 1989.

SUPER FLORAL RETAILING. **Foliage planto of the month**. 2007. Disponível em: <<http://www.superfloralretailing.com>>. Acesso em: 7 jan. 2008.

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

VALIO, I. F. M. Effects of shading and removal of plants parts on growth of *Trema micrantha* seedlings. **Tree Physiology**, Victoria, v. 21, n. 1, p. 65-70, Jan. 2001.

VENDRUSCULO, G. S.; MENTEZ, L. A. Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 20, n. 2, p. 367-382, 2006.

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

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. (Ed.). **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Harlow: Longman Scientific, Technical, 1993. p. 47-61.

CAPÍTULO II

TEOR E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE BOLDO PEQUENO EM FUNÇÃO DA IDADE DA PLANTA E CONDIÇÕES DE CULTIVO

1 RESUMO

ROSAL, Louise Ferreira. Teor e composição do óleo essencial de boldo pequeno em função da idade da planta e condições de cultivo. In: _____. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas.** 2008. Cap.2, p. 17-34. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

No presente trabalho com a espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter buscou-se avaliar a influência da idade da planta no teor de óleo essencial e também da diversificação do ambiente de cultivo na qualidade do óleo produzido. Para tanto, foram instalados dois experimentos. O primeiro consistiu da extração do óleo essencial de plantas com diferentes estádios de desenvolvimento (60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias após o transplantio das mudas) cultivadas no campo e posterior verificação do teor de óleo obtido em função da idade da planta. O segundo avaliou a composição química do óleo volátil de indivíduos de boldo pequeno em função de dois locais de cultivo (campo e ambiente protegido) após 120 dias do transplantio das mudas. O teor de óleo essencial de boldo pequeno é influenciado pelo estágio de desenvolvimento da planta, aumentando linearmente em função das idades avaliadas, sendo que a porcentagem de óleo aos 360 dias após o transplantio (DAT) foi 189% maior que na primeira colheita (60 DAT). A composição química do óleo volátil de boldo é modificada pelo ambiente de cultivo em que as plantas se encontram.

* Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (Orientador).

2 ABSTRACT

ROSAL, Louise Ferreira. Essential oil content and composition of small “boldo” in function of the plant age and culture condition. In: _____. **Biomass production, essential oil and physiological and anatomical foliar characteristics of *Plectranthus neochilus* Schlechter in function of organic manure, color shading nets and plants age.** 2008. Chap.2, p. 17-34. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

In this work with *Plectranthus neochilus* Schlechter specie it was evaluate the plant age influence on the essential oil content as well as the environment diversification culture in the quality of the yield oil. For this, two experiments were set. The first one did the essential oil extraction from the plants in different development stages (60, 120, 180, 240, 300 and 360 days after been transplanted) cultured in the field and further verification of the plant age. The second one evaluated the chemical composition of the volatile oil from small ‘boldo’ in function of the cultured places (field and protected environment) after 120 days transplanted scions. Small “boldo” essential oil content is influenced by its plant development stage, increasing linearly in function of the evaluated ages, the oil percentage at 360 days after been transplanted (DAT) was 189% higher than that at the first harvest at (60 DAT). The volatile oil chemical composition is modified by the culture environment where the plants are.

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

3 INTRODUÇÃO

Espécies medicinais e aromáticas têm um caráter distinto das demais que compõem a grande diversidade da flora brasileira, pois produzem substâncias com grandes possibilidades de possuírem atividades fitoterápicas, o que as tornam plantas diferenciadas. Dentre as espécies citadas como medicinais tem-se a *Plectranthus neochilus* Schlechter, conhecida também como boldo pequeno, boldo rasteiro ou boldo gambá (Lorenzi & Matos, 2002). É uma planta aromática, usada popularmente para alívio de sintomas de azia e como estimulante da digestão. Pode ser plantada em qualquer época do ano (Couto, 2006).

Depois de exaustivas pesquisas em busca de trabalhos feitos com esta espécie de boldo, verificou-se que não há estudos realizados até o presente momento. Como se trata de uma espécie medicinal, a determinação do momento correto da coleta do material é um dos pontos mais importantes que deve-se ter no planejamento do cultivo. Em geral, as espécies produtoras de metabólitos secundários apresentam épocas específicas em que contém maior quantidade de princípio ativo no seu tecido, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia como em épocas do ano. Geralmente, essa variação ocorre em função do estágio de desenvolvimento em que se encontra a planta (Reis et al., 2003). Segundo Ming (1996), fatores fisiológicos interferem intensamente na produção de óleos essenciais, sendo assim, a idade da planta é uma variável determinante na quantidade e qualidade dos compostos químicos vegetais, uma vez que enzimas, hormônios e outros compostos são produzidos, degradados e/ou reelaborados para expressar respostas fisiológicas que são características de cada uma das fases em que a planta se encontra.

Outro fator que afeta sobremaneira o metabolismo das plantas é o ambiente no qual estão dispostas. Toda fisiologia vegetal é modificada quando genótipos idênticos são cultivados em condições ambientais diferentes, o que os

geneticistas denominam de norma de reação de genótipo (Griffiths et al., 1996). Nesse contexto, é possível que a modificação do metabolismo interfira inclusive na composição dos constituintes químicos dos óleos, o que pode ser considerado uma resposta da planta aos diferentes estímulos recebidos dos ambientes distintos.

De acordo com o que foi exposto, no presente trabalho com a espécie *Plectranthus neochilus*, buscou-se avaliar a influência da idade da planta no teor de óleo essencial e também da diversificação do ambiente de cultivo na qualidade do óleo essencial produzido.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Federal de Lavras. O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março.

A planta-matriz da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter utilizada para iniciar os experimentos foi devidamente identificada e incorporada sob o número 22858 ao Herbário ESAL, que está vinculado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Preparo das mudas para a instalação dos experimentos

O material vegetal utilizado para a produção das mudas foi obtido no Horto de Plantas Medicinais, UFLA. As mudas de boldo foram produzidas a partir de estacas apicais com aproximadamente 5cm de comprimento e colocadas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo o substrato comercial Plantmax®.

As mudas foram cultivadas em ambiente protegido com 60% de sombreamento durante trinta dias, período suficiente para que todas estivessem bem estabelecidas e enraizadas.

4.2 Idade das plantas

Para avaliar o teor de óleo essencial durante o tempo de cultivo das plantas de boldo pequeno, em março de 2006 as mudas foram transplantadas e cultivadas por um ano após o plantio.

Antes de ser efetuado o transplântio foi realizada na área experimental uma adubação com esterco bovino curtido (10kg.m^{-2}), distribuído uniformemente por todo o canteiro (1,20m de largura por 10m de comprimento).

O espaçamento utilizado no plantio foi de 30cm entre plantas e 30 cm entre linhas. Para o preenchimento da área experimental, foram utilizadas 132 plantas, sendo consideradas úteis as das linhas ao centro do canteiro, totalizando 60 indivíduos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por seis épocas de coleta de folhas (60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias após o transplântio das mudas), cada uma com quatro repetições. As folhas utilizadas para a realização da extração do óleo foram retiradas de plantas inteiras colhidas aleatoriamente sempre no mesmo horário, às oito horas da manhã. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana. A variável resposta foi o teor de óleo essencial em cada período.

Para a extração do óleo utilizou-se o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger, por Wasicky & Akisue (1969). O material vegetal fresco fracionado (200g por repetição) foi colocado em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 700 mL de água destilada.

Após o início de fervura, realizou-se a destilação por duas horas. O hidrolato obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 15mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com sulfato de magnésio anidro em excesso. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar massa constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas de *Plectranthus neochilus* Schlechter pela seguinte fórmula:
 $T\% = \text{massa do óleo (g)} / 200\text{g} \times 100.$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F e, posteriormente, à análise de regressão.

4.3 Ambientes de cultivo

Para a avaliação da composição do óleo essencial do boldo pequeno em ambientes distintos, foram comparadas plantas cultivadas em ambiente protegido e no campo concomitantemente. Nas duas condições de cultivo, aplicou-se 10 kg.m⁻² de esterco bovino curtido. No cultivo protegido as plantas foram dispostas em vasos de 10 litros, distribuídos em bancadas, totalizando 20 unidades. Para o campo, foram utilizadas as plantas cultivadas nas mesmas condições do experimento anterior. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

A coleta do material vegetal para a extração do óleo essencial foi feita após 120 dias de cultivo (março a julho de 2006) e constou de quatro repetições de 200g de folhas frescas colhidas aleatoriamente sempre no mesmo horário, às oito horas da manhã. O período de condução do experimento baseou-se no fato de que plantas cultivadas em vaso podem ter seu crescimento limitado devido à

menor área disponível para expansão do sistema radicular, reduzindo-se assim o tempo de permanência nessas condições.

O procedimento de extração do óleo essencial seguiu a mesma metodologia descrita no experimento anterior.

As amostras obtidas nos tratamentos foram encaminhadas para o Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal de Sergipe, onde foram realizadas análises químicas, visando identificar os compostos presentes, por meio de cromatógrafo a gás 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 (30m comprimento x 0,25mm diâmetro interno x 0,25 μ m de espessura do filme, composto de fenilmetilpolisiloxano 5%) conectada a um detector quadrupolo operando em energia de impacto a 70eV 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 μ L (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 do National Institute of Standards And Technology - NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os da literatura (Adams, 2001). 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 Dool & Kratz (1963).

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

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Idade das plantas

As idades das plantas de boldo rasteiro influenciaram o teor de óleo essencial extraído das folhas (Figura 1). Houve correlação positiva entre idade da planta e teor de óleo essencial. Assim, quanto mais madura a planta de boldo, maior a concentração desse óleo. De acordo com Ming (1996), a idade das folhas também determina diferentes teores de óleos essenciais, que podem ser maiores ou menores dependendo da espécie.

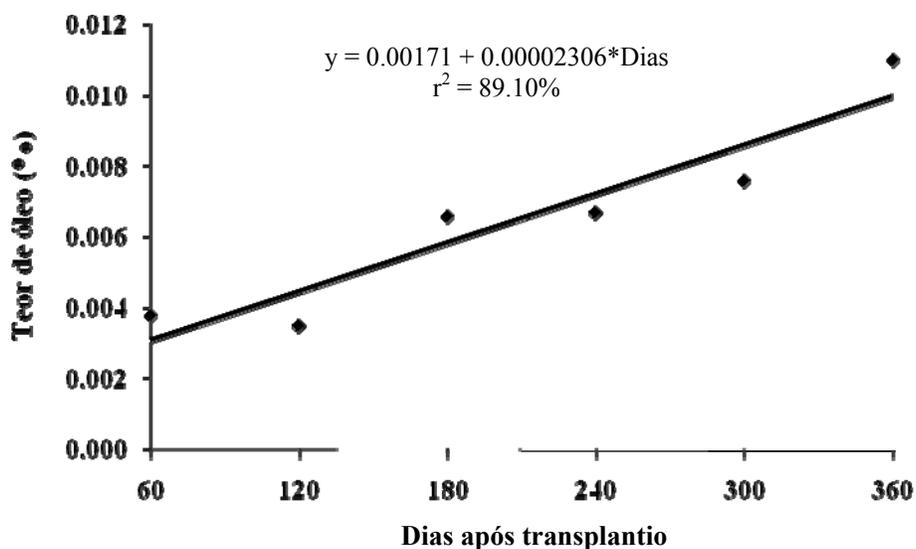


FIGURA 1 Teor de óleo essencial (%) em folhas de *Plectranthus neochilus* Schlechter aos 60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias após o transplante das mudas para o campo. UFLA, Lavras, MG, 2008.

A quantidade de óleo essencial obtida na última extração, aos 360 dias após o transplântio, foi 189% maior que os valores verificados na primeira colheita (60 dias). Segundo Katzung (2003), a produção e o acúmulo de princípios ativos nas diferentes espécies vegetais e nos diferentes órgãos desses vegetais estão sob o controle genético que pode ser influenciado por fatores intrínsecos à planta, como o estágio de desenvolvimento.

De posse dos resultados observados é possível inferir que não houve interferência de fatores extrínsecos à planta como as condições climáticas durante o período de condução do experimento, fato corroborado pela linha de tendência que apresentou resposta linear crescente em relação às médias obtidas. Provavelmente o maior teor de óleo deveu-se a um maior acúmulo dessa substância nos tricomas glandulares de *P. neochilus* com o aumento da idade da planta.

As respostas apresentadas pelas plantas medicinais e aromáticas são extremamente variáveis quando se avalia teor de óleo essencial em função da idade da planta, não havendo uma conformidade nessa associação. Sousa (2007) quantificou os constituintes presentes no óleo essencial extraído de folhas de *Baccharis dracunculifolia*, uma espécie que possui ampla diversidade de metabólitos secundários, cultivada durante 12 meses no campo. Com base no perfil de variabilidade dos voláteis, o período compreendido entre os três primeiros meses após o plantio foi o menos produtivo, com média de 0,3% de óleo. Por outro lado, o período final do experimento (entre 10 e 12 meses após o plantio) foi o de maior produtividade, com teores de óleo que chegavam, em média, a 1%. Esses resultados estão em consonância com o observado na espécie *P. neochilus*.

Em contrapartida, quando plantas de capim-cidreira [(*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.)] foram cultivadas com o intuito de se avaliar a influência da idade sobre a produção de óleo essencial, os autores do estudo verificaram

que houve um decréscimo gradual dos teores de óleo na medida em que a idade das plantas aumentava (Leal et al., 2003). Amaral (2005) também obteve os mesmos resultados para porcentagem de óleo essencial nos capítulos florais de camomila (*Chamomilla recutita*), e cita que quando foi efetuada a comparação entre a primeira e última colheita (75 e 113 dias após a emergência das plântulas, respectivamente), houve uma redução de aproximadamente 75% nos teores de óleo essencial.

Da mesma forma que a idade da planta pode influenciar positiva ou negativamente a produção de óleos essenciais em plantas aromáticas e medicinais, existem espécies em que essa variável não interfere no teor desses compostos. A espécie *Ageratum conyzoides* L. não apresentou diferenças estatísticas quanto ao teor de óleo essencial em folhas e flores durante o seu desenvolvimento (Ming, 1996).

As respostas observadas neste trabalho com *P. neochilus* apontam a importância de estudos relacionados ao monitoramento dos princípios ativos, tendo em vista que a análise dos fatores envolvidos na variação dessas substâncias são fundamentais nas recomendações de manejo do ambiente que possibilite o incremento na produção e a conservação desses compostos químicos (Castellani, 1997).

5.2 Ambientes de cultivo

A análise das amostras de óleo extraídas das folhas frescas de boldo pequeno nas duas condições de cultivo revelou 12 picos identificados para o cultivo protegido e 10 para o campo, com diferenças quantitativas e qualitativas, em termos de constituintes químicos nos dois ambientes avaliados (Tabela 1).

TABELA 1 Composição química e porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas em ambiente protegido e no campo. UFLA, Lavras, MG, 2008.

IK	Composto	Cultivo protegido	Campo
		(%)	
1177	Mentol	2,76	1,33
1419	β -Cariofileno	-	7,64
1480	Germacreno D	-	6,61
1495	Epi-Cubebol	1,44	-
1512	γ -Cadineno	1,36	4,29
1515	Cubebol	4,03	-
1518	δ -Cadineno	-	12,05
1561	E-Nerolidol	2,40	8,49
1577	Espatulenol	0,93	-
1582	Óxido de Cariofileno	33,53	18,90
1610	Epóxido de Humuleno II	1,29	-
1628	1-Epi-Cubenol	5,74	2,44
1643	Cubenol	13,67	16,06
1647	α -Muurolol	4,73	-
1655	α -Cadinol	20,39	22,20
-	Não identificados	7,73	0
-	Identificados	92,27	100

Os fatores ambientais têm grande influência sobre o desenvolvimento das plantas medicinais, aromáticas e condimentares e na sua produção de princípios ativos. A composição desses produtos pode ser grandemente alterada por esses fatores, visto que a ação deles é simultânea e inter-relacionada (Corrêa Júnior et al., 2006). Segundo Simões & Spitzer (2003), o ambiente no qual o vegetal se desenvolve e o tipo de cultivo influenciam sobremaneira a composição química dos óleos voláteis.

Os sesquiterpenos foram predominantes na composição dos óleos voláteis de boldo pequeno nas duas condições. No resultado para as plantas cultivadas em ambiente protegido, eles totalizaram 89,51% e no campo 98,67%.

Dos constituintes identificados, o único que pertence à classe dos monoterpenos é o mentol, que se apresentou em baixas concentrações nos dois ambientes testados, porém com maior porcentagem relativa nas plantas mantidas sob cultivo protegido. Em comparação com o campo, o valor observado dobrou entre os tratamentos.

No que se refere aos constituintes majoritários, foram encontradas diferenças entre os ambientes de cultivo tanto em relação à presença quanto à porcentagem relativa desses compostos nas amostras analisadas. No material proveniente de plantas mantidas em ambiente protegido os maiores percentuais foram 33,53%, 20,39% e 13,67% para óxido de cariofileno, α -cadinol e cubenol, respectivamente. Enquanto que para plantas oriundas do campo, obteve-se 22,20% de α -cadinol, 18,90% de óxido de cariofileno, 16,06% de cubenol e 12,05% de δ -cadineno (Tabela 1). Os demais compostos apresentaram-se em menores concentrações. Na Figura 2, vêem-se as estruturas químicas dos compostos que apresentaram os maiores picos detectados pela análise cromatográfica.

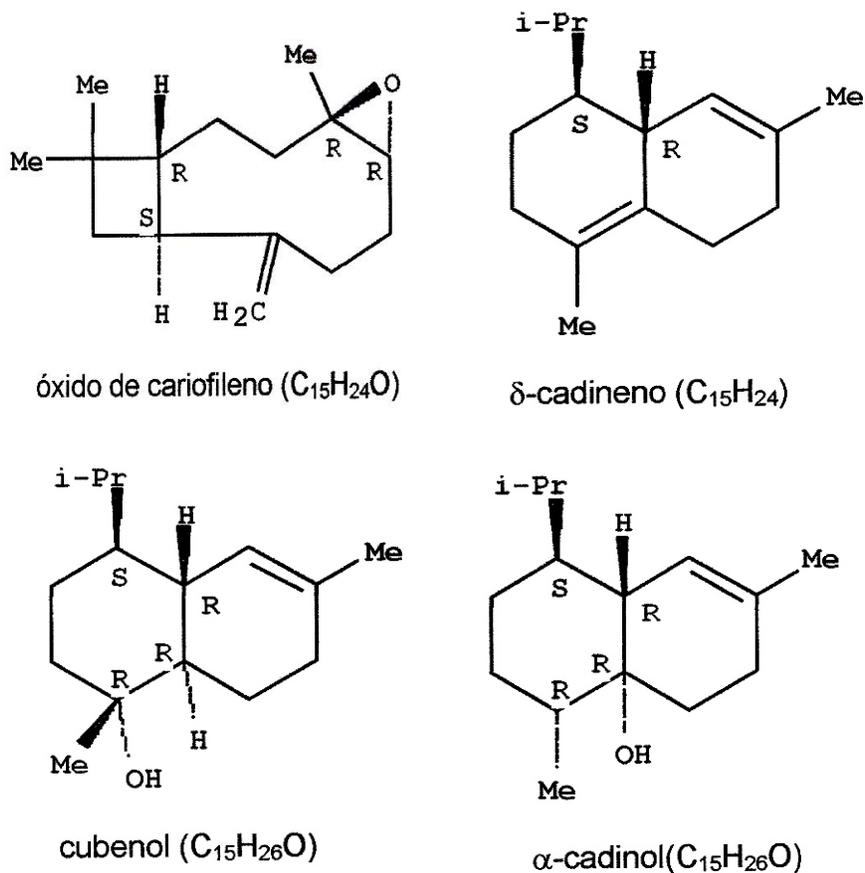


FIGURA 2 Estrutura química do óxido de cariofileno, cubenol, α-cadinol e δ-cadineno. UFLA, Lavras, MG, 2008.

As diferenças encontradas tanto na proporção dos constituintes majoritários, quanto nos compostos que foram identificados de modo geral, sugerem uma relação direta com o fator ambiental oferecido em cada condição. Deve-se levar em consideração que plantas dispostas em ambiente protegido estão sujeitas a diferentes regimes de temperatura, irradiância, umidade do ar, ventos, além de uma menor área disponível para o desenvolvimento e exploração radicular, entre outros fatores, do que as cultivadas no campo.

De acordo com Castro (2001) e Santos & Innecco (2004), a falta de uniformidade encontrada quando se compara os compostos químicos produzidos em plantas de mesmo genótipo submetidas a diferentes condições, reflete o dinamismo das interconversões que ocorrem continuamente entre os constituintes dos óleos essenciais. Estas interconversões envolvem reações de oxidação, redução, hidratação, desidratação, ciclização e isomerização, influenciadas por fatores ambientais.

De posse dos resultados deste experimento não é possível afirmar qual condição é a ideal. No entanto, pode-se inferir que o ambiente influenciou a constituição química do óleo essencial de *Plectranthus neochilus*.

6 CONCLUSÕES

O teor de óleo essencial de boldo pequeno aumenta linearmente com a idade da planta, sendo maior aos 360 dias após o transplântio das mudas para o campo.

A composição química do óleo volátil de boldo pequeno é modificada pelo ambiente de cultivo em que as plantas se encontram.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Carol Stream IL: Allured, 2001. 456 p.
- AMARAL, W. **Desenvolvimento de camomila e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- CASTELLANI, D. C. **Crescimento, anatomia e produção de ácido erúxico em *Tropaeolum majus* L.** 1997. 108 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- CASTRO, D. M. **Efeito da variação sazonal, colheita selecionada e temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de folhas de *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britt. e Wilson (Verbenaceae)**. 2001. 132 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C.; MING, L. C. **Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília, DF: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2006. 76 p.
- COUTO, M. E. O. **Coleção de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília, DF: Embrapa, 2006. 91 p. (Documentos CPACT/Embrapa, 157).
- DOOL, H. van den; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-71, 1963.
- GRIFFITHS, A. J. F. et al. **An introduction to genetic analysis**. New York: New York and Basingstoke, 1996.
- KATZUNG, B. G. **Farmacologia: básica & clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap. 1, p. 1-7.

LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F.; CARVALHO, A. J. C. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (Dc.) Stapf.] em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 61-64, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 544 p.

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

MING, L. C. **Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função de fases de desenvolvimento, calagem e adubações mineral e orgânica em *Ageratum conyzoides* L.** 1996. 152 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p. 45-74.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, abr./jun. 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p. 467-496.

SOUZA, J. P. B. de. **Influência da sazonalidade no perfil fitoquímico dos óleos essenciais e das substâncias fixas de *Baccharis dracunculifolia* cultivada, utilizando cromatografia em fases gasosa e líquida.** 2007. 164 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

WASICKY, R.; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339-405, 1969.

CAPÍTULO III

USO DE FONTES DE ADUBOS ORGÂNICOS NA PRODUÇÃO VEGETAL E ÓLEO ESSENCIAL DE BOLDO PEQUENO

1 RESUMO

ROSAL, Louise Ferreira. Uso de fontes de adubos orgânicos na produção vegetal e óleo essencial de boldo pequeno. In: _____. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas**. 2008. Cap.3, p. 35-58. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

A aplicação de fertilizantes orgânicos em plantas medicinais e aromáticas normalmente modifica positivamente a produção vegetal e de óleo essencial. Neste contexto, tendo por fim avaliar o comportamento de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas frente ao uso de fontes de adubos orgânicos, o presente trabalho estudou a produção de biomassa e teor, rendimento e qualidade do óleo essencial. As mudas, após a aclimatização, foram transplantadas para vasos de 10 litros e estes acondicionados em ambiente protegido. O experimento foi constituído por quatro tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta por cinco vasos (uma planta.vaso⁻¹). Os tratamentos foram: ausência de adubo orgânico (testemunha); aplicação de 6kg.m⁻² de esterco bovino; 3kg.m⁻² de esterco avícola; 6kg.m⁻² de composto orgânico. Aos 120 dias de cultivo as plantas foram colhidas. Uma parte das folhas frescas foi destinada à extração do óleo essencial e o restante do material vegetal foi seco em estufa até atingir peso constante para a verificação da biomassa seca. Realizou-se o cálculo de teor e rendimento a partir das massas de óleo obtidas após a extração. A composição do óleo foi determinada por meio de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-MS). As fontes de adubo orgânico testadas promoveram diferenças entre os tratamentos em relação à produção de biomassa, distribuição dos fotoassimilados, rendimento e composição do óleo essencial de *Plectranthus neochilus*. A utilização de diferentes fertilizantes orgânicos não modificou o teor de óleo volátil.

* Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (Orientador).

2 ABSTRACT

ROSAL, Louise Ferreira. Organic manures sources in vegetal production and essential oil of small “boldo”. In: _____. **Biomass production, essential oil and physiological and anatomical foliar characteristics of *Plectranthus neochilus* Schlechter in function of organic manure, color shading nets and plants age.** 2008. Chap.3, p. 35-58. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

Organic fertilizers applications in medicinal aromatic plants normally modify positively its vegetal production and essential oil. So, evaluating *Plectranthus neochilus* Schlechter plants cultured with organic manure sources, the present work studied biomass production and essential oil content, yield and composition. The scions, after had their acclimatization were transplanted to 10L pots and those placed into protected environment. The experiment was done in 4 treatments, 4 replications and each parcel had five pots (one plant per pot⁻¹). The treatments were: no organic manure (control); cattle manure 6kg.m⁻²; chicken manure 3kg.m⁻²; organic manure 6kg.m⁻². Plants were harvest 120 days of culturing, part of the fresh leaves was used in the essential oil extraction and the rest of the material dried in the oven until a constant weight to be verified its dry biomass. The content and yield of essential oil were done from the oil mass got after the extraction. The oil composition was done by gas chromatography linked to mass spectrometry (CG-MS). The organic sources tested promoted differences between treatments related to biomass production, biomass distribution, *Plectranthus neochilus* essential oil yield and composition. The different organic manures utilization did not change the volatile oil content.

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

3 INTRODUÇÃO

A espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter é uma planta herbácea, conhecida também como boldo pequeno, boldo rasteiro ou boldo gambá. Possui folhas pequenas, quase triangulares, dispostas compactamente, um pouco amarga e de odor forte, principalmente quando está com flores (Lorenzi & Matos, 2002), empregada popularmente para o tratamento de insuficiência hepática e dispepsia (Duarte & Lopes, 2007). É uma espécie pouquíssimo estudada e no que se refere a informações sobre produtividade vegetal e teor, rendimento e perfil fitoquímico do óleo essencial, não há relatos na literatura.

Pesquisas na área fitoquímica em plantas medicinais e aromáticas têm sido o foco de diversos estudos (Javidnia et al., 2007; Tajbakhsh et al., 2007; Habibi et al., 2008). Frequentemente, encontra-se na literatura a descrição dos componentes constituintes dessas espécies. No entanto faz-se necessário, paralelamente a esses estudos, considerar a aplicabilidade do uso de técnicas agrônomicas que visem avaliar como as plantas respondem a essas práticas.

Recomenda-se para o cultivo de plantas medicinais e aromáticas o uso de adubos orgânicos e, neste contexto, estudos dos efeitos da adubação orgânica nessas espécies vêm sendo desenvolvidos com o intuito de propor uma condição pertinente para a produção de biomassa e óleos essenciais com qualidade.

Deve-se salientar que pesquisas que envolvem adubação em espécies produtoras de óleos essenciais não objetivam apenas a produção maior de biomassa. Conjuntamente, busca-se saber até que ponto esses insumos alteram o teor, o rendimento e a composição do óleo. Segundo Pinto & Bertolucci (2002), uma maior produção vegetal não implica, necessariamente, em maior produtividade de princípio ativo. Portanto, deve-se dar atenção a todos os fatores do meio que influenciam na produção destes compostos, além do acúmulo de biomassa.

O interesse pela utilização de adubos orgânicos em plantas vem aumentando devido à possibilidade desses insumos fornecerem nutrientes, ativarem interações benéficas com microorganismos, atuarem em propriedades físicas do solo, diminuindo a densidade aparente, melhorando a estrutura dos agregados, aumentando a capacidade de infiltração de água e aeração e melhorando a possibilidade de penetração radicular. A fitotoxidez do Al e Mn se reduz devido à complexação com a fração húmica e ao aumento do pH. Agindo conjuntamente, esses e inúmeros outros efeitos podem aumentar a produtividade de plantas e diminuir custos com a adubação (Rodrigues & Sumioka, 2003). De acordo com Sangwan et al. (2001), a aplicação de fertilizantes em plantas aromáticas normalmente modifica a produção de óleos essenciais e, portanto, há necessidade de se avaliarem as exigências de cada espécie, bem como o manejo adequado da adubação.

Tendo por fim avaliar o comportamento de plantas de *Plectranthus neochilus* cultivadas frente ao uso de fontes de adubos orgânicos, no presente trabalho estudou-se a produção de biomassa e teor, rendimento e qualidade do óleo essencial.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em ambiente protegido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Mediciniais, Aromáticas e Condimentares do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW.

A planta-matriz da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter utilizada para iniciar os experimentos foi devidamente identificada e incorporada sob o número 22858 ao Herbário ESAL, o qual está vinculado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Preparo das mudas para a instalação dos experimentos

O material vegetal utilizado para a produção das mudas foi obtido no Horto de Plantas Medicinais, UFLA. As mudas de boldo foram produzidas a partir de estacas apicais com aproximadamente 5cm de comprimento e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®].

As mudas foram cultivadas em ambiente protegido com 60% de sombreamento durante trinta dias, período suficiente para que todas estivessem bem estabelecidas e enraizadas.

4.2 Instalação do experimento

Em março de 2006, as mudas, após a aclimatização, foram levadas para o local de cultivo protegido e transplantadas para vasos de 10 litros. O solo e as fontes de adubo orgânico utilizadas no presente estudo foram devidamente analisados pelo Laboratório de Análise de Solos, Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (Tabela 1 e 2).

TABELA 1 Composição química do solo utilizado no experimento com plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Material	pH	P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	(t)	(T)
	H ₂ O		mg.dm ⁻³					cmol _c .dm ⁻³			
Solo	6,1	4,9	76	-	3,1	0,9	0,0	1,5	4,2	4,2	5,7
Material	V	m	ISNa	MO	P-rem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	S
		%		dag.kg ⁻¹	mg.L ⁻¹			mg.dm ⁻³			
Solo	73,6	0	-	1,6	1,7	7,7	44,4	37,8	4,5	0,3	40,3

TABELA 2 Análise química do composto orgânico (CO), do esterco bovino (EB) e do esterco avícola (EA) utilizados no experimento com plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Material	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	g.kg ⁻¹							mg.kg ⁻¹			
CO	5,0	0,6	23,8	5,1	3,6	0,5	19,0	60,0	79.169,4	398,0	217,0
EB	14,0	3,2	19,2	11,5	3,0	2,2	22,4	23,6	16.854,3	273,4	90,5
EA	25,8	25,7	22,2	102,5	6,1	5,2	35,0	68,0	2.186,0	552,0	503,0

Em delineamento inteiramente casualizado foram dispostos quatro tratamentos, constituídos de quatro repetições, sendo cada parcela composta por cinco vasos (uma planta.vaso⁻¹). Os tratamentos foram: ausência de adubo orgânico (testemunha); aplicação de 6kg.m⁻² de esterco bovino; 3kg.m⁻² de esterco avícola; 6kg.m⁻² de composto orgânico. As dosagens foram baseadas nas recomendações de Pinto & Bertolucci (2002) para o cultivo de plantas medicinais. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Aos 120 dias de cultivo as plantas foram colhidas e uma parte das folhas frescas coletadas aleatoriamente foi destinada à extração do óleo essencial. O horário de colheita do material destinado à obtenção do óleo foi rigorosamente o mesmo durante o término do experimento, às oito horas da manhã. O período de condução do experimento baseou-se no fato de que plantas cultivadas em vaso podem ter seu crescimento limitado devido à menor área disponível para expansão do sistema radicular, reduzindo-se assim o tempo de permanência nessas condições.

Efetuuou-se uma relação entre a massa fresca e o valor equivalente em massa seca das folhas para esses valores serem adicionados à soma de biomassa seca nos tratamentos, onde 200g de material fresco equivaleram, em média, à

10g de seco. As plantas restantes foram embaladas separadamente (folhas, caules e raízes) em sacos de papel kraft e o material conduzido à estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 70°C até massa constante. Posteriormente, foi feita a pesagem do material vegetal em balança digital, com sensibilidade 0,01g.

4.3 Extração do óleo essencial

Para a extração do óleo utilizou-se o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger, por Wasicky & Akisue (1969). O material vegetal fresco fracionado (200g por repetição) foi colocado em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 700 mL de água destilada.

Após o início de fervura, realizou-se a destilação por duas horas. O hidrolato obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 15mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com sulfato de magnésio anidro em excesso. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar massa constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o percentual do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schlechter nas folhas: $T\% = \text{massa do óleo (g)} / 200\text{g} \times 100$. E o rendimento de óleo por planta: $R (\text{g.planta}^{-1}) = \text{massa do óleo (g)} \times \text{massa das folhas (g)} / 200\text{g}$.

4.4 Identificação da composição química dos óleos essenciais

As amostras obtidas nos tratamentos foram encaminhadas para o Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal de Sergipe, onde

foram realizadas análises químicas, visando identificar os compostos presentes, por meio de cromatógrafo a gás 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 (30m comprimento x 0,25mm diâmetro interno x 0,25 μ m de espessura do filme, composto de fenilmetilpolisiloxano 5%) conectada a um detector quadrupólo operando em energia de impacto a 70eV 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 μ L (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). 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 Dool & Kratz (1963).

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

Não consta nos resultados a análise da amostra resultante do tratamento de plantas fertilizadas com composto orgânico, pois não foi possível a realização da leitura.

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F e a comparação de médias feita pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de *P. neochilus* responderam positivamente ao crescimento e desenvolvimento vegetativo em relação à adubação orgânica. As fontes variadas de adubo orgânico promoveram diferenças altamente significativas na produção de biomassa entre os tratamentos (Figura 1). As plantas de boldo pequeno foram mais responsivas quando submetidas à fertilização com o esterco avícola em todas as variáveis estudadas (Figura 2).

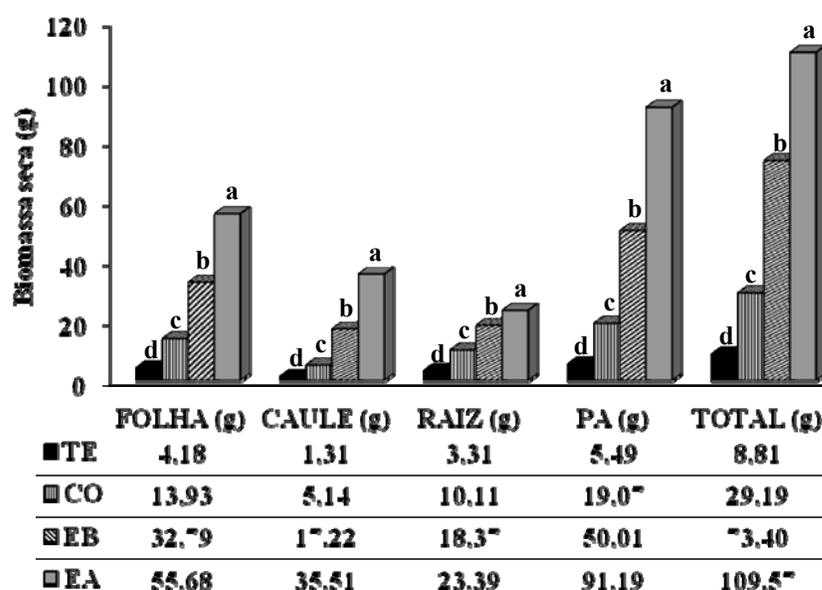


FIGURA 1 Biomassa seca das folhas, caules, raízes, parte aérea (PA) e total (gramas) de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter, cultivadas em vasos sob os seguintes tratamentos: ausência de fertilizante – testemunha (TE); 6kg.m⁻² de composto orgânico (CO); 6kg.m⁻² de esterco bovino (EB); 3kg.m⁻² de esterco avícola (EA), em ambiente protegido. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05). UFLA, Lavras, MG, 2008.

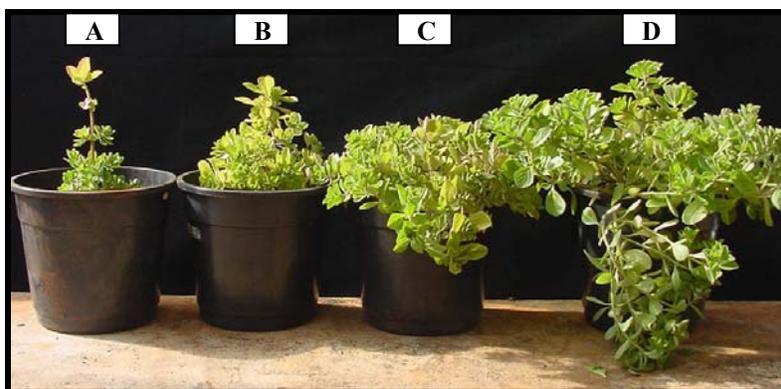


FIGURA 2 Aspecto visual das plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas em vasos sob os seguintes tratamentos: ausência de fertilizante (A); composto orgânico (B); esterco bovino (C); esterco avícola (D), em ambiente protegido. UFLA, Lavras, MG, 2008.

A produtividade de material vegetal seco total nas plantas adubadas com esterco avícola foi 12,43 vezes maior que o tratamento utilizado como controle (ausência de adubo), e em relação aos demais fertilizantes orgânicos, foi 1,50 e 3,75 vezes superior ao esterco bovino e composto orgânico, respectivamente. A eficiência nutricional depende de vários fatores, tais como clima, solo, planta e suas interações, matéria orgânica do solo e composição química do adubo utilizado, dentre outros que afetam a absorção e a utilização de nutrientes pelas plantas (Fageria, 1998). O esterco proveniente de frangos e galinhas, de criações intensivas e alimentados com ração, é rico em nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, mas pobre em celulose. Por isso, sua decomposição é rápida, liberando em poucos dias a maior parte dos nutrientes (Souza & Rezende, 2003).

Rosal et al. (2006) avaliaram os efeitos da adubação química, composto orgânico, esterco bovino e esterco avícola na produção de biomassa de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e inferiram que, nas condições estudadas, o

esterco de aves resultou em maior acúmulo de biomassa seca total. Também com a finalidade de determinar a influência de esterco bovino e de aves no desenvolvimento de *Hyptis suaveolens*, Maia (2006) concluiu que a produtividade foi superior quando as plantas foram fertilizadas com esterco avícola.

Em contrapartida, Palácio et al. (2007), investigaram a influência da ausência e da utilização de fontes de nitrogênio (uréia e esterco ovino) na produção de biomassa em *Baccharis trimera* (Less) DC., e observaram que não houve diferenças significativas para o rendimento da massa seca. Já para o manjerição (*Ocimum basilicum*) cv. Genovese fertilizado com adubo mineral, duas fontes de orgânico (esterco bovino e avícola) – aplicados separadamente ou misturados, a melhor resposta para a produção de massa seca foi alcançada com a mistura do fertilizante químico com o esterco de aves (Blank et al., 2005).

Fazendo uma comparação apenas entre os adubos orgânicos que foram utilizados, observou-se que o desenvolvimento das plantas fertilizadas com composto orgânico foi inferior em relação às cultivadas com esterco avícola e bovino. Este resultado pode estar relacionado ao menor teor de nutrientes contidos nessa fonte de adubação ou à sua maior estabilidade (Kiehl, 1985), ou seja, esse tipo de adubo, ao passar por um processo biológico de transformação da matéria orgânica, torna-se recalcitrante e, com isso, a forma com que seus nutrientes se apresentam não são tão prontamente disponíveis como as encontradas nos esterco.

Pesquisas que relacionam o tipo e a quantidade de adubo suficiente para garantir uma produção elevada e de qualidade, aliadas à viabilidade econômica, ainda necessitam de maiores refinamentos. As espécies medicinais e aromáticas normalmente apresentam uma correlação positiva entre aumento dos níveis de insumos aplicados e produção de biomassa e metabólitos secundários. No

entanto, deve-se ter em foco a dosagem que acarretará o maior retorno para o produtor.

A massa seca total foi particionada e apresentou grandes diferenças entre os tratamentos quanto à forma de distribuição dos fotoassimilados para caules e raízes, não diferindo entre si para folhas que, no geral, concentraram mais de 47% da massa seca total (Figura 3). Sturion (1981) afirma que a aplicação de matéria orgânica provoca alterações de fatores ecológicos do solo, bem como de nutrientes, corroborando com os resultados encontrados para o boldo. Pode-se afirmar que o cultivo de boldo rasteiro nas diferentes condições de cultivo remanejou a distribuição de fotoassimilados, modificando, conseqüentemente, a relação entre a parte aérea e a raiz.

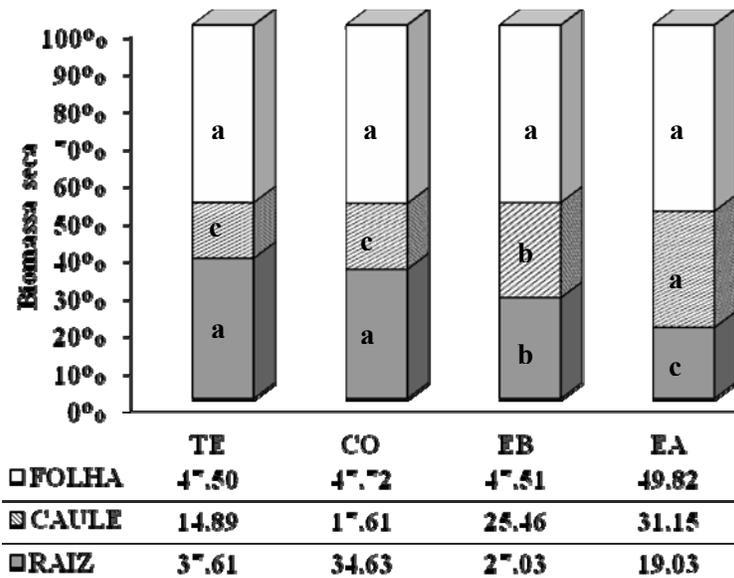


FIGURA 3 Particionamento de biomassa seca pelas plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter, cultivadas em vasos sob os seguintes tratamentos: ausência de fertilizante – testemunha (TE); 6kg.m⁻² de composto orgânico (CO); 6kg.m⁻² de esterco bovino (EB); 3kg.m⁻² de esterco avícola (EA), em ambiente protegido. Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05). UFLA, Lavras, MG, 2008.

O aporte proporcionado pela adubação com esterco avícola gerou um expressivo crescimento na parte aérea das plantas que se destacaram das demais, principalmente pelo incremento de massa seca nos caules, igualando-se às folhas.

Não foram verificadas diferenças em relação ao direcionamento dos fotoassimilados para as folhas entre os tratamentos. Entretanto, nos caules houve maior porcentagem de fitomassa seca em plantas fertilizadas com esterco avícola. Já para as raízes, houve maior aporte de fotoassimilados nas plantas

cultivadas sob ausência de adubo orgânico e com composto orgânico. Tal fato pode estar relacionado a um mecanismo de sobrevivência desenvolvido pelas plantas, com maior investimento no sistema radicular, tendo em vista a maior exploração do solo devido aos baixos níveis de nutrientes no ambiente em que se encontravam.

Respostas similares foram verificadas em estudos com *Hyptis suaveolens*, que indicaram diferenças para a distribuição da biomassa seca entre folhas, caules e raízes de plantas cultivadas com duas fontes de adubos orgânicos - esterco bovino e avícola, com maior favorecimento ao acúmulo de fotoassimilados na parte aérea (Maia, 2006).

Em relação ao teor de óleo essencial de *P. neochilus*, não foram verificadas diferenças entre os tratamentos. Estes resultados estão em consonância com os obtidos por Carvalho et al. (2005) e Palácio et al. (2007). No entanto, Silva et al. (2007), ao testar o efeito da ausência de adubação, da aplicação de esterco bovino e de adubo químico sobre a porcentagem de óleo essencial de *Baccharis trimera*, verificou que quando não se utilizou nenhuma adubação houve tendência de aumento no teor de óleo.

Porém, para o rendimento de óleo essencial de *P. neochilus* as condições testadas promoveram diferenças altamente significativas (Figura 4).

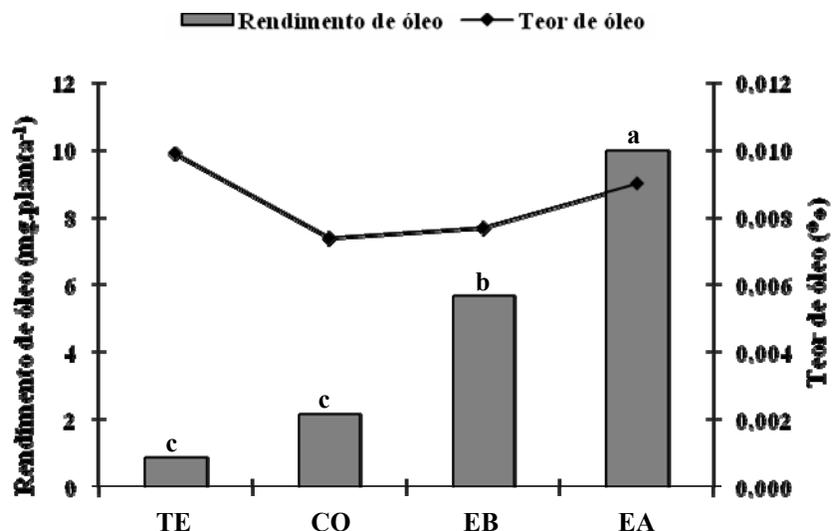


FIGURA 4 Rendimento (mg.planta⁻¹) de óleo essencial de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter, cultivadas em vasos sob os seguintes tratamentos: ausência de fertilizante – testemunha (TE); 6kg.m⁻² de composto orgânico (CO); 6kg.m⁻² de esterco bovino (EB); 3kg.m⁻² de esterco avícola (EA), em ambiente protegido. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05). UFLA, Lavras, MG, 2008.

O rendimento de óleo neste estudo apresentou uma correlação positiva com a produção de biomassa das folhas, visto que os teores de óleo não variaram. O rendimento de óleo essencial é função de sua concentração no tecido e da produção de massa vegetal (Oliveira Júnior et al., 2005). Essa relação foi citada por Santos & Innecco (2004), os quais apontaram que o rendimento de óleo essencial em *Lippia alba* foi significativo quando se obteve maiores produções de massa seca.

Sales (2006) comparou o efeito da adubação química e orgânica na produção de óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl. Os resultados

apontaram diferenças para o teor e rendimento do óleo volátil. No entanto, os maiores valores alcançados para o rendimento não foram atribuídos aos maiores teores de óleo, e sim à acentuada produção de biomassa em plantas cultivadas com adubo orgânico.

Nas plantas de boldo pequeno a quantidade de óleo por planta nos tratamentos fertilizados com esterco avícola foi, em média, 11,36 vezes maior em relação às plantas que não foram adubadas. E entre as fontes de adubo, o esterco avícola foi 1,76 e 4,59 vezes maior que o esterco bovino e o composto orgânico, respectivamente.

De acordo com Chaves (2002), não há na literatura um consenso em relação à resposta do rendimento de óleo essencial frente ao uso de diferentes tipos de adubos e, muito menos, de doses. Isso pode se relacionar ao fato de as plantas medicinais compreenderem um amplo e diversificado grupo de espécies com grande variabilidade quanto à produção de princípios ativos e, quando se trata de plantas produtoras de óleos voláteis, que são substâncias oriundas do metabolismo secundário cuja biossíntese varia em função de fatores extrínsecos e intrínsecos à espécie, as possibilidades de resultados contraditórios são expressivas.

A composição química do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* apresentou uma significativa diversidade de constituintes identificados (Tabela 3).

TABELA 3 Composição química e porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas sob diferentes fontes de adubos orgânicos e sem adubação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

IK	Composto	Testemunha	Esterco bovino	Esterco avícola
		(%)		
1177	Mentol	0,97	2,76	1,88
1198	Metil chavicol	1,02	-	-
1347	α -Cubebeno	0,43	-	-
1375	α -Copaeno	1,01	-	0,84
1383	β -Bourboreno	1,06	-	0,79
1387	β -Cubebeno	0,70	-	-
1419	β -Cariofileno	15,06	-	1,99
1429	β -Gurjuneno	0,23	-	-
1455	α -Humuleno	0,99	-	-
1474	γ -Muuroleno	0,48	-	1,00
1480	Germacreno-D	9,44	-	-
1495	Epi-Cubebol	1,68	1,44	2,10
1498	α -Muuroleno	0,44	-	0,98
1504	β -Bisaboleno	0,22	-	-
1512	γ -Cadineno	3,81	1,63	3,15
1515	Cubebol	2,66	4,03	4,75
1518	δ -Cadineno	7,38	-	-
1521	Z-Calameno	0,75	-	0,69
1561	E-Nerolidol	5,71	2,40	1,00
1577	Espatuleno	1,12	0,93	0,83
1582	Óxido de Cariofileno	9,83	33,53	43,70
1603	β -Oplopenona	0,34	-	-
1610	Epóxido de Humuleno	0,47	1,29	1,67
	II			
1628	1-Epi-Cubenol	2,60	5,74	3,66
1643	Cubenol	7,43	13,67	8,62
1647	α -Muurolol	1,66	4,73	2,58
1655	α -Cadinol	8,14	20,39	11,93
-	Não identificados	14,34	7,46	7,84
-	Identificados	85,66	92,54	92,16

Observou-se no tratamento controle que a biomassa seca total foi inferior aos demais tratamentos e a produção de compostos foi maior, sugerindo que a planta sofreu um estresse por não ter sido fertilizada com a quantidade

suficiente para promover o seu crescimento e desenvolvimento. Em resposta a essa condição, a análise dos constituintes nesse tratamento apresentou 27 compostos identificados, em detrimento do tratamento com esterco bovino e avícola, com 12 e 18, respectivamente (Tabela 3). Pode-se inferir que a planta de boldo, ao sofrer um estresse, sintetizou mais compostos para sua defesa ou sobrevivência e a diversidade do fitocomplexo foi mais evidente nessa condição. O menor desenvolvimento vegetativo resultou em menor produção de massa, conseqüentemente a planta contou com reduzida quantidade de material exposto no meio, o que favorece uma reação imediata de defesa com a sintetização de compostos que possam vir a garantir sua manutenção em condições adversas.

Simões & Spitzer (2003) citam que os compostos terpênicos mais freqüentes nos óleos voláteis são os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Todavia, no óleo essencial de *Plectranthus neochilus* são preponderantes os sesquiterpenos. No tratamento sem adição de adubo eles totalizaram 97,6% dos constituintes químicos identificados e para as plantas submetidas à adubação com esterco bovino e avícola, 97,0% e 97,9%, respectivamente.

A maior porcentagem de área relativa correspondeu aos picos referentes ao óxido de cariofileno com 33,53% e 43,70%, cubenol com 13,67% e 8,62% e α -cadinol com 20,39% e 11,93%, respectivamente para esterco bovino e avícola. A porcentagem de área relativa total a estes três picos no tratamento com esterco bovino e avícola totalizaram 67,59% e 67,25%, respectivamente, enquanto que, para ausência de adubação totalizou 25,4%. Os compostos encontrados em maiores concentrações no tratamento com ausência de adubação além desses três picos foram: β -cariofileno (15,06%), germacreno-D (9,44%), δ -cadineno (7,38%) e E-nerolidol (5,71%) (Tabela 3). O tipo de cultivo tem influência sobre a composição química dos óleos voláteis (Simões & Spitzer, 2003). Coley (1980) menciona que muitas espécies produzem substâncias ativas quando

submetidas a condições de estresse, como uma reduzida disponibilidade de nutrientes no solo, pois em geral, o princípio ativo de interesse está associado ao metabolismo secundário da planta que reflete adaptações a condições adversas ou mecanismos de defesa.

6 CONCLUSÕES

As fontes de adubo orgânico testadas promovem maior produção de biomassa e rendimento do óleo essencial de *Plectranthus neochilus*, em maior magnitude, com a aplicação de esterco avícola.

A utilização de diferentes fontes de fertilizantes orgânicos ou a ausência deles em plantas de *Plectranthus neochilus* não modifica o teor de óleo volátil.

Os tratamentos aplicados alteram a distribuição dos fotoassimilados nas plantas.

A composição química do óleo essencial de *P. neochilus* apresenta maior número de compostos na ausência de fertilizantes.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Carol Stream IL: Allured, 2001. 456 p.

BLANK, A. F.; SILVA, P. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; BARRETO, M. C. V. Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo de manjerição cv. Genovese. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 175-180, maio/ago. 2005.

CARVALHO, M. de C.; COSTA, C. P. de M.; SOUSA, J. dos S.; SILVA, R. H. D. da; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. da. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005. Disponível em: <<http://www.uepb.edu.br/eduep/rbct/>>. Acesso em: 5 jan. 2008.

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. 153 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual, Botucatu.

COLEY, P. D. Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. **Nature**, v. 284, p. 545-546, 1980.

DOOL, H. van der; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-71, 1963.

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 549-556, out./dez. 2007.

FAGERIA, N. F. Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 6-16, 1998.

HABIBI, Z.; YOUSEFI, M.; AGHAIE, H. R. Chemical composition of essential oil of *Salvia persepolitana* Boiss. and *Salvia rhytidea* Benth. from Iran. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, p. 1-3, Jan./Feb. 2008.

JAVIDNIA, H.; MIRI, R.; KHOSRAVI, A. R. Composition of the essential oil of *Teucrium persicum* Boiss. from Iran. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 430-432, Setp./Oct. 2007.

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

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 544 p.

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

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

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C.; FAQUIN, V.; PINTO, J. E. B. P. P.; LIMA SOBRINHO, R. R.; BERTOLUCCI, S. K. V. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 735-739, 2005.

PALÁCIO, C. P. A. M.; BIASI, L. A.; NAKASHIMA, T.; SERRAT, B. M. Biomassa e óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* (Less) DC.) sob influência de fontes e doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 9, n. 3, p. 58-63, 2007.

PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 169 p.

RODRIGUES, E. T.; SUMIOKA, A. T. Produção de cará em função de fontes orgânicas de adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 822-828, jul./ago. 2003.

ROSAL, L. F.; COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P. P.; BERTOLUCCI, S. K. Adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial de capim-limão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 46., 2006, Goiânia. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 244, 2006.

SALES, J. de F. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 92 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 34, n. 1, p. 3-21, May 2001.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, abr./jun. 2004.

SILVA, F. G.; PINTO, J. E. B. 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**, v. 13, n. 1, p. 83-92, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p. 467-496.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. **Manual de horticultura orgânica**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 564 p.

STURION, J. A. **Métodos de produção e técnicas de manejo que influenciam o padrão de qualidade de mudas de essências florestais**. Curitiba: Embrapa, 1981. 18 p. (Documentos, 3).

TAJBAKSH, M.; RINEH, A.; KHALILZADEH, M. A. Chemical composition of the essential oils from leaves, flowers, stem and root of *Phlomis ofivieri* Benth. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 501-503, Nov./Dec. 2007.

WASICKY, R.; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339-405, 1969.

CAPÍTULO IV

PRODUÇÃO DE BIOMASSA E ÓLEO ESSENCIAL DE BOLDO PEQUENO CULTIVADO NO CAMPO SOB NÍVEIS CRESCENTES DE ADUBO ORGÂNICO

1 RESUMO

ROSAL, Louise Ferreira. Produção de biomassa e óleo essencial de boldo pequeno cultivado no campo sob níveis crescentes de adubo orgânico. In: _____. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas.** 2008. Cap.4, p.59-74. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A produção de biomassa e óleo essencial em espécies vegetais, freqüentemente apresenta correlação positiva com a aplicação de doses crescentes de adubos orgânicos. Com o propósito de avaliar os efeitos de níveis crescentes de fertilizante orgânico em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter, a presente pesquisa estudou a produção de biomassa seca do material vegetal, o teor e o rendimento de óleo essencial. As mudas, após a aclimatização, foram levadas para o campo e transplantadas para canteiros. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, com três repetições constituídas de cinco parcelas cada. As parcelas foram compostas por 16 plantas, sendo as quatro plantas centrais consideradas parcela útil. Os tratamentos constituíram-se de cinco níveis de esterco bovino curtido: 0,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 kg.m⁻². Aos 180 dias de cultivo as plantas foram colhidas, uma parte das folhas frescas foi destinada à extração do óleo essencial e o restante do material vegetal conduzido à estufa até massa constante para a verificação da biomassa seca. Realizou-se o cálculo de teor e rendimento do óleo essencial a partir das massas obtidas após a extração do óleo. O aumento dos níveis de esterco bovino testados promoveram aumento linear na produção de biomassa e rendimento do óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus*, não se observando o máximo da curva no intervalo estudado. A utilização de diferentes doses de esterco bovino não modificaram o teor de óleo volátil.

* Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (Orientador).

2 ABSTRACT

ROSAL, Louise Ferreira. Biomass production and essential oil of small “boldo” cultured in field under increasing doses of organic manure. In: _____. **Biomass production, essential oil and physiological and anatomical foliar characteristics of *Plectranthus neochilus* Schlechter in function of organic manure, color shading nets and plants age.** 2008. Chap.4, p. 59-74. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

Biomass production and essential oil in vegetal species, frequently, shows positive correlation with the increasing dosages applications of organic manure. With the purpose of to evaluate increasing doses of organic manure in *Plectranthus neochilus* Schlechter plants, this work studied dry biomass production from vegetal material, content and essential oil yield. The scions, after been acclimatized were taken to field and transplanted to beds. It used randomized complete block design with three replications of five parcels each. The parcels were made of 16 plants; the four central ones were considered the useful parcel. The treatment had 5 cattle manure doses: 0.0; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0 kg.m⁻². The plants were harvest at 180 days old, part of the fresh leaves were for essential oil extraction and the rest of the vegetal material were sent to an oven to dry until have a constant mass for the dry biomass verification. The essential oil content and yield calculation were done from the mass from the oil extraction. The increasing doses of cattle manure tested gave a linear increase in biomass production and essential oil yield in *Plectranthus neochilus* plants, it was not observed the maximum curve in the studied period of time. The different cattle manure dosages used do not modified the volatile oil content.

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

3 INTRODUÇÃO

A espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter caracteriza-se por ser aromática e por apresentar uma beleza considerável, o que a torna apreciada para o cultivo ornamental em hortas e jardins. É, também, uma planta medicinal, conhecida vulgarmente como boldo pequeno, boldo rasteiro ou boldo gambá e empregada popularmente para o tratamento de insuficiência hepática e dispepsia (Duarte & Lopes, 2007). Segundo Lorenzi & Matos (2002) e Couto (2006), é uma espécie herbácea, possui folhas pequenas, quase triangulares, dispostas compactamente, um pouco amargas, de odor forte, inflorescência racemosa de coloração violeta. Pode ser plantada em qualquer época do ano.

Há insuficiência de informações sobre o boldo pequeno na literatura, menos ainda das relacionadas ao cultivo e adubação. Sabe-se que a qualidade das plantas medicinais e aromáticas é obtida durante todo o processo produtivo. Em face desta questão, a adubação é um dos principais fatores que afetam o rendimento das substâncias bioativas e, por conseguinte, a qualidade das plantas medicinais e aromáticas (Marchese & Figueira, 2005).

O adubo orgânico exerce três funções principais, tais como fertilizantes, corretivo e melhorador ou condicionador do solo. Atua como fertilizante, embora de baixa concentração, sendo necessário usá-lo em maiores quantidades, pois contém nitrogênio, cálcio, fósforo, potássio, magnésio e enxofre, além dos micronutrientes boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco. É um corretivo porque corrige a composição do solo, combinando-se com o manganês, o alumínio e o ferro, por exemplo, reduzindo ou neutralizando os efeitos tóxicos desses elementos, quando em excesso, sobre as plantas. Também é condicionador pela forma como age no solo, melhorando suas características físicas, químicas e biológicas, como retenção da água, agregação, porosidade, aumento na capacidade de troca de cátions, facilitando o desenvolvimento e a nutrição das plantas (Miyasaka et al., 1997).

O desenvolvimento vegetal e, em especial, a produção de óleos essenciais em plantas aromáticas são influenciados por vários fatores ambientais, incluindo condições edáficas (Amaral, 2005).

Estudos com aplicação de adubação associada ou não à calagem em plantas de *Hyptis marruboides* Epl. apontaram influência altamente positiva da fertilização orgânica na produção de biomassa seca, teor e acúmulo de óleo essencial, independentemente da presença ou não de calcário (Sales, 2006). Estes resultados estão de acordo com os atributos que são facultados aos adubos orgânicos, os quais, além de fornecedores em potencial de nutrientes para as plantas, são condicionadores e corretivos do solo.

Devido a resultados contraditórios, existem opiniões diferentes quanto à influência da fertilização na produção de substâncias de interesse (Castro et al., 2001). De acordo com Chaves (2002), não há na literatura uma concordância em relação às respostas sobre rendimento de óleo essencial com relação ao uso de diferentes tipos de adubos e muito menos de doses.

Nesse contexto, com o propósito de avaliar os efeitos de níveis crescentes de esterco bovino em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas no campo, a presente pesquisa estudou a produção de biomassa seca do material vegetal, o teor e o rendimento de óleo essencial.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em campo experimental na Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW.

A planta-matriz da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter utilizada para iniciar os experimentos foi devidamente identificada e incorporada sob o

número 22858 ao Herbário ESAL, o qual está vinculado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Preparo das mudas para a instalação dos experimentos

O material vegetal utilizado para a produção das mudas foi obtido no Horto de Plantas Medicinais, UFLA. As mudas de boldo foram produzidas a partir de estacas apicais com aproximadamente 5cm de comprimento e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®].

As mudas foram cultivadas em ambiente protegido com 60% de sombreamento durante trinta dias, período suficiente para que todas estivessem bem estabelecidas e enraizadas.

4.2 Instalação do experimento

Em março de 2006, as mudas, após a aclimatização, foram levadas para o campo e transplantadas para canteiros. O solo da área de cultivo e o esterco bovino foram devidamente analisados pelo Laboratório de Análise de Solos, Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (Tabela 1 e 2).

TABELA 1 Composição química do solo da área de instalação do experimento com plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Material	pH	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	SB	V	MO	P-rem
	H ₂ O	mg.dm ⁻³			cmol _c .dm ⁻³			%	dag.kg ⁻¹	mg.L ⁻¹
Solo	4,9	2,0	56	0,9	0,4	4,5	5,1	24,2	1,6	19,9

TABELA 2 Análise química do esterco bovino (EB) utilizado no experimento com plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Material	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	g.kg ⁻¹						mg.kg ⁻¹				
EB	14,0	3,2	19,2	11,5	3,0	2,2	22,4	23,6	16.854,3	273,4	90,5

Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, com três repetições constituídas de cinco parcelas cada. As parcelas foram compostas por 16 plantas, sendo as quatro plantas centrais consideradas parcela útil. Os tratamentos constituíram-se de cinco níveis: 0,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 kg.m⁻² de esterco bovino curtido (Tabela 2). A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana.

Aos 180 dias de cultivo plantas inteiras foram colhidas e uma parte das folhas frescas foi destinada à extração do óleo essencial. O horário de colheita do material destinado à obtenção do óleo foi rigorosamente o mesmo durante o término do experimento, às oito horas da manhã.

Efetou-se uma relação entre a massa fresca e o valor equivalente em massa seca das folhas para esses valores serem adicionados à soma de biomassa seca nos tratamentos, onde 200g de material fresco equivaleram, em média, à 10g de seco. As plantas restantes foram embaladas separadamente (folhas e caules) em sacos de papel kraft e conduzidas à estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 70°C até massa constante. Posteriormente, foi feita a pesagem do material vegetal em balança digital, com sensibilidade 0,01g.

4.3 Extração do óleo essencial

Para a extração do óleo utilizou-se o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger, por Wasicky & Akisue (1969). O material

vegetal fresco fracionado (200g por repetição) foi colocado em balão volumétrico de 1.000 mL e foi acrescentado um volume de 700 mL de água destilada.

Após o início de fervura, realizou-se a destilação por duas horas. O hidrolato obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 15mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com sulfato de magnésio anidro em excesso. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar massa constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schlechter nas folhas: $T\% = \text{massa do óleo (g)} / 200\text{g} \times 100$. E o rendimento de óleo por planta: $R (\text{g.planta}^{-1}) = \text{massa do óleo (g)} \times \text{massa das folhas (g)} / 200\text{g}$.

4.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F e, posteriormente, à análise de regressão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de material vegetal de plantas de *Plectranthus neochilus* foi influenciada pelos níveis de esterco bovino utilizados neste estudo (Figura 1) e as diferenças foram significativas. O teor de óleo essencial não foi influenciado pelos tratamentos utilizados (Tabela 3). Todavia, os resultados verificados para o rendimento apresentaram alta significância entre os tratamentos (Figura 2).

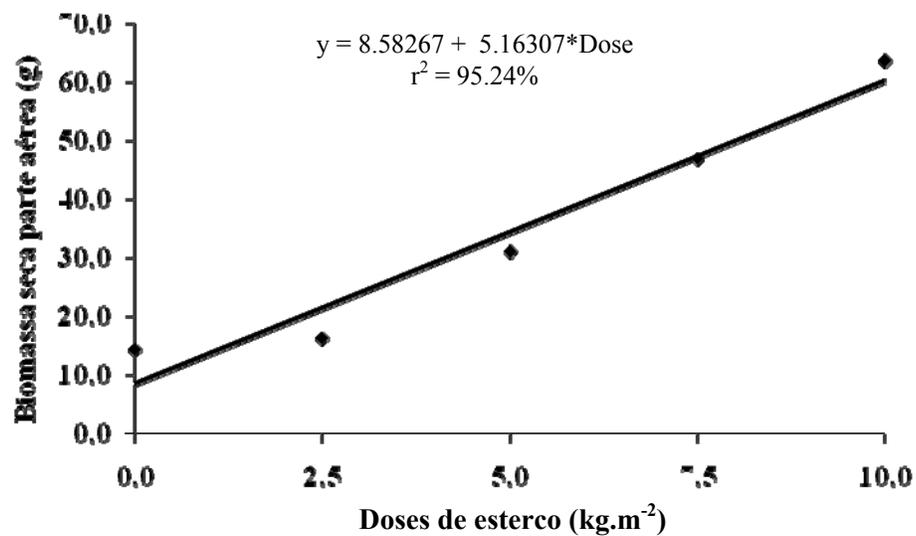


FIGURA 1 Produção de biomassa seca em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função de níveis crescentes de adubação com esterco bovino. UFLA, Lavras, MG, 2008.

TABELA 3 Teor de óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função de níveis crescentes de adubação com esterco bovino. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Doses (kg.m ⁻²)	Teor de óleo (%)
0,0	0,0060
2,5	0,0048
5,0	0,0050
7,5	0,0056
10,0	0,0056

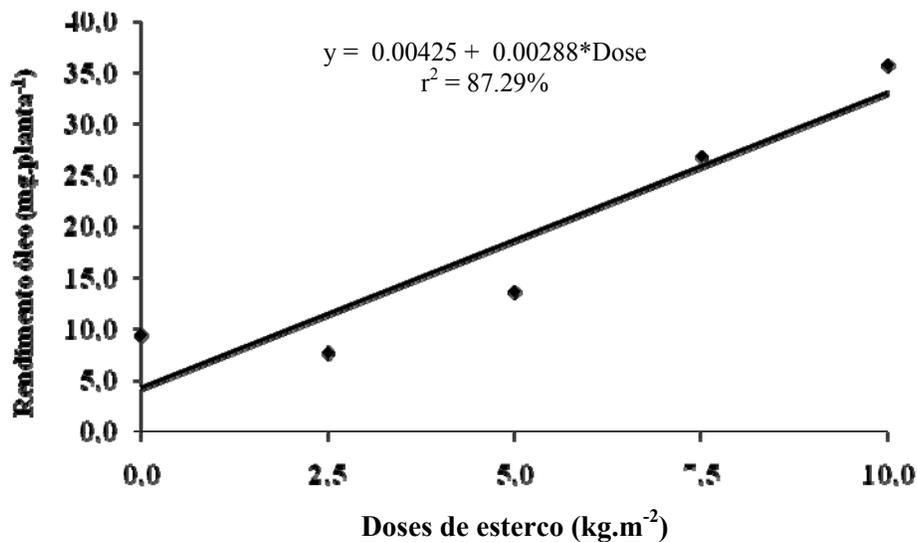


FIGURA 2 Rendimento de óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função de níveis crescentes de adubação com esterco bovino. UFLA, Lavras, MG, 2008.

O maior nível de suprimento com adubo orgânico testado (10kg.m⁻²) proporcionou um incremento de biomassa seca nas plantas da ordem de 4,44 vezes quando comparado ao tratamento controle (ausência de adubo). Esse resultado indica que as plantas de *Plectranthus neochilus* respondem satisfatoriamente à adubação. Além disso, não foi alcançado o ponto de máxima na curva de produção para a biomassa seca nos níveis testados. De acordo com Kiehl (1985), os adubos orgânicos aplicados ao solo sempre proporcionam resposta positiva sobre a produção das culturas, chegando a igualar ou até mesmo superar os efeitos dos fertilizantes químicos.

Resultados análogos aos obtidos no experimento com *P. neochilus* foram verificados por Ferreira (2003) e Chagas (2007). O primeiro autor testou doses

de esterco bovino curtido (0; 2; 4; 6kg.m⁻²) para avaliar a produtividade de plantas de *Catharanthus roseus* e observou que a massa seca total aumentou linearmente à medida que os níveis de esterco aplicado aumentaram. O segundo autor trabalhou com plantas de *Mentha arvensis* L. submetidas aos mesmos níveis de adubação de plantio testados no presente estudo (0,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0kg.m⁻²), e os resultados estão em concordância com as respostas apresentadas por *P. neochilus*, tanto para a variável biomassa seca, quanto para o teor e rendimento de óleo.

Entretanto, não pode ser considerada regra geral que, ao passo que é aumentado o fornecimento de fertilizante, a produção de massa seca também seja aumentada. Guerreiro (2006) cultivou *Pfaffia glomerata* com o intuito de avaliar o desenvolvimento das plantas sob diferentes doses de esterco avícola (0; 15; 30; 45; 60t.ha⁻¹) e constatou que a espécie respondeu até o limite de 30-45t.ha⁻¹ e, a partir destes valores, a produção de fitomassa seca respondeu negativamente.

Ao contrário do que alguns autores preconizam, existem também situações em que as plantas não respondem à fertilização quanto à produtividade, ou seja, a suplementação com adubação orgânica não chega a influenciar significativamente a produção de material vegetal e óleo essencial. Chaves (2002) e Santos & Innecco (2004) relatam que após aplicação de doses crescentes de adubos, não houve significância nos resultados para essas características em plantas de *Lippia alba* e *Ocimum gratissimum*, respectivamente.

No caso de *P. neochilus*, como os teores de óleo se mantiveram constantes, o rendimento do óleo volátil foi função da produção de biomassa vegetal. Segundo Silva et al. (2007), aumentos no rendimento de óleo essencial podem ser alcançados com maior disponibilidade de nutrientes para as plantas.

A adubação orgânica pode não influenciar no teor de óleo essencial, mas é altamente compensada pela produção de biomassa que eleva o rendimento de princípios ativos por planta (Silva et al., 2007). A produtividade de óleo essencial é função de sua concentração no tecido e da produção de matéria vegetal (Oliveira Júnior et al., 2005). Esse incremento na produção de material vegetal com a utilização de fertilizante orgânico pode estar atrelado às propriedades que são conferidas a esse insumo, como: fornecedores de nutrientes, corretivos e condicionadores do solo (Rodrigues & Sumioka, 2003), o que beneficia a planta como um todo.

No trabalho de Silva (2005) com plantas *Aloysia triphylla* submetidas a doses crescentes de esterco bovino curtido (0; 3; 6; 9; 12kg.m⁻²), o teor de óleo obteve um ajuste cúbico, ocorrendo um aumento até a dose 9kg.m⁻² e, na dose 12 kg.m⁻², houve um menor teor de óleo essencial. Maia (2006) submeteu plantas de *Hyptis suaveolens* às mesmas dosagens citadas anteriormente e a porcentagem de óleo desta espécie foi superior com a aplicação da maior dose (12kg.m⁻²).

Verifica-se, portanto, que não há um consenso referente ao comportamento das plantas medicinais e aromáticas frente ao uso de diferentes níveis de adubos orgânicos, o que sinaliza a necessidade de mais pesquisas nesta área devido o crescente interesse por informações sobre cultivo de plantas produtoras de metabólitos secundários.

6 CONCLUSÕES

O aumento dos níveis de esterco bovino testados promovem aumento linear na produção de biomassa e rendimento do óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus*, não se observando o máximo da curva no intervalo estudado.

A utilização de diferentes doses de esterco bovino avaliadas neste trabalho em plantas de *Plectranthus neochilus* não modifica o teor de óleo volátil.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, W. **Desenvolvimento de camomila e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo.** 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários.** Visconde do Rio Branco: Suprema, 2001. 104 p.

CHAGAS, J. H. **Propagação, adubação orgânica, níveis de irradiância, idade e época de colheita e armazenamento na produção de biomassa seca e teor de óleo essencial em plantas de *Mentha arvensis* L.** 2007. 135 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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. 153 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CHAVES, F. C. M.; MING, L. C.; FERNANDES, D. M. Influence of organic fertilization on leaves and essential oil production of *Ocimum gratissimum* L. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 76, p. 273-275, 2002.

COUTO, M. E. O. **Coleção de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília, DF: Embrapa, 2006. 91 p. (Documentos CPACT/Embrapa, 157).

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 549-556, out./dez. 2007.

FERREIRA, M. M. **Avaliação das características de crescimento e desenvolvimento da vinca (*Catharanthus roseus*) em relação á adubação e época de colheita**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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 de adubação orgânica**. 2006. 146 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

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

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 544 p.

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

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

MIYASAKA, S.; NAKAMURA, Y.; OKAMOTO, H. **Agricultura natural**. 2. ed. Cuiabá: Sebrae/MT, 1997. 73 p. (Coleção Agroindústria).

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C.; FAQUIN, V.; PINTO, J. E. B. P. P.; LIMA SOBRINHO, R. R.; BERTOLUCCI, S. K. V. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 735-739, 2005.

RODRIGUES, E. T.; SUMIOKA, A. T. Produção de cará em função de fontes orgânicas de adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 822-828, jul./ago. 2003.

SALES, J. de F. **Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae**. 2006. 92 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, abr./jun. 2004.

SILVA, F. G.; PINTO, J. E. B. 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**, v. 13, n. 1, p. 83-92, 2007.

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

WASICKY, R.; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339-405, 1969.

CAPÍTULO V

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE BOLDO PEQUENO CULTIVADO SOB MALHAS FOTOCONVERSoras

1 RESUMO

ROSAL, Louise Ferreira. Características fisiológicas e rendimento de óleo essencial de boldo pequeno cultivado sob malhas fotoconversoras. In: _____. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas.** 2008. Cap.5, p.75-98. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Reportando-se à influência da luz sobre os diversos aspectos fisiológicos e fitotécnicos das espécies vegetais, a presente pesquisa objetivou avaliar o crescimento, desenvolvimento e rendimento de óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas em ambientes com diferentes malhas coloridas. As mudas, após a aclimatização, foram encaminhadas para o campo e transplantadas para vasos de dez litros. Foram utilizados quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela composta de cinco vasos (uma planta.vaso⁻¹). Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas sob disponibilidades diferentes de radiação e qualidade espectral: 100% de irradiância, malha ChromatiNet azul, malha ChromatiNet vermelha, malha preta. As telas utilizadas neste estudo promoviam um índice de sombreamento de 50% da transmitância na região fotossinteticamente ativa. O período de condução do experimento foi de 90 dias. As variáveis avaliadas foram: produção de biomassa seca da planta, relação raiz/parte aérea, área foliar total, área foliar específica, razão de área foliar, razão de peso foliar, teor de clorofila e rendimento do óleo essencial. O crescimento e desenvolvimento das plantas de *Plectranthus neochilus* foi influenciado pela qualidade e quantidade de luz, mais marcadamente pela luz azul. O sombreamento promovido pelas malhas favoreceu a produção de óleo essencial e é mais proeminente sob tela azul.

* Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (Orientador).

2 ABSTRACT

ROSAL, Louise Ferreira. Physiological characteristics and essential oil yield from small “boldo” cultured under color shading nets. In: _____. **Biomass production, essential oil and physiological and anatomical foliar characteristics of *Plectranthus neochilus* Schlechter in function of organic manure, color shading nets and plants age.** 2008. Chap.5, p. 75-98. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

The light influence on many physiological and agronomy features of the vegetal species led this present research to evaluate the growing, development and yield of essential oil in *Plectranthus neochilus* Schlechter plants cultured in environments with different colorful nets. The scions, after been acclimatized, were sent to field and transplanted into 10L pots. Four treatments were used and five replications each parcel made of 5 pots (1 plant per pot⁻¹). The treatments were characterized by plants cultured under different radiation and spectral quality: 100% sunlight, blue, red and black color net (neutral). The nets used in this study gave a 50% shading index from the photosynthetic active region. The period of time this experiment was 90 days. The evaluated parameters were: dry plant biomass production, relation root/aerial part, total foliar area, specific foliar area, foliar area ratio, foliar weight ratio, chlorophyll content and essential oil yield. *Plectranthus neochilus* plants growth and development was influenced by the light quantity and quality, much more marked by the blue light. The shading promoted by the nets helped essential oil yield and it is higher under the blue net.

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

3 INTRODUÇÃO

A espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter caracteriza-se por ser uma planta aromática, considerada medicinal e usada popularmente para alívio de sintomas de azia e como estimulante da digestão. É de fácil propagação e pode ser plantada em qualquer época do ano (Couto, 2006). Segundo Lorenzi & Matos (2002), é uma espécie herbácea, possui folhas pequenas, quase triangulares, dispostas compactamente, um pouco amargas, de odor forte, conhecida popularmente como boldo pequeno, boldo rasteiro ou boldo gambá. É pouco provável passar despercebido por esse boldo, cujo aroma chama bastante atenção. Entretanto, apesar de ser uma espécie que sugere estudos voltados para a área fitotécnica, não há relatos de pesquisas voltadas para esse campo.

O uso de tecnologias voltadas para o cultivo de plantas medicinais e aromáticas vem avançando de forma animadora. Diversos estudos têm sido propostos visando à otimização da produção de fitomassa e metabólitos secundários, dentre eles: adubação (química, orgânica, ou a combinação de ambas), ambientes de cultivo, fornecimento de água, estágio de desenvolvimento da planta, sazonalidade, horário de colheita, luz (intensidade, qualidade e duração), entre outros (Chaves et al., 2002; Leal et al., 2003; Santos & Innecco, 2004). Em relação à luz, as pesquisas estavam mais voltadas para a investigação da influência dos níveis de irradiância fornecidos às plantas. Entretanto, trabalhos recentes (Leite et al., 2002; Costa et al., 2006) têm buscado compreender o comportamento das espécies cultivadas em ambientes com variados espectros de luz e este entendimento envolve o metabolismo primário e secundário dos vegetais.

Uma das ferramentas utilizadas para manipular o espectro de luz transmitido às plantas é o uso de malhas coloridas produzidas com aditivos especiais que, segundo a empresa Polysack Plastic Industries[®], produtora das telas denominadas ChormatiNET, as convertem em singulares filtros de luz. A

qualidade da luz que chega ao cultivo é mais alta, uma vez que as malhas quebram a luz direta convertendo a uma luz difusa. Esta luz cobre melhor a planta e estimula a fotossíntese (Polysack Plastic Industries[®]). Ainda segundo o fabricante, a malha vermelha reduz as ondas azuis, verdes e amarelas e acrescenta ondas na região do vermelho e vermelho-distante, com transmitância em comprimentos de onda acima de 590nm (vermelho) e um pico menor em torno de 400nm (violeta). A tela azul diminui a proporção de ondas na faixa do vermelho e vermelho-distante, acrescentando ondas azuis (470nm), além de outros picos na região do vermelho-distante e infravermelho (acima de 750nm).

Nesse sentido, a manipulação da qualidade de luz incidente pode acarretar uma série de respostas no âmbito fisiológico das espécies, visto que as plantas possuem pigmentos distintos que absorvem radiação em comprimentos de onda específicos. As reações desses pigmentos ao estímulo luminoso podem desencadear nos vegetais uma série de respostas, tais como alterações na anatomia e diferenciação dos tecidos, alongamento do caule, síntese de pigmentos foliares, acúmulo de carboidratos, alterações na concentração de hormônios vegetais, estímulo ou inibição de brotações axilares, entre outras (Morini & Muleo, 2003).

À luz vermelha são facultadas respostas quanto ao desenvolvimento do aparato fotossintético das plantas, por incrementar o acúmulo de amido em várias espécies, em virtude da inibição do translocamento de fotoassimilados para fora da folha (Saebo et al., 1995). Além disso, pode também ser promotora de estímulos para a alongação do caule, florescimento, mudanças na condutância estomática, bem como na anatomia das plantas (Boardman, 1977). A fisiologia das plantas é bastante variável em resposta à luz azul e inclui fototropismo, movimentos estomáticos, inibição do alongamento celular, ativação de genes, biossíntese de pigmentos, acompanhamento do sol pelas folhas e movimento dos cloroplastos dentro das células (Taiz & Zeiger, 2004).

Leite et al. (2002) testaram algumas variedades de *Phalaenopsis* cultivadas sob malhas coloridas e concluíram que a radiação transmitida pela malha vermelha tem influência significativa na morfogênese da maioria das variedades testadas; e que as vantagens fitotécnicas apresentadas pelas malhas de cor, devem-se à alteração do espectro promovido por elas, e não propriamente às diferenças na quantidade total de radiação transmitida, seja ela global ou fotossinteticamente ativa, e tampouco por diferenças nas transmissividades térmicas. Os fatores do ambiente que mais afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas são o fotoperíodo, a radiação e a temperatura (Marchese & Figueira, 2005).

Reportando-se à influência da luz sobre os diversos aspectos fisiológicos e fitotécnicos das espécies vegetais, na presente pesquisa objetivou-se avaliar o crescimento, desenvolvimento e rendimento de óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas em ambientes com diferentes malhas coloridas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em campo experimental na Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW.

A planta-matriz da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter utilizada para iniciar os experimentos foi devidamente identificada e incorporada sob o número 22858 ao Herbário ESAL, o qual está vinculado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Preparo das mudas para a instalação dos experimentos

O material vegetal utilizado para a produção das mudas foi obtido no Horto de Plantas Medicinais, UFLA. As mudas de boldo foram produzidas a partir de estacas apicais com aproximadamente 5cm de comprimento e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®].

As mudas foram cultivadas em ambiente protegido com 60% de sombreamento durante trinta dias, período suficiente para que todas estivessem bem estabelecidas e enraizadas.

4.2 Instalação do experimento

Em dezembro de 2005, as mudas, após a aclimatização, foram encaminhadas para o campo e transplantadas para vasos de 10 litros contendo solo, areia e esterco bovino curtido (2:1:1).

Em delineamento inteiramente casualizado foram dispostos quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela composta de cinco vasos (uma planta.vaso⁻¹). Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas sob disponibilidades diferentes de radiação solar e de qualidade espectral: 100% de irradiância, malha ChromatiNet azul (transmitância na região do azul-verde, 400-540nm), malha ChromatiNet vermelha (transmitância acima de 590nm) e malha preta (neutra). As telas utilizadas neste estudo promoviam um índice de sombreamento de 50% da transmitância na região fotossinteticamente ativa. As malhas coloridas foram fornecidas pela empresa Polysack Plastic Industries[®].

A duração do experimento foi de 90 dias após o transplante das mudas. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana. O período de condução do experimento baseou-se no fato de que plantas cultivadas em vaso podem ter seu crescimento limitado devido à menor

área disponível para expansão do sistema radicular, reduzindo-se assim o tempo de permanência nessas condições.

4.3 Avaliações de crescimento

4.3.1 Produção de biomassa

Ao final do período do experimento, uma parte das folhas frescas coletadas aleatoriamente foi conduzida à extração do óleo essencial. O horário de colheita do material destinado à obtenção do óleo foi rigorosamente o mesmo durante o término do experimento, oito horas da manhã.

Efetuuou-se uma relação entre a massa fresca e o valor equivalente em massa seca das folhas para esses valores serem adicionados à soma de biomassa seca nos tratamentos, onde 200g de material fresco equivaleram, em média, à 10g de seco. As plantas restantes foram embaladas separadamente (folhas, caules e raízes) em sacos de papel kraft e o material conduzido à estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 70°C até massa constante. Posteriormente, foi feita a pesagem do material vegetal em balança digital, com sensibilidade 0,01g.

4.3.2 Análise de crescimento

Para as avaliações de análise de crescimento, as folhas foram destacadas dos ramos e foi realizada a detecção da área foliar total de cinco plantas representativas de cada tratamento, em 100% das folhas completamente expandidas, através de um integralizador de área foliar MODEL LI-3100, Area Meter marca LICOR.

A razão de 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 , do peso da biomassa seca da planta (P) e do peso da biomassa seca das folhas (Pt), calculados de acordo com Benincasa (1988):

$$\text{RAF (dm}^2\cdot\text{g}^{-1})=\text{A/P} \quad \text{RPF}=\text{Pt/P} \quad \text{AFE (dm}^2\cdot\text{g}^{-1})=\text{A/Pt}$$

As variáveis resposta de crescimento foram: biomassa seca de folhas, caules, raiz, parte aérea, planta, razão raiz/parte aérea, AFT, RAF, RPF, AFE e particionamento da matéria seca.

4.4 Teor de clorofila

A avaliação do teor de clorofila foi realizada utilizando-se cinco folhas de cada tratamento completamente expandidas do quarto nó abaixo do ápice das plantas, tomadas ao acaso. O material foi imediatamente acondicionado em papel alumínio e mantido sob refrigeração em caixa de isopor até ser transferido para o laboratório onde foram feitas as análises. A quantificação das clorofilas *a*, *b* e total foi realizada segundo a metodologia descrita por Arnon (1949).

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 fresca 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.

4.5 Extração do óleo essencial

Para a extração do óleo utilizou-se o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger, por Wasicky & Akisue (1969). O material vegetal fresco fracionado (200g por repetição) foi colocado em balão

volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 700 mL de água destilada.

Após o início de fervura, realizou-se a destilação por duas horas. O hidrolato obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 15mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com sulfato de magnésio anidro em excesso. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar massa constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o rendimento de óleo por planta:
 $R \text{ (g.planta}^{-1}\text{)} = \text{massa do óleo (g)} \times \text{massa das folhas (g)} / 200\text{g.}$

4.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F e a comparação de médias feita pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na avaliação do crescimento de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter indicaram que houve significativa influência tanto da qualidade de luz quanto da intensidade, variando entre os tratamentos (Figura 1).

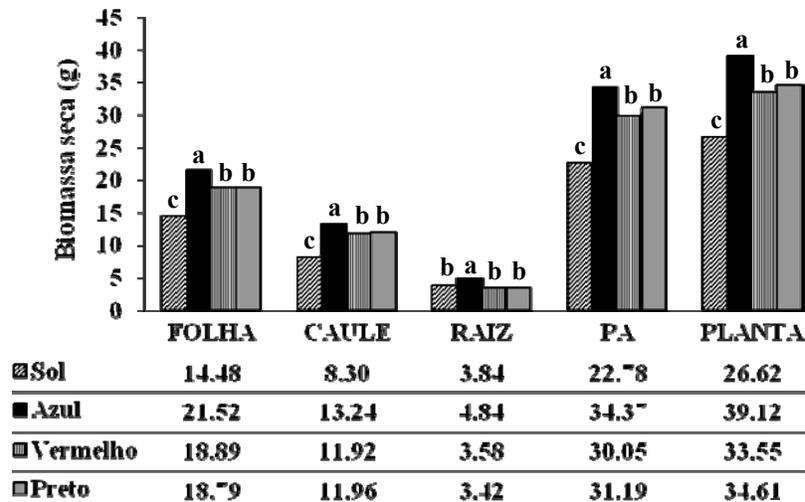


FIGURA 1 Biomassa seca das folhas, caules, raízes, parte aérea e total (gramas) de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas sob pleno sol (100% de irradiância), malha azul (50% de irradiância), malha vermelha (50% de irradiância) e malha preta (50% de irradiância). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

O acúmulo de biomassa seca em todas as partes da planta apresentou profundas diferenças entre as condições testadas. Este fenômeno é atribuído ao fato de que a luz corresponde a um dos principais aspectos da interação das plantas com o meio ambiente, agindo no controle do desenvolvimento das plantas, interferindo no crescimento por meio do processo fotossintético, na diferenciação durante a morfogênese e na partição de assimilados (Machackova et al., 1998).

Plantas de *P. neochilus* submetidas à luz azul apresentaram maiores médias de biomassa em todas as partes da planta. De acordo com Taiz & Zeiger (2004), as plantas utilizam a luz azul como fonte de energia e um sinal que

fornece informações sobre o ambiente. Tais informações são traduzidas em processos metabólicos que permitem às plantas alterarem seu crescimento e desenvolvimento.

Em consonância com o presente trabalho, Souza (2006), no estudo do cultivo de *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz sob malhas coloridas (azul, vermelha e cinza), relatou que a qualidade espectral incidente proporcionada pela malha azul promoveu maiores valores de massa seca total. Nas mesmas condições de cultivo de plantas de *P. neochilus*, foram conduzidas plantas de *Ocimum gratissimum* L., e para esta espécie, os maiores incrementos de biomassa seca total foram atribuídos ao cultivo sob 100% de irradiância e sob malha azul (Martins, 2006).

Em contrapartida, o elixir-paregórico (*Ocimum selloi* Benth.) se desenvolveu melhor e, conseqüentemente, produziu mais massa seca das folhas, caules e raízes na condição de pleno sol, em detrimento da malha azul e vermelha (Costa et al., 2006).

Os resultados obtidos entre as plantas cultivadas sob as telas sugerem que houve influência da qualidade de luz, visto que as médias de produção de biomassa seca das plantas no ambiente com incremento de luz azul foram superiores às aclimatizadas com a proteção da malha vermelha e preta. Este resultado pode estar relacionado ao maior alongamento do caule e à expansão das folhas de plantas de *P. neochilus* nos ambientes sombreados com tela azul a que foram expostas. Verificou-se também que a intensidade luminosa promoveu influência, pois o tratamento pleno sol diferiu dos demais com as menores médias de massa seca.

Houve aumento da superfície fotossintetizante das plantas nos ambientes sombreados (Figura 2), assim como divergências nas relações entre a raiz e a parte aérea e nos índices utilizados para interpretar a análise de crescimento (Figura 3).

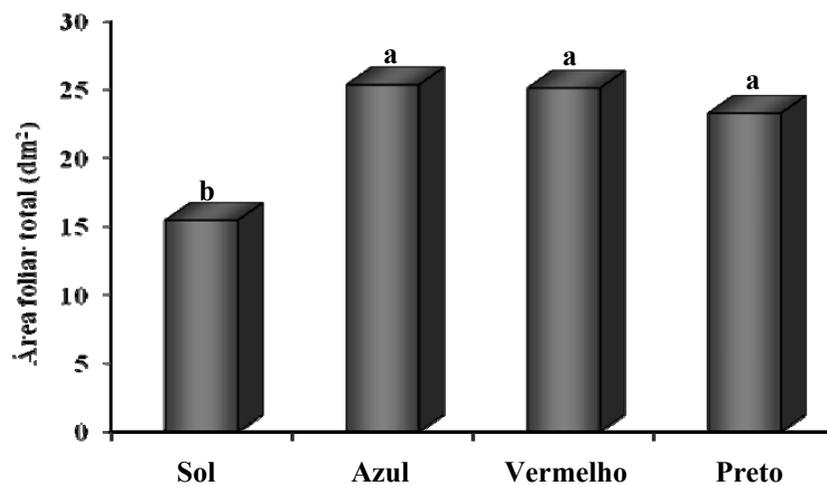


FIGURA 2 Área foliar total (AFT), em dm^2 , de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas sob pleno sol (100% de irradiância), malha azul (50% de irradiância), malha vermelha (50% de irradiância) e malha preta (50% de irradiância). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

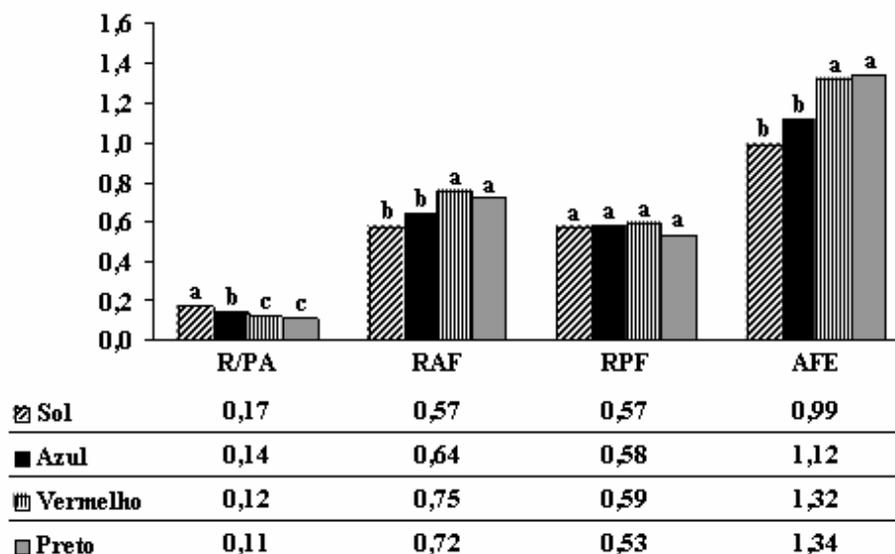


FIGURA 3 Relação raiz/parte aérea (R/PA), razão de área foliar (RAF = $\text{dm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), razão de peso foliar (RPF = $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) e área foliar específica (AFE = $\text{dm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas sob pleno sol (100% de irradiância), malha azul (50% de irradiância), malha vermelha (50% de irradiância) e malha preta (50% de irradiância). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

As plantas de *P. neochilus* apresentaram um significativo incremento na AFT sob as malhas. Este resultado sugere uma estratégia da planta em aumentar a superfície fotossintética, visando garantir um aproveitamento mais eficiente das reduzidas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensar as baixas taxas de fotossíntese por unidade da área foliar, característica de folhas de sombra (Jones & McLeod, 1990). A arquitetura da folha é o resultado final das interações entre os estímulos do ambiente e a adaptação das plantas, além das características genéticas (Lin & Yang, 1999).

A relação da massa seca distribuída entre as raízes e a parte aérea (R/PA) indicou uma alocação preferencial de fotoassimilados para o sistema radicular nas plantas cultivadas a pleno sol, que apresentaram as maiores médias. Castro (2002) cita que a luz tem efeito estimulante na translocação de fotoassimilados para a raiz. A menor distribuição de biomassa seca para as raízes sob baixas condições de luminosidade é bem conhecida e, provavelmente, reflete uma resposta a atributos que melhoram o ganho de carbono sobre irradiância reduzida, com um aumento da área foliar (Almeida, 2001). Os mesmos mecanismos de adaptabilidade das espécies sob condições experimentais semelhantes às das plantas de *P. neochilus*, foram verificados em diversos trabalhos (Martins, 2006; Melo, 2006; Oliveira, 2006; Amaral, 2007).

A razão de área foliar (RAF) expressa a área foliar útil para a fotossíntese, ou seja, maiores valores de RAF indicam maior proporção de tecido fotossinteticamente ativo na área foliar (Patterson, 1980). Em *P. neochilus* a RAF foi superior nos tratamentos sob malha vermelha e preta. De acordo com Aguilera et al. (2004), as plantas consideradas de sombra geralmente apresentam baixa razão de área foliar a pleno sol, como resultado da capacidade da planta de se adaptar a diferentes condições de luminosidade.

Considerando que as folhas são o centro de produção de massa seca e que o resto da planta depende da exportação de material da folha, a razão de peso foliar (RPF) expressa a fração de matéria seca não exportada das folhas para outras partes da planta (Benincasa, 1988). No caso das plantas de *P. neochilus* não foram verificadas diferenças entre os tratamentos. Isso indica que a proporção de matéria seca retida nas folhas e aquela exportada para as demais partes da plantas manteve a mesma tendência entre as condições testadas.

Segundo Magalhães (1979), a área foliar específica (AFE), que é um indicativo da espessura da folha e estima a proporção relativa da superfície assimilatória e dos tecidos de sustentação e condutores da folha, foi mais

reduzida nas condições de pleno sol e sombreamento com malha azul, o que sugere que as folhas de *P. neochilus* vêm a ser mais espessas sob estas condições. A espécie *Mentha suaveolens*, tratada sob as mesmas condições adotadas no presente estudo, apresentaram maior espessamento das folhas quando mantidas a pleno sol e sob tela vermelha (Amaral, 2007).

As respostas apresentadas pelas plantas à variação na disponibilidade de luz costumam envolver, ainda, alterações nas características das folhas relacionadas ao teor de clorofila. Diversos fatores externos e internos afetam a biossíntese de clorofilas; por isso, os seus conteúdos foliares podem variar de maneira significativa. Entre estes fatores, a luz é essencial à sua síntese (Whatley & Whatley, 1982).

A análise dos conteúdos de clorofila revelou significativa variabilidade entre as condições de cultivo avaliadas nesta pesquisa (Tabela 1).

TABELA 1 Teores de clorofila a, b e total (mg.g^{-1} de matéria fresca) e relação clorofila a/b em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Razão a/b
	mg.g^{-1}			
Pleno sol	0,021b	0,017b	0,038b	1,23a
Azul (50%)	0,077a	0,056a	0,133a	1,37a
Vermelho (50%)	0,037b	0,026b	0,063b	1,42a
Preto (50%)	0,037b	0,025b	0,062b	1,48a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

No tratamento constituído de plantas sob telado azul obteve-se maiores teores de clorofila a, b e total. De acordo com Schuerger et al. (1997), a luz azul é importante na formação da clorofila. Nos demais tratamentos não foram verificadas diferenças significativas. A síntese de clorofilas em plantas de *P. neochilus* é função da qualidade e da intensidade de luz.

Os danos diretos, causados pelo excesso de radiação consistem da destruição de cloroplastos, organelas que contêm clorofila, sede das reações da fotossíntese (Whatley & Whatley, 1982). Segundo Kramer & Kozlowski (1979), a clorofila é constantemente sintetizada e destruída (fotooxidação) em presença de luz; ademais, sob intensidades luminosas mais elevadas ocorre maior degradação. Estas considerações podem ser extrapoladas para os teores verificados em plantas de *P. neochilus* cultivadas sob luz solar plena, cujas médias foram as menores, e essas respostas podem sugerir que houve uma maior fotooxidação desse pigmento sob 100% de irradiância.

Souza (2006) e Amaral (2007) relataram que o teor de clorofila (a, b e total) foi alterado em função do ambiente de cultivo e favorecido pelas condições oferecidas sob malha azul em *M. glomerata* e *M. laevigata* e *Mentha suaveolens*, respectivamente. Martins (2006) cita a malha preta como a que promoveu os maiores teores em *Ocimum gratissimum*.

Neste trabalho a razão entre o conteúdo de clorofila a e b não variou sob os ambientes de cultivo testados.

Analisando-se o rendimento de óleo essencial de *P. neochilus* no que concerne à relação entre a sua síntese e o fornecimento de luz sob diferentes condições, os valores obtidos indicaram significativa influência dos tratamentos sobre as médias dos valores obtidos (Figura 4).

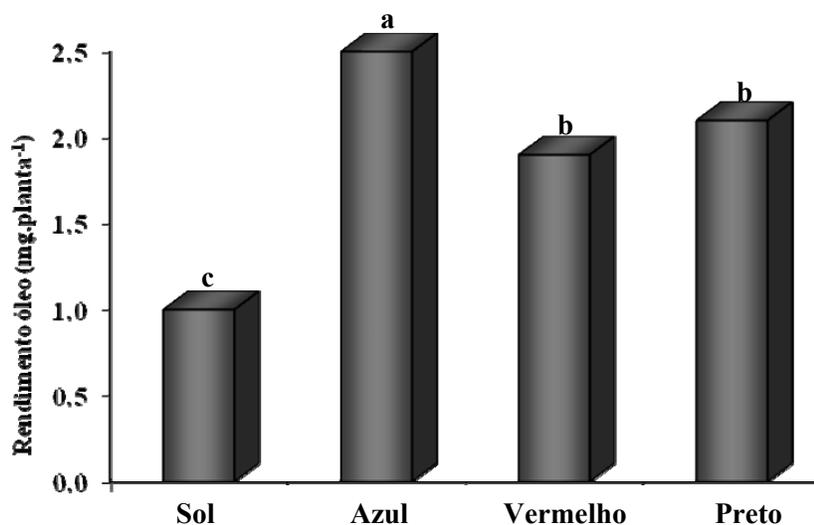


FIGURA 4 Rendimento de óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas sob pleno sol (100% de irradiância), malha azul (50% de irradiância), malha vermelha (50% de irradiância) e malha preta (50% de irradiância). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

A maior produção de óleo essencial (mg.planta^{-1}) foi obtida em plantas cultivadas sob telado azul, seguidas das dispostas sob malhas preta e vermelha e, por fim, com as menores médias, as resultantes do tratamento sob 100% de irradiância. A biossíntese de metabólitos secundários é regulada geneticamente, sendo influenciada por fatores ambientais, entre eles o efeito da luz, que atua de forma significativa e complexa no metabolismo e influencia no acúmulo e na qualidade dos princípios ativos, uma vez que afeta, direta ou indiretamente, as vias metabólicas destes metabólitos secundários (Bernath & Tetenyi, 1980).

Além de possíveis respostas de interferência do metabolismo da planta na produção de princípios ativos, deve-se salientar que o rendimento de óleo

volátil é função da sua concentração no tecido e da produção de matéria vegetal (Oliveira Júnior et al., 2005). Sugere-se, então, que a produtividade de óleo de *P. neochilus* está diretamente relacionada ao acúmulo de biomassa. Essa produção em plantas dispostas sob malha azul foi da ordem de 2,5 vezes maior comparativamente às plantas sem sombreamento.

6 CONCLUSÕES

O crescimento e desenvolvimento das plantas de *Plectranthus neochilus* é maior nas condições oferecidas pelas telas, sendo mais positivo sob malha azul.

O sombreamento e a coloração das telas favorece a produção de óleo essencial de *P. neochilus* e é mais proeminente sob malha azul.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro e à empresa Polysack Plastic Industries® por ter-nos cedido as malhas utilizadas para o desenvolvimento desta pesquisa.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILERA, D. B.; FERREIRA, F. A.; CECON, P. R. Crescimento de *Siegesbeckia orientalis* sob diferentes condições de luminosidade. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 1, jan./mar. 2004.
- ALMEIDA, L. P. **Germinação, crescimento inicial e anatomia foliar de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana* MEZ sob diferentes níveis de radiação**. 2001. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- AMARAL, T. A. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de *Mentha suaveolens* Ehrh., cultivada sob telas coloridas**. 2007. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolates choroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal: Funep, 1988. 41 p.
- BERNATH, J.; TETENYI, P. Ecological factors adaptability relationship of steroid alkaloid production based on investigation of examine two species, *Solanum laciniatum* Ait and *Solanum dulcamara* L. **Acta Botanique Academic Scientiarum Hungarica**, Budapest, v. 24, n. 12, p. 41-45, 1980.
- BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.
- CASTRO, E. M. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento**. 2002. 221 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CHAVES, F. C. M.; MING, L. C.; FERNANDES, D. M. Influence of organic fertilization on leaves and essential oil production of *Ocimum gratissimum* L. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 76, p. 273-275, 2002.

COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P. P.; BERTOLUCCI, S. K.; ROSAL, L. F. Cultivo de elixir paregórico em diferentes condições de espectro de luz no crescimento e desenvolvimento. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 19., 2006, Salvador. **Anais...** Salvador: UFBA, 2006.

COUTO, M. E. O. **Coleção de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Brasília, DF: Embrapa, 2006. 91 p. (Documentos CPACT/Embrapa, 157).

JONES, R. H.; MACLEOD, K. W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in chinese tollow tree and carolina ash seedlings. **Forest Science**, Washington, v. 36, n. 4, p. 851-862, Dec. 1990.

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

LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F.; CARVALHO, A. J. C. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (Dc.) Stapf.] em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 61-64, 2003.

LEITE, C. A.; ITO, R. M.; GERALD, L. T. C.; FAGNANI, M. A. **Manejo do espectro de luz através de malhas coloridas visando o controle do crescimento e florescimento de *Phalaenopsis* sp.** 2002. Disponível em: <<http://www.polysack.com/index.php>>. Acesso em: 19 nov. 2007.

LIN, B. L.; YANG, W. J. Blue light and abscisic acid independently induce heterophyllous switch in *Marsilea quadrifolia*. **Plant Physiology**, Washington, v. 119, p. 429-434, 1999.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 544 p.

MACHÁCKOVÁ, I. et al. Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 102, n. 2, p. 272-278, Feb. 1998.

MAGALHÃES, A. C. N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU, 1979. v. 1, 362 p.

MARCHESE, J. A.; FIGUEIRA, G. M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.

MARTINS, J. R. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial de *ocimum gratissimum* L.** 2006. 187 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MELO, A. A. M. **Germinação de sementes e ação da qualidade da luz sobre o desenvolvimento vegetativo e aspectos fitoquímicos de *Catharanthus roseus*.** 2006. 187 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits.** Dordrecht: Kluwer Academic, 2003. p. 3-35.

OLIVEIRA, M. I. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de *Artemisia vulgaris*, submetidas a diferentes espectros luminosos.** 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C.; FAQUIN, V.; PINTO, J. E. B. P. P.; LIMA SOBRINHO, R. R.; BERTOLUCCI, S. K. V. Teor e rendimento de óleo essencial no peso fresco de arnica, em função de calagem e adubação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 735-739, 2005.

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

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy birch plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SANTOS, M. R. A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, abr./jun. 2004.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown 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.

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. 118 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

WASICKY, R.; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339-405, 1969.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas**. São Paulo: EPU-EDUSP, 1982. 101 p. (Temas de Biologia, 30).

CAPÍTULO VI

**CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS FOLIARES, TEOR E
COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Plectranthus neochilus*
SCHLECHTER CULTIVADO SOB MALHAS FOTOCONVERSoras**

1 RESUMO

ROSAL, Louise Ferreira. Características anatômicas foliares, teor e composição do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivado sob malhas fotoconversoras. In: _____. **Produção de biomassa, óleo essencial e características fisiológicas e anatômicas foliares de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função da adubação orgânica, malhas coloridas e idade das plantas**. 2008. Cap.6, p. 99-123. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Neste trabalho teve-se por objetivo investigar a anatomia foliar, o teor e a composição do óleo essencial de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter cultivadas sob diferentes qualidades de luz incidente. As mudas, após a aclimatização, foram encaminhadas para o campo e transplantadas para vasos de dez litros e cultivadas durante 90 dias. Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas sob disponibilidades diferentes de radiação e de qualidade espectral: 100% de irradiância, malha ChromatiNet azul, malha ChromatiNet vermelha, malha preta (neutra). As telas utilizadas neste estudo promoviam um índice de sombreamento de 50% na região fotossinteticamente ativa. Nas avaliações anatômicas foram utilizadas folhas completamente expandidas do terceiro nó, do ápice para a base. Utilizaram-se cinco folhas oriundas de plantas diferentes. Para o preparo do material de microscopia de luz realizaram-se seções transversais e paradérmicas da região mediana foliar. Paralelamente, prepararam-se amostras foliares para a microscopia eletrônica de varredura. Realizou-se a extração do óleo essencial e a partir da massa obtida calculou-se o teor de óleo nas folhas. A composição do óleo foi determinada por meio de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-MS). As plantas de *P. neochilus* apresentaram alta plasticidade fenotípica quanto à anatomia foliar sob as condições de cultivo utilizadas. O teor de óleo essencial foi maior nos ambientes que promoveram sombreamento. A composição química do óleo essencial variou em função do ambiente de cultivo.

* Comitê Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA (Orientador).

2 ABSTRACT

ROSAL, Louise Ferreira. Foliar anatomical characteristics, essential oil content and composition of *Plectranthus neochilus* Schlechter cultured under color shading nets. In: _____. **Biomass production, essential oil and physiological and anatomical foliar characteristics of *Plectranthus neochilus* Schlechter in function of organic manure, color shading nets and plants age.** 2008. Chap.6, p. 99-123. (Doctorate in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

This work had as purpose to evaluate foliar anatomy, essential oil content and composition from *plectranthus neochilus* Schlechter plants cultured under different quality of direct light. The scions, after acclimatization were sent to field and put into 10L pots cultured during 90 days. The treatments were characterized by plants cultured under different radiation and spectral quality: 100% sunlight, blue, red and black (neutral) color shading net. The nets used in this study gave a 50% shading index from the photosynthetic active region. In the anatomical evaluations used complete expanded leaves. It was used 5 leaves from different plants. For the light microscope material preparation, transversal and paradermic cuts from median foliar region were done. Parallel to that, foliar samples were prepared to scanner electron microscope. Essential oil extraction was done and from its mass oil contents was calculated. The oil composition was got by the means of gas chromatography linked to mass spectrometry (CG-MS). *Plectranthus neochilus* plants showed high phenotypic plasticity related to its foliar anatomy under the cultured conditions used. Essential oil content was higher in the environments that promoted shading. The essential oil chemical composition changed in function to the cultured environment.

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

3 INTRODUÇÃO

O gênero *Plectranthus* spp. possui mais de 350 espécies pertencentes à família Lamiaceae, predominantemente distribuídas em regiões tropicais da África, Ásia e Austrália (Codd, 1985). Dentre as espécies medicinais que fazem parte do gênero, *Plectranthus neochilus* Schlechter é uma planta aromática empregada popularmente para o tratamento de insuficiência hepática e dispepsia (Duarte & Lopes, 2007), conhecida vulgarmente como boldo pequeno, boldo gambá e boldo rasteiro. É uma planta herbácea, possui folhas pequenas, quase triangulares, dispostas compactamente, pouco amargas e de odor forte (Lorenzi & Matos, 2002).

Por se tratarem de espécies produtoras de metabólitos secundários e de uso fitoterápico habitual, as plantas medicinais demandam estudos voltados para a elucidação das estruturas anatômicas produtoras desses princípios ativos. Neste contexto, pesquisas apontam que a luz exerce grande influência no metabolismo primário e secundário das espécies vegetais (Leite et al., 2002; Costa et al., 2006; Mattana et al., 2006; Oliveira, 2006), e essa interferência pode ser extrapolada para modificações na anatomia vegetal (Espindola Júnior, 2006; Costa et al., 2007).

Plantas têm plasticidade morfológica em resposta às condições ambientais em que sobrevivem (Lee et al., 2000). Não só a intensidade luminosa que chega às plantas pode promover alterações na anatomia foliar. Deve-se também levar em consideração a qualidade da luz, pois, de acordo com Schuerger et al. (1997) e Lee et al. (2000), a variação espectral pode afetar a biossíntese de compostos químicos e as estruturas anatômicas das folhas, fazendo com que as plantas exibam um alto grau de plasticidade fisiológica e anatômica para mudanças na qualidade da luz.

Informações sobre as variações na morfologia foliar, na produção de óleos voláteis e em sua composição em plantas medicinais sob diferentes

regimes de luz contribuem para determinar o ambiente de cultivo em que a espécie mais se adapta.

Como não há relatos sobre questões vertentes a essa área de pesquisa em plantas de *P. neochilus*, neste trabalho o objetivo foi investigar a anatomia foliar, o teor e a composição do óleo essencial de plantas cultivadas sob diferentes qualidades de luz incidente.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A planta-matriz da espécie *Plectranthus neochilus* Schlechter utilizada para iniciar os experimentos foi devidamente identificada e incorporada sob o número 22858 ao Herbário ESAL, que está vinculado ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Preparo das mudas para a instalação dos experimentos

O material vegetal utilizado para a produção das mudas foi obtido no Horto de Plantas Medicinais, UFLA. As mudas de boldo foram produzidas a partir de estacas apicais com aproximadamente 5cm de comprimento e postas para enraizar em bandejas de poliestireno de 72 células, contendo o substrato comercial Plantmax[®].

As mudas foram cultivadas em ambiente protegido com 60% de sombreamento durante trinta dias, período suficiente para que todas estivessem bem estabelecidas e enraizadas.

4.2 Instalação do experimento

Em dezembro de 2005, as mudas, após a aclimatização, foram encaminhadas para o campo e transplantadas para vasos de 10 litros contendo solo, areia e esterco bovino curtido (2:1:1).

Em delineamento inteiramente casualizado foram dispostos quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela composta de cinco vasos (uma planta.vaso⁻¹). Os tratamentos foram caracterizados pelo cultivo das plantas sob disponibilidades diferentes de radiação solar e de qualidade espectral: 100% de irradiância, malha ChromatiNet azul (transmitância na região do azul-verde, 400-540nm), malha ChromatiNet vermelha (transmitância acima de 590nm) e malha preta (neutra). As telas utilizadas neste estudo promoviam um índice de sombreamento de 50% da transmitância na região fotossinteticamente ativa. As malhas coloridas foram fornecidas pela empresa Polysack Plastic Industries®.

A duração do experimento foi de 90 dias após o transplântio das mudas. A irrigação foi realizada até o solo atingir a capacidade de campo, três vezes por semana. O período de condução do experimento baseou-se no fato de que plantas cultivadas em vaso têm seu crescimento limitado devido à menor área disponível para expansão do sistema radicular, reduzindo-se assim o tempo de permanência nessas condições.

4.3 Análises anatômicas

4.3.1 Microscopia fotônica (MF)

Nas avaliações anatômicas foram utilizadas folhas completamente expandidas, coletadas do terceiro nó a partir do ápice. Utilizaram-se cinco folhas oriundas de plantas diferentes de cada tratamento. 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 hipoclorito de sódio 50%, 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 (três campos em cada uma das cinco folhas), por tratamento, das características: espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial e do mesofilo.

Os cortes paradérmicos foram efetuados manualmente no terço médio foliar, na superfície adaxial e abaxial. O material foi clarificado com solução de hipoclorito de sódio 50%, por 15 minutos. Posteriormente, corados com azul de toluidina. Os cortes das seções paradérmicas foram montados em lâminas semi-permanentes com glicerina 50%. Dessas seções, as variáveis analisadas foram: frequência estomática, diâmetros polar e equatorial dos estômatos.

A frequência estomática foi avaliada com auxílio de uma câmara clara, em microscópio Olympus CBB, seguindo a técnica descrita por Laboriau et al. (1961). E a medição do tamanho estomático foi realizada no programa Sigma Scan Pro. Foram utilizadas 20 repetições por tratamento (quatro campos em cada uma das cinco folhas).

4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a observação da superfície foliar quanto à presença de tricomas glandulares e não-glandulares, coletaram-se cinco folhas tomadas ao acaso de cada tratamento, localizadas no terceiro nó abaixo do ápice da planta, das quais foram retirados fragmentos da região mediana, com aproximadamente 0,3 mm² e fixados em solução Karnovsky por um período de 24h; em seguida, foram lavados em tampão cacodilato a 0,05 M por três vezes de 10 minutos cada e pós-

fixadas em tetróxido de ósmio a 1%, durante 4 horas. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em acetona numa série progressiva (25%, 50%, 75%, 90% e 100% três vezes por 10 minutos), submetidas ao ponto crítico de dessecamento de CO₂ em equipamento BAL-TEC, CPD-030, fixadas no suporte metálico com cola de prata e recobertas com ouro metálico (10 nm), em aparelho BAL-TEC, SCD-050. O material foliar preparado foi observado e eletromicrografado em microscópio eletrônico de varredura LEO-EVO 40, XVP. Para a determinação da densidade de tricomas foram escolhidos, aleatoriamente, 10 campos de observação com mesma área (0,244 mm²), nas superfícies adaxial e abaxial da epiderme.

4.4 Extração do óleo essencial

Para a extração do óleo utilizou-se o método de hidrodestilação em aparelho modificado de Clevenger, por Wasicky & Akisue (1969). O material vegetal fresco fracionado (200g por repetição) foi colocado em balão volumétrico de 1.000 mL e acrescentado um volume de 700 mL de água destilada.

Após o início de fervura, realizou-se a destilação por duas horas. O hidrolato obtido de cada hidrodestilação foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 15mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e secas com sulfato de magnésio anidro em excesso. O sal foi removido por filtração simples e o solvente evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar massa constante, obtendo-se o óleo essencial purificado.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial de *Plectranthus neochilus* Schlechter nas folhas: $T\% = \text{massa do óleo (g)} / 200\text{g} \times 100$.

4.5 Identificação da composição química dos óleos essenciais

As amostras obtidas nos tratamentos foram encaminhadas para o Laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal de Sergipe, onde foram realizadas análises químicas, visando identificar os compostos presentes, por meio de cromatógrafo a gás 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 (30m comprimento x 0,25mm diâmetro interno x 0,25 μ m de espessura do filme, composto de fenilmetilpolisiloxano 5%) conectada a um detector quadrupólo operando em energia de impacto a 70eV 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 μ L (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). 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 Dool & Kratz (1963).

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

4.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de F e a comparação de médias feita pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das análises feitas nas folhas de *Plectranthus neochilus* observou-se que a epiderme é uniestratificada. Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos quanto à espessura da epiderme na superfície abaxial. Em contrapartida, em plantas cultivadas sob malha azul houve redução na espessura da epiderme adaxial, enquanto que nas demais condições de cultivo não houve diferenças. O mesofilo é homogêneo e a espessura foi influenciada pela intensidade luminosa e qualidade espectral, sendo que a maior espessura foi verificada em plantas cultivadas a pleno sol e a menor sob malha vermelha (Tabela 1 e Figura 1).

TABELA 1 Espessura da epiderme da face adaxial (EAD), mesofilo homogêneo (MH), epiderme da face abaxial (EAB) e limbo foliar (LF) de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função dos tipos de sombreamentos com malhas coloridas. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Sombreamento	EAD	MH	EAB	LF
	Espessura (μm)			
Pleno sol (0%)	47,20a	922,20a	45,73a	1015,13a
Malha azul (50%)	40,20b	693,07b	41,80a	775,07b
Malha vermelha (50%)	50,33a	607,27c	44,40a	702,00c
Malha preta (50%)	49,20a	721,60b	48,40a	819,20b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

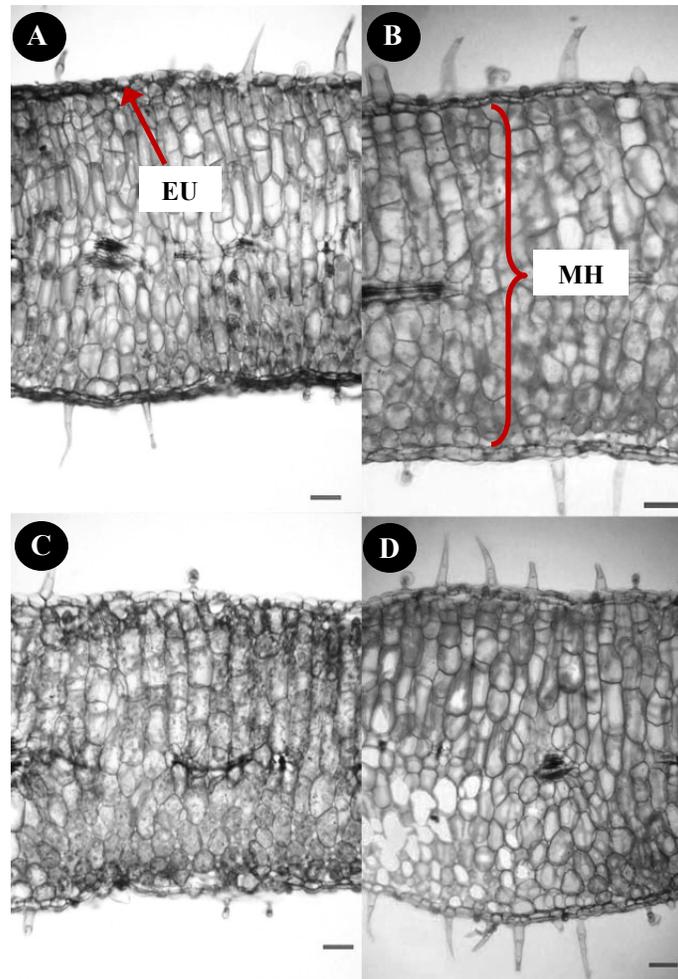


FIGURA 1 Fotomicrografia da seção transversal de folhas de *Plectranthus neochilus* Schlechter: pleno sol (A), malha azul (B), malha vermelha (C) e malha preta (D). Epiderme uniestratificada (EU) e mesofilo homogêneo (MH). Barra = 10 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Segundo Lee et al. (2000), o espessamento foliar é resultante apenas da intensidade luminosa, pois, segundo os autores, a qualidade espectral da luz não é capaz de modificar a contribuição das camadas de tecidos no espessamento

total da folha nem a composição do mesofilo. Resultados que corroboram com esta constatação foram citados por Maia (2006), Amaral (2007) e Costa et al. (2007). Entretanto, no presente estudo com *P. neochilus* verificou-se que tanto os níveis de irradiância (100%, pleno sol e 50%, malha preta), quanto o fornecimento de diferentes espectros de luz (malha azul e vermelha) influenciaram o espessamento do mesofilo.

Os estômatos são do tipo diacítico, posicionados no mesmo nível das células epidérmicas. São encontrados nas faces abaxial e adaxial, com maior frequência na superfície abaxial das folhas, que podem ser classificadas como hipoanfistomáticas. O diâmetro polar e equatorial nas duas faces das folhas variaram em função dos tratamentos. A densidade estomática não variou na superfície abaxial e na adaxial foi maior nas plantas mantidas sob malha azul (Tabela 2).

TABELA 2 Tamanho dos estômatos e frequência estomática em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função dos tipos de sombreamentos com malhas coloridas. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Estômatos		Sombreamentos			
		Pleno sol (0%)	Malha azul (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha preta (50%)
Face adaxial	Frequência (estômatos/ μm^2)	61,35b	75,95a	57,15b	62,95b
	Diâm. polar (μm)	38,00a	35,40b	34,50b	34,65b
	Diâm. equat. (μm)	24,95b	26,15a	25,20b	24,50b
Face abaxial	Frequência (estômatos/ μm^2)	123,95a	118,75a	109,95a	114,00a
	Diâm. polar (μm)	33,65b	35,40a	34,00b	32,15c
	Diâm. equat. (μm)	23,80b	26,55a	24,45b	24,75b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Normalmente, os trabalhos citados na literatura fazem correlação positiva entre aumento da frequência estomática e elevação na intensidade luminosa (Espíndola Júnior, 2006; Martins, 2006; Amaral, 2007). No entanto, nas plantas de *P. neochilus* na face adaxial a densidade estomática foi maior em plantas cultivadas sob malha azul e na superfície abaxial, não foram observadas diferenças entre as condições testadas. A maior frequência estomática observada na face adaxial em plantas sob telado azul indicam que o ambiente de cultivo rico em comprimentos de onda na faixa do azul do espectro estimulou a produção de estômatos na superfície superior das folhas de *P. neochilus*.

Tricomas glandulares e não glandulares foram verificados nas duas superfícies das folhas de *P. neochilus* (Tabela 3), havendo diferenças nas

densidades observadas. Os tricomas tectores são pluricelulares, unisseriados e recobertos com cutícula granulosa. Tricomas glandulares são apêndices epidérmicos que ocorrem em muitos órgãos aéreos vegetativos e reprodutivos do vegetal e podem secretar substâncias lipofílicas. Geralmente são formados por uma “cabeça” de células secretoras, uni ou multicelular e um pedúnculo não glandular (Esau, 1977). O número de células secretoras, número e o comprimento da (s) célula (s) do pedúnculo, a densidade, a localização e o arranjo destes tricomas na epiderme pode variar (Metcalf & Chalk, 1950). Nas plantas de *P. neochilus* os tricomas glandulares são do tipo capitado séssil, capitado pedunculado e peltado (Figura 2).

TABELA 3 Densidade de tricomas tectores (TT), glandulares capitados sésseis (TGCS), glandulares capitados pedunculados (TGCP), glandulares peltados (TGP) e tricomas glandulares totais (TGT) em plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função dos tipos de sombreamentos com malhas coloridas. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Densidade de tricomas (mm ²)	Sombreamentos				
	Pleno sol (0%)	Malha azul (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha preta (50%)	
Face adaxial	TT	48,20b	51,80b	65,40a	71,10a
	TGCS	47,21b	46,74b	52,48b	84,87a
	TGCP	24,19c	36,08b	27,06c	48,38a
	TGP	-	-	-	-
Face abaxial	TT	50,00b	62,40a	42,80b	71,00a
	TGCS	48,38b	59,04a	44,69b	44,68b
	TGCP	25,01b	36,90a	36,08a	28,70b
	TGP	16,40a	13,14b	11,48b	10,67b
TGT	161d	192b	173c	218a	

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

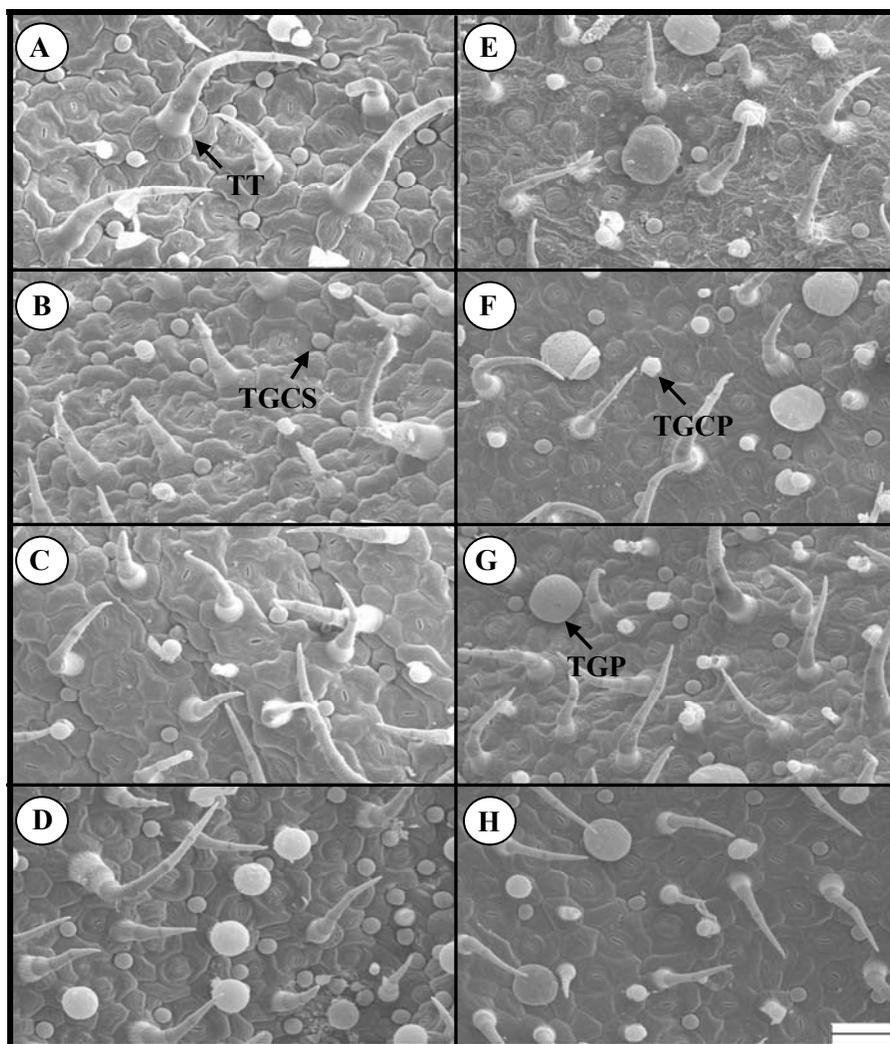


FIGURA 2 Eletromicrografia de varredura da superfície adaxial (A) sol, (B) azul, (C) vermelho, (D) preto e abaxial (E) sol, (F) azul, (G) vermelho, (H) preto. Tricoma tector (TT), tricoma glandular capitado séssil (TGCS), tricoma glandular capitado pedunculado (TGCP) e tricoma glandular peltado (TGP). Barra = 100 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2008.

A presença de tricomas glandulares peltados e capitados é uma característica marcante nas Lamiaceae (Ascensão et al., 1999; Fahn, 2000). Ao contrário dos tricomas peltados, que têm grande uniformidade morfológica, os tricomas capitados diferem em termos de características morfológicas que refletem diferentes processos secretores e, provavelmente, funções distintas (Ascensão et al., 1999).

Em plantas de *P. neochilus* a quantidade e a distribuição dos tricomas não glandulares e glandulares foram praticamente homogêneas entre as duas superfícies. No entanto, os tricomas peltados ocorreram apenas na superfície abaxial e em maior número nas plantas expostas à luz solar plena, ou seja, é afetado apenas pela intensidade luminosa na face onde ocorre (Tabela 3). Na espécie *Plectranthus ornatus* Codd também foram observados tricomas glandulares peltados apenas na superfície abaxial das folhas, enquanto que os tricomas glandulares capitados apresentaram-se abundantes e uniformemente distribuídos em ambas as faces das folhas (Ascensão et al., 1999).

Entretanto, Duarte & Lopes (2007) observaram a ocorrência de tricomas glandulares peltados nas duas superfícies de *Plectranthus neochilus*, o que diverge dos resultados obtidos no presente estudo. Satil & Kaya (2007) estudaram a anatomia foliar e os tricomas presentes em espécies pertencentes ao gênero *Satureja* L. (Lamiaceae) que se caracterizam por terem importância medicinal e econômica devido ao óleo essencial que produzem. Os autores observaram que em todas as espécies estudadas havia tricomas não glandulares e glandulares peltados e capitados nas duas faces das folhas.

Ascensão et al. (1999) citam que há um certo consenso entre diversos trabalhos sobre a produção de óleo essencial nas espécies da família Lamiaceae, nas quais a maior parte do óleo essencial produzido é atribuída ao conteúdo verificado nos tricomas peltados. No entanto, nos seus estudos com *P. ornatus*,

esses pesquisadores observaram que os tricomas capitados e conoidais também produziram quantidades significativas de óleo essencial.

O teor de óleo essencial não foi influenciado pela qualidade de luz, e sim, pela intensidade. As maiores médias foram alcançadas em plantas cultivadas sob sombreamento (Figura 3). Entre os fatores climáticos, a temperatura e a luz solar, na maioria dos vegetais, são os que mais interferem nos processos metabólicos da planta para a produção e o acúmulo de princípios ativos (Rodrigues, 2007).

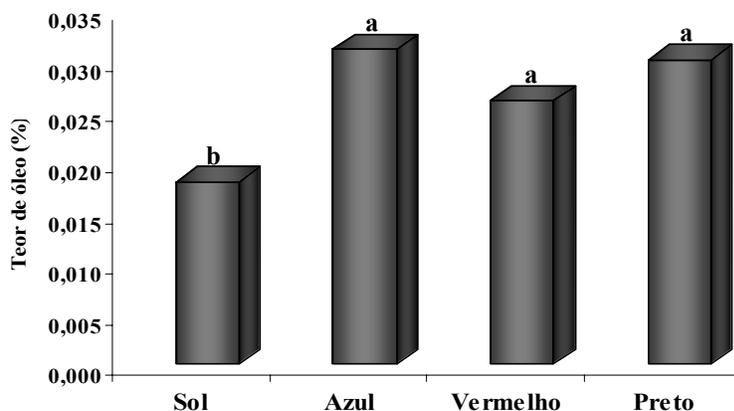


FIGURA 3 Teor de óleo essencial em plantas de *Plectranthus neochilus* em função dos tipos de sombreamentos com malhas coloridas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Os resultados para teor de óleo essencial de *P. neochilus* sugerem que a qualidade de luz não influenciou a produção do metabólito secundário, e sim, a intensidade luminosa. Amaral (2007) relatou que não houve influência da intensidade, tampouco da qualidade espectral, nos teores de óleo essencial de *Mentha suaveolens*. O estudo de Martins (2006) com *Ocimum gratissimum* L. indicou que o teor de óleo essencial nas plantas foi influenciado pela qualidade de luz, em que as plantas cultivadas sob telado azul foram superiores aos demais tratamentos (pleno sol, telado vermelho e telado azul), sendo verificada uma produção de 142% a mais de óleo em relação ao tratamento com as menores médias, pleno sol. Chagas (2007) constatou que a diminuição nos níveis de irradiância sobre plantas de *Mentha arvensis* L. ocasionou a redução nos teores de óleo essencial. Estes resultados apontam que não há um consenso em relação às respostas apresentadas pelas plantas medicinais quanto à produção de óleo essencial, o que pode dever-se à grande variabilidade entre as espécies que respondem aos estímulos ambientais de forma distinta.

Além da influência da luz, Amaral (2005) sugere que a diminuição nos teores de óleo essencial em seu estudo com *Chamomila recutita*, poderia estar relacionada à redução na densidade dos tricomas glandulares. Em *P. neochilus* esta relação também ocorreu e a média do número total de tricomas glandulares nos tratamentos (Tabela 3) aumentou à medida que o teor de óleo tornou-se maior. No entanto, mais estudos seriam necessários para confirmar esta relação.

Em relação à composição química das amostras de óleo extraído das folhas, os resultados indicaram algumas diferenças entre os constituintes verificados (Tabela 4).

TABELA 4 Composição química e porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de plantas de *Plectranthus neochilus* Schlechter em função dos tipos de sombreamentos com malhas coloridas. UFLA, Lavras, MG, 2008.

IK	Composto	Pleno sol	Azul	Vermelho	Preto
		(%)			
1102	Linalol	-	1,31	1,15	-
1177	Mentol	1,79	3,70	3,51	1,29
1198	Metil Chavicol	-	2,69	2,59	1,48
1419	β -Cariofileno	0,39	-	-	1,74
1474	γ -Muuroleno	-	-	-	0,26
1480	Germacreno-D	-	-	-	0,90
1495	Epi-Cubebol	2,24	2,77	2,52	2,39
1512	γ -Cadineno	0,50	7,17	6,93	1,47
1515	Cubebol	4,97	-	-	4,35
1518	δ -Cadineno	2,31	-	-	3,79
1521	Z-Calameno	-	-	-	0,55
1561	E-Nerolidol	5,10	3,78	3,99	2,30
1577	Espatuleno	-	-	-	1,00
1582	Óxido de Cariofileno	47,65	42,36	46,45	47,87
1603	β -Oplopenona	-	-	-	0,85
1610	Epóxido de Humuleno II	1,61	0,77	0,75	1,82
1628	1-Epi-Cubenol	2,25	1,52	1,36	1,68
1643	Cubenol	4,52	4,49	5,04	3,57
1655	α -Cadinol	3,73	4,45	4,62	3,21
1670	14-Hidroxi-9- E-Cariofileno	12,90	12,05	13,96	4,66
-	Não identificados	10,04	12,94	7,13	14,82
-	Identificados	89,96	87,06	92,87	85,18

Houve predominância de sesquiterpenos em relação aos monoterpenos em todas as amostras analisadas. Estes resultados são contrários ao que preconiza Simões & Spitzer (2003), pois esses autores citam que os compostos terpênicos mais freqüentes nos óleos voláteis são os monoterpenos (cerca de 90% da composição dos óleos) e os sesquiterpenos.

Foram identificados apenas dois monoterpenos: mentol e linalol. A porcentagem relativa do mentol nos tratamentos sob malhas coloridas foi

praticamente o dobro da verificada nas amostras do óleo de plantas de *P. neochilus* cultivadas a pleno sol e sob malha preta. O linalol foi encontrado apenas nos tratamentos sob malhas azul e vermelha, enquanto que o mentol ocorreu em todos os tratamentos. Este resultado sugere que, possivelmente, o ambiente de cultivo enriquecido em comprimentos de onda na faixa do azul e do vermelho do espectro induziu a produção de monoterpenos nos ambientes com malhas coloridas.

A redução da irradiância proporcionada pela malha preta, além de ter induzido a formação de maior número de tricomas, promoveu maior número de compostos sintetizados, indicando que essa condição ambiental foi a mais apropriada, dentre as testadas, para o cultivo de plantas de *P. neochilus* tendo em vista a produção de óleo essencial.

Entretanto, o composto majoritário foi o mesmo para todas as condições de cultivo, ou seja, as plantas de *P. neochilus* produziram grandes quantidades de óxido de cariofileno, mais de 40% dos constituintes identificados. Nas análises da composição química do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, Martins (2006) citou que não houve influência da qualidade espectral sobre esta variável.

Castro et al. (2002) citam que o conteúdo dos compostos secundários nas plantas é o resultado do balanço entre a sua formação e a transformação resultante do crescimento da planta devido, principalmente, a três fatores: genético, ambiental e técnicas culturais utilizadas. A composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, entre outros fatores, em função das condições de cultivo (Simões & Spitzer, 2003).

6 CONCLUSÕES

As plantas de *P. neochilus* possuem alta plasticidade fenotípica na anatomia foliar sob as condições de cultivo utilizadas.

O teor de óleo essencial é maior nos ambientes que promovem sombreamento.

A composição química do óleo essencial varia em função do ambiente de cultivo.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro e à empresa Polysack Plastic Industries[®] por ter-nos cedido as malhas utilizadas para o desenvolvimento desta pesquisa.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Carol Stream IL: Allured, 2001. 456 p.

AMARAL, T. A. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de *Mentha suaveolens* Ehrh., cultivada sob telas coloridas**. 2007. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

AMARAL, W. **Desenvolvimento de camomila e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ASCENSÃO, L.; MOTA, L.; CASTRO, M. de M. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. **Annals of Botany**, London, v. 84, p. 437-447, 1999.

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

CASTRO, D. M.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Biomass production and chemical composition of *Lippia alba* (mill.) in leaves on different plant parts in different seasons. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 569, p. 11-115, 2002.

CHAGAS, J. H. **Propagação, adubação orgânica, níveis de irradiância, idade e época de colheita e armazenamento na produção de biomassa seca e teor de óleo essencial em plantas de *Mentha arvensis* L.** 2007. 135 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CODD, L. E. Lamiaceae. In: LEISTNER, O. A. (Ed.). **Flora of southern Africa**. Pretoria: Botanical Research Institute Department of Agriculture and Watter Suply, 1985. v. 28, part 4, p. 137-172.

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

COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P. P.; BERTOLUCCI, S. K.; ROSAL, L. F. Cultivo de elixir paregórico em diferentes condições de espectro de luz no crescimento e desenvolvimento. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 19., 2006, Salvador. **Anais...** Salvador: UFBA, 2006.

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

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 549-556, out./dez. 2007.

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2.ed. New York: J. Willey, 1977. 550 p.

ESPINDOLA JÚNIOR, A. **Morfologia e anatomia foliar de duas espécies medicinais (*Mikania glomerata* spreng. – Asteraceae e *Bauhinia forficata* link. - Leguminosae) associadas à erva mate, sob diferentes condições de luminosidade.** 2006. 82 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FAHN, A. Structure and function of secretory cells. In: HALLAHON, D. L.; GRAY, J. C. (Ed.). **Advances in botanical research: incorporating advances in plant pathology.** London: Academic, 2000. p. 37-75.

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

LABORIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO-LABORIAU, M.I. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.33, n.2, p.237-252, 1961.

LEE, D. W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMED, 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, Apr. 2000.

LEITE, C. A.; ITO, R. M.; GERALD, L. T. C.; FAGNANI, M. A. **Manejo do espectro de luz através de malhas coloridas visando o controle do crescimento e florescimento de *Phalaenopsis* sp.** 2002. Disponível em: <<http://www.polysack.com/index.php>>. Acesso em: 19 nov. 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa: Plantarum, 2002. 544 p.

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

MARTINS, J. R. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial de *ocimum gratissimum* L.** 2006. 187 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MATTANA, R. S.; MING, L. C.; MARCHESI, J. A.; MARQUES, M. O. M. Biomass production in plants of *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. submitted to different shade levels. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, p. 83-85, 2006. Edição Especial.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon, 1950. 1500 p.

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

OLIVEIRA, M. I. **Crescimento, características estruturais e teor de óleo essencial de *Artemisia vulgaris*, submetidas a diferentes espectros luminosos**. 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RODRIGUES, V. E. G. **Etnobotânica e florística de plantas medicinais nativas de remanescentes de floresta estacional semidecidual na região do Alto do Rio Grande, MG**. 2007. 149 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SATIL, F.; KAYA, A. Leaf anatomy and hairs of Turkish *Satureja* L. (Lamiaceae). **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 49, n. 1, p. 67-78, 2007.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomic features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown 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.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p. 467-496.

WASICKY, R.; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339-405, 1969.