



THAÍS CRISTINA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR E
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Melissa officinalis* L. SOB
OMISSÃO DE NUTRIENTES E EM
CONSÓRCIO COM *Achillea millefolium* L.**

LAVRAS – MG

2015

THAÍS CRISTINA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Melissa officinalis* L. SOB OMISSÃO DE
NUTRIENTES E EM CONSÓRCIO COM *Achillea millefolium* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

Coorientador

Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

**LAVRAS - MG
2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Thaís Cristina.

Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob omissão de nutrientes e em consórcio com *Achillea millefolium* L / Thaís Cristina Silva. – Lavras: UFLA, 2015.

98 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico) –Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Suzan Kelly Vilela Bertolucci.

Bibliografia.

1. melissa. 2. mil folhas. 3. elemento faltante. 4. consorciação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

THAÍS CRISTINA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA, TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Melissa officinalis* L. SOB OMISSÃO DE
NUTRIENTES E EM CONSÓRCIO COM *Achillea millefolium* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 23 de fevereiro de 2015.

Dra. Amanda Azarias Guimarães UFLA

Dr. Felipe Campos Figueiredo IFSMG

Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto UFLA

Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci
Orientadora

**LAVRAS - MG
2015**

AGRADECIMENTOS

Agradeço, sobretudo, a Deus e ao meu Anjo da Guarda, sempre presentes em minha vida, iluminando-me e colocando-me no melhor caminho a seguir, mostrando que sempre é possível acreditar e ter esperança.

Agradeço aos meus pais, irmãos e familiares, pela compreensão, incentivo, amor e apoio em todas as etapas vividas.

Agradeço à Universidade Federal de Lavras e ao Programa de pós-graduação pela oportunidade da realização do Mestrado.

Agradeço a todos os professores que passaram por mim, em especial, aos orientadores Suzan e Zé Eduardo, pelos ensinamentos e oportunidade de experiência na área.

Agradeço a amigos e colegas, fundamentais na minha vida. Aos colegas do Mestrado e aos de Plantas Medicinais que de uma forma ou outra fizeram parte desta etapa, pela diversa ajuda no projeto e pelo bom convívio.

Agradeço aos funcionários do Horto, que foram essenciais para a realização dos experimentos e que sempre estavam dispostos a me ajudar. E aos demais funcionários da UFLA.

Agradeço à Capes e demais instituições de fomento, pela concessão de bolsa de estudo e financiamento em projetos de pesquisas.

RESUMO GERAL

O cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares e de óleo essencial está em expansão. A produção de óleo essencial pode ser influenciada por diversos fatores, como nutrição mineral e os sistemas de cultivos adotados. Faz-se necessário o aprimoramento de técnicas de cultivo e conhecimento sobre a exigência nutricional no incremento do acúmulo de biomassa, na produção e composição química dos óleos. A *Melissa officinalis* L. é uma planta em expansão no mercado, essa possui um baixo teor de óleo essencial o que torna necessário estudos para avaliar seu crescimento vegetativo, além de fatores que elevem sua produção. O consórcio com a *Achillea millefolium* L. pode contribuir no aumento da produção de metabólitos secundários. Por isso, objetivou-se avaliar a influência dos nutrientes no crescimento, produção e composição química do óleo essencial em *M. officinalis* L. e da consorciação com *A. millefolium* L. Foi realizado o consórcio entre *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L., disposto em quatro tratamentos: monocultivo da *M. officinalis* L., monocultivo da *A. millefolium* L. e os cultivos consorciados, em delineamento em blocos casualizados com sete repetições. Foram avaliados nove tratamentos com omissões de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn e Completo, com quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado, conduzidos sob a técnica de elemento faltante em solução nutritiva de Hoagland & Arnon em cultivo hidropônico na *M. officinalis* L.. Foi avaliado nos experimentos: o crescimento vegetativo (biomassa seca, pigmentos fotossintéticos e área foliar), produção e análise química do óleo essencial (fração volátil e análise qualitativa e quantitativa por cromatografia gasosa). A ordem crescente de limitação dos nutrientes para o crescimento vegetativo é N=Fe >K=Ca=P >Zn >S >Mg, e para produção do óleo é N=Fe >S=Ca >Zn=P=K >>Mg. O cultivo consorciado *M. officinalis* L. com *A. millefolium* L., proporciona aumento no teor dos óleos essenciais, porém uma menor produção de matéria seca da *M. officinalis* L. e não interfere na composição química do óleo essencial. A omissão de nutrientes essenciais em *M. officinalis* L. interfere na produção de biomassa, teor e composição química do óleo, principalmente pelos nutrientes N, Fe, Ca e S. A omissão de Mg aumenta a clorofila, carotenóides e o teor de óleo essencial. Assim, pudemos estabelecer uma técnica de produção e um manejo adequado as exigências nutricionais interligando a produção e o teor de óleo essencial.

Palavras-chave: Melissa. Mil folhas. Elemento faltante. Consorciação.

ABSTRACT

The cultivation of medicinal, aromatic and herb plants and also of essential oil has been expanding. The essential oil production can be influenced by several factors, such as mineral nutrition and the adopted cultivation systems. It is necessary to promote the improvement of cultivation techniques and knowledge about the nutritional requirement in the increase of biomass accumulation, in the production and chemical composition of the oils. *Melissa officinalis* L. is an expanding plant in the market, it has a low essential oil content which makes it necessary to develop studies to evaluate its vegetative growth, as well as factors that increase its production. The consortium with *Achillea millefolium* L. can contribute to the production of secondary metabolites increase. Therefore, the objective of this work was to evaluate the influence of nutrients in the growth, production and chemical composition of essential oil in *M. officinalis* L. and also of the intercropping with an *A. millefolium* L. The consortium of *M. officinalis* L. and *A. millefolium* L. was done, arranged in four treatments: monocrop of *M. officinalis* L., *A. millefolium* L. monocrop, and the intercropping, in a randomized block design with seven replicates. Nine treatments with omissions of N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn and Complete, with four replications in a randomized design, conducted under the missing element technique in the Hoagland & Arnon's nutrient solution in hydroponic cultivation in *M. officinalis* L. were analyzed. In the experiments were evaluated: the vegetative growth (dry biomass, photosynthetic pigments and leaf area), production and essential oil chemical analysis (volatile fraction and qualitative and quantitative analysis by gas chromatography). The increasing order of nutrient limitations for vegetative growth is $N = Fe > K = Ca = P > Zn > S > Mg$, and for oil production it is $C = Fe > S = Ca > Zn = P = K >> Mg$. The intercropping *M. officinalis* L. and *A. millefolium* L. allows an increase in the essential oils content, but a lower dry matter production of *M. officinalis* L. and it does not interfere in the chemical composition of the essential oil. The omission of essential nutrients in *M. officinalis* L. interferes with the production of biomass, content and chemical composition of the oil, especially because of the nutrients N, Fe, Ca and S. The omission of Mg increases the chlorophyll, carotenoids, and the content of essential oil. Thereby, we can establish a production technique and a proper nutritional requirement management by linking production and the essential oil content.

Key-words: Lemon balm. Yarrow. Missing element. Intercropping.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1

- Figura 1 (A) Planta *Melissa officinalis* L., (B) Detalhe morfológico da folha. Espécie pertencente ao Horto de Plantas Medicinais do DAG/UFLA, Lavras, 2015. (C) flores da *M. officinalis* L. Fonte: <www.plantasmedicinais.net>..... 13
- Figura 2 Estrutura química de constituintes presentes no óleo essencial da *Melissa officinalis* L..... 16
- Figura 3 (A) Planta *Achillea millefolium* L. e (B) Detalhe morfológico da folha e (C) flores da *A. millefolium* L. Fonte: Espécie pertencente ao Horto de Plantas Medicinais do DAG/UFLA, Lavras, 2015..... 18
- Figura 4 Estrutura química de constituintes presentes no óleo essencial da *Achillea millefolium* L..... 19

Capítulo 2

- Figura 1 Temperaturas máximas e mínimas; umidade relativa (UR) média; insolação e precipitação acumuladas para os meses de novembro de 2013 a março de 2014. UFLA, Lavras. 2015..... 42
- Figura 2 Croqui e plantas do experimento após 40 dias do plantio. (A) Monocultivo da *A. millefolium* L., (B) Monocultivo da *M. officinalis* L., (C) cultivo consorciado entre *M. officinalis* L. (m) e *A. millefolium* L. (a). Lavras, 2015..... 44

Capítulo 3

- Figura 1 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do nitrogênio. Lavras, 2015..... 68
- Figura 2 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do ferro. Lavras, 2015..... 70
- Figura 3 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do potássio. Lavras, 2015..... 72

Figura 4	Sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do fósforo. Lavras, 2015.....	73
Figura 5	Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do cálcio. Lavras, 2015.....	75
Figura 6	Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do magnésio. Lavras, 2015.....	77
Figura 7	Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do enxofre. Lavras, 2015.....	78
Figura 8	Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do zinco. Lavras, 2015.....	79
Figura 9	Visão geral das plantas de <i>M. officinalis</i> L. sob omissão de nutrientes. (a) Completo, -N; (b) Completo, -K; (c) Completo, -P; (d) Completo, -Ca; (e) Completo, -Mg; (f) Completo, -S; (g) Completo, -Fe; (h) Completo, -Zn. Lavras, 2015.....	81
Figura 10	Porcentagem relativa de citral (Neral+Geranial) em relação à ausência de nutrientes e o completo. Lavras, 2015.....	86

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1	Valores médios da área foliar ⁽¹⁾ , da matéria seca da parte aérea, e as estimativas dos contrastes ortogonais do cultivo solteiro e consorciado, em campo, de <i>M. officinalis</i> L. e <i>A. millefolium</i> L. Lavras, 2015.....	47
Tabela 1	Valores médios da quantificação dos pigmentos fotossintéticos e as estimativas dos contrastes ortogonais do cultivo solteiro e consorciado, em campo, de <i>M. officinalis</i> L. e <i>A. millefolium</i> L. Lavras, 2015.....	48
Tabela 1	Valores médios do teor e rendimento do óleo essencial e as estimativas dos contrastes ortogonais do cultivo solteiro e consorciado, em campo, de <i>M. officinalis</i> L. e <i>A. millefolium</i> L. Lavras, 2015.....	49
Tabela 1	Porcentagem relativa dos compostos do óleo essencial de folhas de <i>Melissa officinalis</i> L. sob cultivo solteiro e consorciado. Lavras, 2015.....	51
Tabela 1	Porcentagem relativa dos compostos dos óleos essencial de folíolos de <i>A. millefolium</i> L. sob cultivo solteiro e consorciado. Lavras, 2015.....	52

Capítulo 3

Tabela 1	Valores médios da matéria seca e do teor de óleo essencial da <i>M. officinalis</i> sob omissão de nutrientes em cultivo hidropônico ⁽¹⁾ . Lavras, 2015.....	82
Tabela 2	Valores médios da quantificação dos pigmentos fotossintéticos da <i>M. officinalis</i> L. sob omissão de nutrientes em cultivo hidropônico ⁽¹⁾ . Lavras, 2015.....	84
Tabela 3	Teor e composição química do óleo essencial de folhas de <i>M. officinalis</i> L. cultivada sob omissão de nutrientes. Lavras, 2015.....	87
Tabela 4	Compostos voláteis das folhas de <i>M. officinalis</i> L. cultivada sob omissão de nutrientes. Lavras, 2015.....	91

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 Introdução geral	111
1	INTRODUÇÃO	111
2	REFERENCIAL TEÓRICO	113
2.1	Aspectos agronômicos, químico-biológicos e de mercado	113
2.1.1	<i>Melissa officinalis</i> L.....	113
2.1.2	<i>Achillea millefolium</i> L.	116
2.2	Consórcio entre plantas e a influência no teor de óleo essencial.....	119
2.3	Nutrição mineral de plantas medicinais	22
	REFERÊNCIAS.....	26
	CAPÍTULO 2 Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. em monocultivo e consorciado com <i>Achillea millefolium</i> L.....	38
1	INTRODUÇÃO	40
2	MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1	Condução, colheita e análise do crescimento vegetativo	43
2.2	Análise estatística	44
2.3	Extração e análises químicas dos óleos essenciais.....	45
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.1	Crescimento e produção de óleo essencial.....	46
3.2	Análises químicas do óleo essencial	50
4	CONCLUSÕES	53
5	AGRADECIMENTOS	53
	REFERÊNCIAS.....	54
	CAPÍTULO 3 Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de <i>Melissa officinalis</i> L. sob omissão de nutrientes.....	59
1	INTRODUÇÃO	61
2	MATERIAL E MÉTODOS	62
2.1	Condução, colheita e análise vegetativa	62
2.2	Análises quantitativas dos pigmentos fotossintetizantes	63
2.3	Extração e análises químicas do óleo essencial	64
2.5	Análises estatísticas	66
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.1	Sintomas visuais de deficiência nutricional	67
3.2	Análises de crescimento e teor do óleo essencial	80
3.3	Teores de pigmentos fotossintetizantes	83
3.4	Análises químicas do óleo essencial	84
3.5	Análises químicas da fração volátil	89
4	CONCLUSÕES	93
5	AGRADECIMENTOS	93
	REFERÊNCIAS.....	94

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

As produções de plantas medicinais, aromáticas e condimentares (PMAC) estão em expansão no mercado, resultado do aumento do interesse pelo consumo de medicamentos à base de plantas e complementos alimentares (CORRÊA et al., 2003). Estima-se que, no Brasil, o mercado de fitoterápicos movimenta em torno de 160 milhões de reais/ano (EMBRAPA, 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde - OMS, 80% da população mundial faz uso de medicamentos derivados de plantas medicinais.

Outra fatia de consumo é a comercialização de óleos essenciais. O mercado brasileiro de óleos essenciais tem lugar de destaque ao lado dos países, Índia, China e Indonésia, considerados os quatros grandes produtores mundiais de óleo essenciais (BIZZO et al., 2009).

A produção e composição química de metabólitos secundários são influenciadas por condições edafoclimáticas, e conseqüentemente, pode ser influenciada pelas técnicas de cultivo adotadas e pela nutrição mineral (MONTANARI, 2002; MORAIS, 2009; SALES et al., 2009).

O conhecimento da nutrição mineral de plantas medicinais e aromáticas é um dos fatores mais importantes; a deficiência nutricional causa estresse e interfere diretamente na produção de biomassa e de óleos essenciais (MATOS, 1989; BIASI et al., 2009).

Pesquisas demonstram que a técnica de consorciação entre plantas incrementam na produção de princípios ativos (OLIVEIRA et al., 2011). Como a *Achillea millefolium* L. que cultivada em consórcio com planta aromática, pode influenciar na fisiologia e no aumento do rendimento e teor de óleo essencial (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR, 2006; SANTOS et al., 2009; BRANDÃO et al., 2014;).

A *A. millefolium* L., conhecida pelos nomes populares mil folhas, milefólio e atoveram, possui efeitos terapêuticos, como os principais: analgésica, anti-inflamatória, diurética e antiespasmódica. É amplamente utilizada pela população brasileira e está consta na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS - RENISUS (BRASIL, 2014; PINTO et al., 2014).

A *M. officinalis* L., também chamada de melissa ou erva cidreira verdadeira, conhecida pelas suas ações fitoterápicas, principalmente, o efeito carminativo, usos na alimentação e em indústrias cosméticas (MONTANARI JÚNIOR, 1999). E consta na lista de espécies medicinais regulamentadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010).

Por isso, objetivou-se avaliar o crescimento, a produção e composição química do óleo essencial de *M. officinalis* L., empregando a técnica do elemento faltante e em consórcio com *A. millefolium* L.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos agronômicos, químico-biológicos e de mercado

2.1.1 *Melissa officinalis* L.

A *Melissa officinalis* L. (Figura 1) é uma planta originária da região mediterrânea no Sul da Europa. Da família Lamiaceae, conhecida popularmente por melissa, erva cidreira brasileira e melitéia, é uma planta perene, herbácea, com o caule quadrangular, ereto e piloso; possui folhas simples, opostas, ovais, verdes claras, com bordos dentados-crenados (BLANK et al., 2005). A altura varia de 40 a 80 cm, podendo chegar a 100 cm de altura. Suas flores possuem coloração esbranquiçada ou amarelada, podendo se tornar rosada com o passar do tempo, reunidas em fascículos de duas a seis unidades (LORENZI; MATOS, 2002).

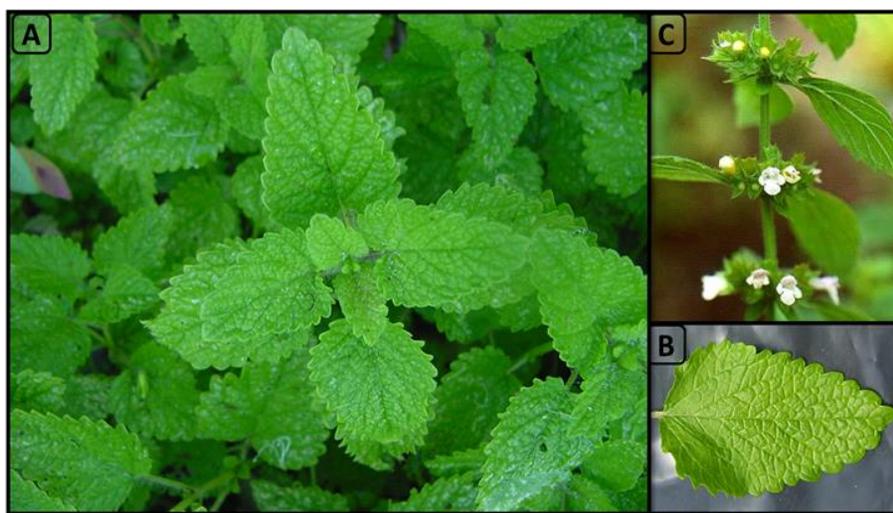


Figura 1 (A) Planta *Melissa officinalis* L., (B) Detalhe morfológico da folha. Espécie pertencente ao Horto de Plantas Medicinais do DAG/UFLA, Lavras, 2015. (C) flores da *M. officinalis* L. Fonte: <www.plantasmedicinais.net>. A espécie é sensível ao frio e ao calor excessivo, estando melhor

adaptada a regiões de clima mais ameno. Para seu cultivo, requer solos férteis, ricos em matéria orgânica, úmido e bem drenado (LORENZI; MATOS, 2002). Nas condições climáticas do Brasil, a espécie não produz sementes viáveis, no entanto, são encontradas sementes importadas no mercado (WANDERER et al., 2007). A propagação é preferencialmente vegetativa, através de estacas apicais ou nodais, ou divisão de estolões. Seu plantio deve ocorrer nos meses de setembro a outubro, e seu ciclo de produção varia de 90 a 120 dias após o plantio (MAGALHÃES, 1998).

A planta *M. officinalis* L. é indicada e usada como calmante, digestiva, carminativa, antiespasmódica, diaforética, antidepressiva e vermífuga (REIS et al., 2009). É uma das espécies medicinais aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010). Usada para o tratamento de insônia, problemas nervosos e feridas e atua ainda como hipotensor. É explorada comercialmente pelas indústrias de cosméticos para a fabricação de xampus, sabonetes e hidratantes e pela indústria alimentícia para a produção de licores devido ao aroma e sabor agradável atribuídos a presença de óleos essenciais (MONTANARI JÚNIOR, 1999; MARTINS et al., 2000).

Os óleos essenciais são definidos como produtos obtidos de partes das plantas, através da destilação por arraste a vapor d'água ou obtidos por prensagem a frio dos pericarpos de frutos cítricos (ISO, 1997). São misturas complexas e voláteis, podendo conter mais de 100 constituintes em sua composição química, com dois ou três constituintes majoritários. São responsáveis pela ação fitoterápica. A composição química é constituída principalmente por fenilpropanóides e terpenos. Desempenham diversas funções como semioquímicos, na comunicação entre plantas; proteção contra microorganismos e herbívoros; atração de insetos predadores e polinizadores (MAFFEI et al, 2011, TAIZ; ZEIGER, 2013).

A *M. officinalis* L. possui um odor semelhante ao do limão, devido a presença em seu óleo essencial de citral, uma mistura isomérica composta pelos aldeídos terpênicos, o neral (β – citral) e geranial (α – citral), que se torna mais intenso depois que a planta é seca (REIS et al., 2009). Os teores desse óleo essencial são habitualmente muito baixos, em torno de 0,02 a 0,40% (PAVIANI, 2004; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Esta intensidade pode variar conforme a exposição da planta a condições ambientais adversas, que pode ocasionar diminuição do teor de óleo na planta (COLUSSI et al., 2011).

Os óleos essenciais da *M. officinalis* L. estão presentes nos tricomas secretores das folhas; e a principal classe de compostos que formam o óleo essencial são os terpenos, originado da rota do ácido mevalônico; com destaque aos majoritários geranial (α -citral) e neral (β -citral) (Figura 2) (HAY & WATERMAN, 1993; COLUSSI, et al., 2011).

O óleo da *M. officinalis* L. apresenta também outros compostos em menor quantidade como o citronelal, β -cariofileno, citronelol, limoneno e linalol, entre outros. Também possui as classes taninos, ácidos triterpenóides (ursólico e oleânico), sesquiterpenos (cariofileno), flavonóides e substâncias amargas, bem como glicosídeos, mucilagens, alcalóides e resinas (MAY et al., 2008; COLUSSI, et al., 2011). A estrutura química de alguns compostos do óleo essência está representada na Figura 2.

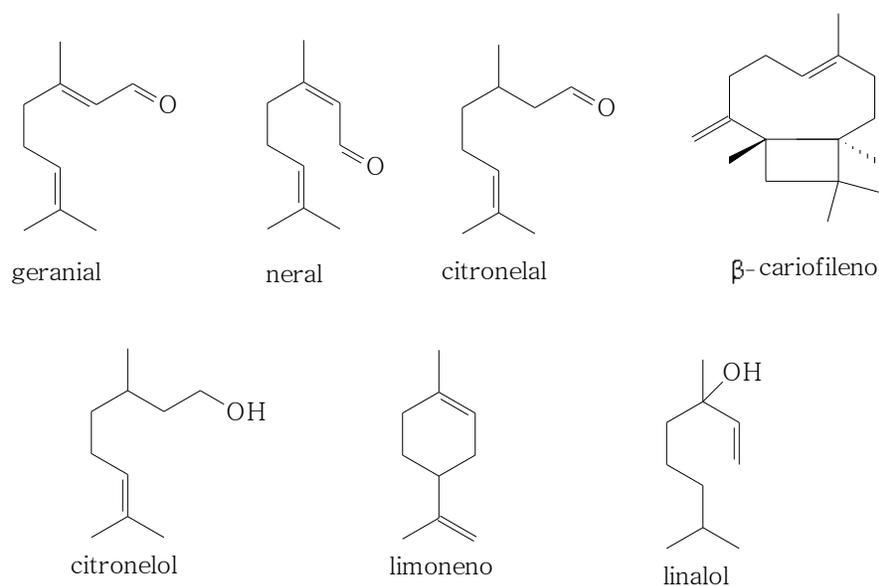


Figura 2 Estruturas químicas de constituintes presentes no óleo essencial da *Melissa officinalis* L.

A *M. officinalis* L., bem como outras espécies vegetais terapêuticas, possui grande importância econômica e valor no mercado interno de chás. Em plantios comerciais, chega a produzir 1.800 kg de folhas secas/ha/ano (MARTINS et al., 2000), sendo o quilograma de folhas secas comercializado a R\$11,00 (BLANK et al., 2005), e cada 10 mL do óleo essencial são comercializados a R\$23,50. Tornando-se uma alternativa de renda para o agricultor brasileiro (MARTINS et al., 2000). A melissa, por ser uma cultura de fácil manejo e não exigir grandes investimentos, adapta-se muito bem à pequena propriedade, podendo ser mais uma alternativa para agricultura familiar (MORAES, 2000).

2.1.2 *Achillea millefolium* L.

A *Achillea millefolium* L., da família Asteraceae, é uma planta com origem na Europa e na Ásia Ocidental e amplamente presente na flora brasileira (CANDAN et al., 2003; SALVAGNINI et al., 2006; LOPEZ-LAZARO, 2009). O nome do gênero *Achillea*, deriva provavelmente do herói grego Achilles, que utilizava a planta para tratar as feridas de seus soldados. É considerada a espécie mais conhecida deste gênero, é cultivada em regiões de climas temperados a subtropicais (CHANDLER, 1989).

Conhecida pelos nomes populares mil folhas, milefólio ou atroveram, a *A. millefolium* L., retratada na Figura 3, é uma planta herbácea, perene, de 30 a 50 cm de altura, rizomatosa, com caules duros e eretos, entouceirada. As folhas são verde escuras, aromáticas, compostas, divididas em muitos segmentos, aparentando ter mil folhas (MARTINS et al., 2000; LORENZI; MATOS, 2002). Suas flores são pequenas e em capítulos, com coloração branca ou levemente rosada. É uma planta de clima subtropical, com boa resistência à seca (SOUZA et al., 2005). Sua propagação, comercialmente, é por estacas ou divisão de touceiras, na época da primavera, em meados do mês de setembro (CORRÊA et al., 2003).

A. millefolium L. é usada para várias finalidades, tanto como uma planta ornamental, como planta medicinal e na medicina homeopática, para uma série de finalidades (SALVAGNINI et al., 2006). Também é utilizada na área cosmética, por seu extrato ter potencial como um fotoprotetor (ROSA et al., 2008). No Brasil é amplamente utilizada pela população e consta na Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse do SUS – RENISUS é usada principalmente pela ação anti-inflamatória, analgésica e antiespasmódica (KOCEVAR, et al., 2008; BRASIL, 2014; FERRAZ et al., 2014). Possui também atividades microbianas, antioxidante, antitumoral, antifúngica, é utilizada para tratamento de infecções respiratórias, febre, dor reumática, adstringente, diurética e cicatrizante

(LOPES, 2003, 2005).



Figura 3 (A) Planta *Achillea millefolium* L. e (B) Detalhe morfológico da folha e (C) flores da *A. millefolium* L. Fonte: Espécie pertencente ao Horto de Plantas Medicinais do DAG/UFLA, Lavras, 2015.

O óleo essencial da *A. millefolium* L. é composto por monoterpenos (30-80%), sesquiterpenos (8-62%) e em menor quantidade por outros compostos (1-3%), como álcoois, ésteres, aldeídos e norcarotenóides (HOFMANN et al., 1992; KINDLOVITS; NÉMETH, 2012). Os compostos majoritários encontrados no óleo essencial da *A. millefolium* L. são os: camazuleno (Figura 4), sendo um composto resultado da transformação de sesquiterpenos azulênicos, no momento da hidrodestilação (RAAL et al., 2012), e é responsável pela coloração azul do óleo. Possui valor comercial no mercado de óleos essenciais (NETTO; RAFAELLI, 2004; CASTRO et al., 2006). Também apresenta outros compostos, como germacreno-D, cineol, borneol, cânfora, α e β -pineno, β -cariofileno, sabineno (SALVAGNINI et al., 2006; RAAL et al., 2012).

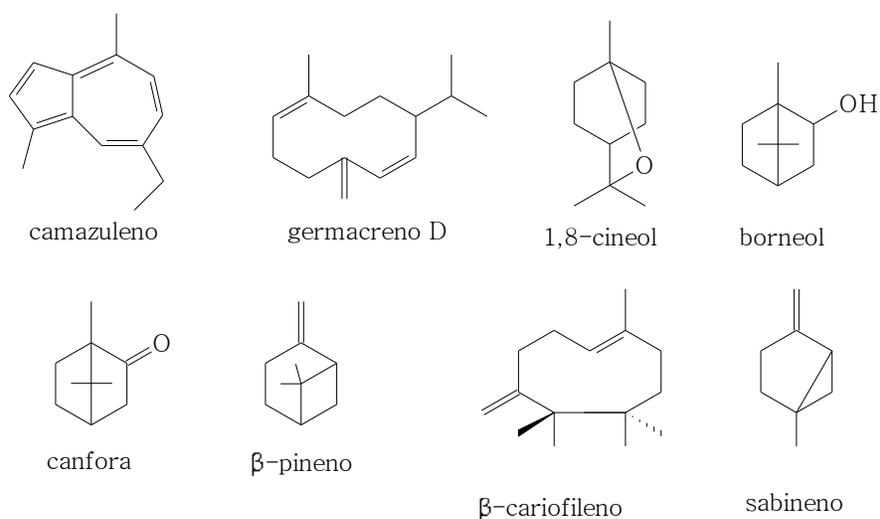


Figura 4 Estruturas químicas de constituintes presentes no óleo essencial da *Achillea millefolium* L.

Algumas atividades terapêuticas, como anti-inflamatória e antiespasmódicas são atribuídas principalmente ao camazuleno e flavonóides entre outros compostos (CHANDLER, 1989; RAAL et al., 2012).

O teor de óleo essencial da *Achillea millefolium* L. contém de 0,2-1% de óleo essencial na planta, e a composição química e a intensidade dos constituintes químicos do óleo extraídos das folhas ou flores é influenciado pela localização na planta e da variação genética da mesma (RAAL et al., 2012).

2.2 Consórcio entre plantas e a influência no teor de óleo essencial

O consórcio pode ser definido como sistemas de cultivo em que há o crescimento simultâneo de duas ou mais espécies de plantas na mesma área, permitindo a interação biológica entre elas (GAO et al., 2009; GLIESSMAN, 2001; REZENDE, 2004). Também pode ser definido como o cultivo de duas ou mais espécies com diferentes ciclos e arquiteturas vegetativas, exploradas

concomitantemente na mesma área e num mesmo período de tempo, sendo que não necessariamente tenham sido semeadas ao mesmo tempo (SILVA; GIORDANO, 2000; BEZERRA NETO et al., 2007).

A consorciação de culturas contribui para o aumento da produtividade por unidade de área, a eficiência de uso dos recursos disponíveis, estabilidade econômica e biológica do agroecossistema, na diminuição das plantas daninhas, pragas e doenças (ALTIERI et al., 2003; HIDDINK et al., 2005; GRANGEIRO et al., 2008; WANG et al., 2014).

O consórcio é visto principalmente em pequenas propriedades, especialmente nos países tropicais (ALTIERI et al., 2003; SOBKOWIC; TENDZIAGOLSKA, 2005). Por utilizarem nível tecnológico mais baixo, procuram aumentar os lucros, o melhor aproveitamento dos insumos e da mão de obra e tratos culturais. Sendo uma forma de aumento da produtividade e rentabilidade por área cultivada (HEREDIA ZÁRATE et al., 2007).

Estudos sobre a consorciação de culturas estão contribuindo para elucidar as vantagens sobre o monocultivo, quanto ao aumento da produtividade das espécies vegetais (CECÍLIO FILHO et al., 2008). Muitas substâncias químicas presentes nos vegetais podem levar ao surgimento de um efeito alelopático, o qual se refere à capacidade que as plantas têm de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento de outras, por meio de substâncias que estas liberam na atmosfera, ou quase sempre no solo (MAIRESSE et al., 2007).

Pesquisas têm demonstrado que a consorciação traz diversos benefícios, assim como nas plantas medicinais e aromáticas, que podem responder a um adequado sistema de produção (LUZ et al., 2014). Já é estudado o comportamento de plantas medicinais e outras culturas, principalmente olerícolas que avaliam o efeito do consórcio entre ambas. Como, a consorciação entre manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e alface

(*Lactuca sativa* L.) (VIEIRA et al., 2012), alevante em cultivo consorciado com cebolinha (*Allium fistulosum* L.) e chicória (*Cichorium endivia* L.) (OLIVEIRA et al., 2011), melissa (*M. officinalis* L.) e alface (BRANDÃO et al., 2014) e citronela com algodoeiro colorido (*Gossypium* sp) (ROCHA et al., 2012).

Scheffer & Corrêa Júnior (2006) relatam que o método consorciado causa efeito sobre a produção de metabólitos. Isso porque os metabólitos secundários só são produzidos durante alguns estágios particulares de crescimento e desenvolvimento, em períodos de estresse e de acordo com os estímulos do ambiente, por isso a presença de outras plantas pode interferir na produção dos metabólitos secundários (MAN, 1987; MAIA, 2007). Assim, como o teor e a composição química do óleo essencial também podem depender de fatores edafoclimáticos, manejo da cultura, época da colheita e do controle genético e interações genotípicas e ambientais (SALES et al., 2009).

Devido a estes fatores, há algumas pesquisas na área de plantas medicinais e aromáticas que estudam o efeito da consorciação na biomassa e na produção de óleo essencial. Como manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e hortelã (*Mentha* sp) (MAIA et al., 2009), cálamo-aromático (*Acorus calamus* L.) e amoreira branca (*Morus alba* L.) (CHAMOLI et al., 2013), pelargônio (*Viola tricolor* L.) e alho (*Allium sativum* L.) (SINGH et al., 2013).

Pesquisas realizadas na área de consorciação de plantas medicinais e aromáticas vêm encontrando resultados em que plantas produzem uma maior quantidade de metabólitos secundários quando cultivadas em consorciação e há relatos que a *Achillea millefolium* L., quando consorciada, influencia na fisiologia, no aumento de metabólitos secundários e de teores de óleos essenciais, como numa melhoria da qualidade do mesmo. Essa influência no aumento da produção e qualidade de óleos essenciais foi visto quando a A.

millefolium L. foi plantada como bordadura perto de ervas aromática por Scheffer & Corrêa Júnior (2006). Estudos que cultivaram *A. millefolium* L em consórcio com capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC.) (SANTOS et al., 2009), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (ARASHIRO et al., 2011) e consorciação, em vasos, com melissa (*M. officinalis* L.) (BRANDÃO et al., 2014) encontraram maiores produções de óleo essencial nestas plantas.

Apesar de alguns resultados relatados nas literaturas, ainda há poucos estudos sobre o efeito da influência, tanto no teor como na qualidade do óleo essencial, em plantas quando consorciadas.

2.3 Nutrição mineral de plantas medicinais

Os elementos essenciais são definidos como componentes intrínsecos na estrutura ou metabolismo de uma planta ou cuja ausência causa anormalidades graves no crescimento e desenvolvimento (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

Os nutrientes essenciais são classificados em macronutrientes, requerido em maior quantidade pela planta, e em micronutrientes, requerido em menor quantidade. Porém a quantidade requerida pode depender da necessidade de cada planta (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os macronutrientes são o nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), e os micronutrientes são ferro (Fe), zinco (Zn), boro (B), manganês (Mn), molibdênio (Mo), cloro (Cl), cobre (Cu) e níquel (Ni). Em relação às concentrações dentro das plantas, os nutrientes podem ser classificados em quatro grupos de acordo com as funções fisiológicas e comportamento bioquímico (MARCHNER, 2012):

- 1º grupo: N e S. Estão os nutrientes que fazem parte de compostos de carbono;

- 2º grupo: P, B. Composto pelos nutrientes importantes em reações de armazenamento de energia ou na manutenção da integridade estrutural;
- 3º grupo: K, Ca, Mg, Cl, Mn. Estão os que permanecem no tecido vegetal na forma iônica e importantes funções como cofatores enzimáticos e na regulação de potenciais osmóticos;
- 4º grupo: Fe, Zn, Cu, Ni, Mo. Nutrientes com funções importantes em reações que envolvem transporte de elétrons.

Para determinar a função e limitação da planta daquele nutriente, existem técnicas como a de elemento faltante em cultivo hidropônico (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Uma das soluções nutritivas mais completas é a Solução de Hoagland & Arnon. Ela disponibiliza todos os elementos essenciais para o crescimento, sem a ocorrência de sintomas de toxidez ou estresse salino. Atualmente, há diversas adaptações desta solução adequadas a determinadas culturas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os sintomas visuais são causados por distúrbios nutricionais e são característicos de cada nutriente na planta (MALAVOLTA; 2006). Porém cada espécie apresenta necessidades específicas dos nutrientes e seus próprios sintomas característicos devido à deficiência de cada nutriente (ALVARENGA, 2013). Sendo necessário avaliar as exigências nutricionais e os sintomas em consequência destas em cada cultura. O estado nutricional altera a taxa de desenvolvimento, a intensidade de crescimento e a característica morfológica específica (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

As exigências nutricionais em plantas medicinais, aromáticas e condimentares possuem poucos estudos, principalmente sobre quais elementos limitam o crescimento e como os nutrientes afetam a boa produtividade e a produção dos metabólicos secundários (SANTOS et al., 2010; ALVARENGA, 2013).

A produção de metabólitos secundários e a qualidade de princípios ativos também estão associadas com a resposta da interação da planta com o ambiente, e esta pode ser desencadeada em condições de estresse (MARTINS et al., 2000; FREITAS et al., 2008; LEITE et al., 2012). A nutrição mineral é um dos fatores mais importantes que causam estresse e interfere diretamente no crescimento vegetativo e na produção de óleos essenciais (MATTOS, 1989; BIASI et al., 2009).

Como exemplo, pequena quantidade de Cu, Zn, Fe e Mn controlam a maior parte das atividades fisiológicas por meio da redução do nível do teor de clorofila nas folhas influenciando a capacidade fotossintética e afetando o crescimento da planta (YADEGARI; SHAKERIAN, 2014).

Os metabólitos secundários, como compostos fenólicos, em relação à disponibilidade de nutrientes no solo podem aumentar e variar entre as espécies de planta e apresentar diferentes rotas de biossíntese desses compostos (HAUKIOJA et al., 1998; BIASI et al., 2009). Geralmente, o excesso ou deficiência de nutriente provoca a situação de estresse e estimula a produção destes compostos responsáveis pelo efeito medicinal (MARTINS et al., 2000).

Os compostos fenólicos são afetados pela nutrição mineral, devido estes serem derivados da fenilalanina, cuja reação de biossíntese é catalisada pela enzima fenilalanina amônia liase - PAL (TAIZ; ZEIGER, 2013). A atividade dessa enzima é alterada por fatores ambientais, como os níveis de nutrientes presentes na planta medicinal (GERSHENZON, 1984; RUIZ et al., 1997; CAMACHO-CRISTÓBAL et al., 2002).

Os teores de K influenciam na produção de metabólitos secundários. Estudos feitos por Garlet et al. (2007) encontraram maiores teores de óleo essencial em espécies de menta (*M. arvensis* e *M. x gracilis* e *M. x piperita* var. *citrata*) com o aumento da concentração de K na solução nutritiva. Entretanto, a

deficiência em K no maracujeiro doce proporcionou aumento do princípio ativo vitexina (FREITAS et al., 2008).

Na literatura há trabalhos relacionados com nutrição mineral como em menta (*Mentha spicata* x *suaveolens*) (PICHI et al., 2012), em calêndula (*Calendula officinalis* L.) (SERRA et al., 2013), em camomila (*Matricaria chamomilla* L.) (KOVACIK; KLEJDUS, 2014).

São incipientes estudos que relacionaram a deficiência de nutrientes no crescimento vegetativo, na produção e qualidade de óleo essencial de plantas medicinais. E já se encontram na literatura pesquisas nesta área, com as plantas: mil folhas (*Achillea millefolium* L.) (ALVARENGA, 2013), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (TOUNEKTI et al., 2011), pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) e espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Schrad.) (VIÉGAS et al., 2014, 2013), nim (*Azadirachta Indica*) (SILVA et al., 2011) e em coentro (*Coriandrum sativum*) (DAFLON et al., 2014).

REFERÊNCIAS

ALTIERI, M.A.; SILVA, E.N.; NICHOLLS, C.I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 2003.

ALVARENGA, I.C.A. Lâminas de irrigação e omissão de nutrientes no cultivo *in vivo* e luz e tdz na micropropagação e constituintes voláteis de *Achillea millefolium* L. **Tese (Doutorado em Fitotecnia)** - Universidade Federal de Lavras, Departamento de agricultura. UFLA. Minas Gerais. 2013.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª Ed. Brasília. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - RDC n.10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, p.52-59. 10 mar. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - RDC n.10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, p.52-59. 10 mar. 2010.

ARASHIRO, M.P.; ZIROLDO, D.F.; YAMAGUCHI, M.U.; SARTOR, C.F.P.; PATRONI, S.M.S.; D'OLIVEIRA, P.S.; CORTEZ, L.E.R. Cultivo consorciado entre *Achillea millefolium* L. e *Rosmarinus officinalis* L. e seu efeito no rendimento do óleo essencial, biomassa e atividade antimicrobiana. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 3, p. 373-380, set/dez. 2011.

BEZERRA NETO, F.; GOMES, E.G.; NUNES, G.H.S.; BARROS JÚNIOR, A.P. Análise multidimensional de consórcios cenoura-alface sob diferentes combinações de densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1697-1704, 2007.

BIASI, L.A. et al. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca quimiotipo eugenol. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.27, n.1 p.35-39, jan. 2009.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, Vol. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BLANK, A.F.; et al. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hortelã- pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, [s.n.], p.195-198, 2005.

BRANDÃO, D.S.; SILVA, P.H.L.; JARUCHE, Y.G.; SANTOS, R.R.; MARTINS, E.R. Produção de biomassa e do rendimento do óleo essencial de melissa em cultivo solteiro e consorciado com mil - folhas e alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1513-1518, set. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. DAF/SCTIE. RENISUS. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Disponível em: <<http://www.plantasmedicinaisfitoterapia.com/mil-folhas-lefolio.html>>. Acesso em: 20/12/2014.

CAMACHO-CRISTÓBAL, J.J., ANZELLOTI, D., GONZÁLES-FONTES, A. Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, Elsevier, v.40, p.997-1002. 2002.

CANDAN, F.; UNLU, M.; TEPE, B.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A.; AKPULAT, H.A. Antioxidante and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* afan.(Asteraceae). **J. Ethnofarmacology**, v. 2-3, n.87, p. 215-20. 2003.

CASTRO, D. P.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; SANTOS, N.M. BALIZA D.P. Não preferência de Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillea Millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista**

Brasileira de Plantas Medicinais, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 27-32, 2006.

CECÍLIO FILHO, A. B. et al.. Viabilidade produtiva e econômica do consórcio entre chicória e rúcula em função da época de plantio. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 316- 320 jul./set. 2008.

CHAMOLI, M.; VARSHNEY, V.K.; SRIVASTAVA, P.K.; PANDEY, R.; DAYAL, R. Assessment of biomass yield, essential oil and β -asarone content of *Acorus calamus* L. intercropped with *Morus alba* L. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, p. 763-770. 2013.

CHANDLER, R.F. **Herbal medicine: yarrow**. Janvier, 1989.

COLUSSI, T.C.; DALMOLIN, L.F.; PACHTMANN, M.; FREITAS, G.B.L. *Melissa officinalis* L: características gerais e biossíntese dos principais metabólitos secundários. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 05, n. 02. 2011.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS L. E. M. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica**. Petrópolis, RJ: Vozes, 2003.

DAFLON, D.S.G.; FREITAS, M.S.M.; CARVALHO, A.J.C.; MONNERAT, P.H.; PRINS, C.L. Sintomas visuais de deficiência de macronutrientes e boro em coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 28-34. 2014.

EMBRAPA. Acesso ao site <www.embrapa.br> no dia 10 de novembro de 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 400 p. 2005.

FERRAZ, E.O.; BERTOLUCCI, S.K.V.; PINTO, J.E.B.P.; BRAGA, A.F.; COSTA, A.G. Organic systems in the growth and essential-oil production of the yarrow. **Revista Ciência Agronômica**, vol.45 n.1 Fortaleza. 2014.

FREITAS, M.S.M.; MONNERAT, P.H.; VIEIRA, I.J.C. Mineral efficiency in *Passiflora alata* Curtis: vitexin bioproduction. **Journal of Plant Nutrition**, v.31, p.1844-1854. 2008.

GARLET, T.A.B. et al. Crescimento e teor de óleo essencial de mentas com diferentes concentrações de potássio na solução nutritiva. **Horticultura Brasileira**, v.25 n.2, p.230-7, 2007.

GAO, Y.; DUAN, A.; SUN, J.; LI, F.; LIU, Z.; LIU, H.; LIU, Z. Crop coefficient and water-use efficiency of winter wheat/spring maize strip intercropping. **Field Crops Research**, v. 111, n. 1-2, p. 65-73, 2009.

GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In: Timmermann, B.N., Steelink, C., Loewus, F.A. (eds.). **Phytochemical adaptations to stress**, p.273-230. 1984.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentáveis**. 2 edição. Porto Alegre: UFRGS, 2001.

GRANGEIRO, L.C.; NEGREIROS, M.Z.; SANTOS, A.P.; COSTA, L.M.; SILVA, A.R.C.; LUCENA, R.R.M. Crescimento e produtividade de coentro e rabanete em função da época de estabelecimento do consórcio. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n. 1, p. 55-60. 2008.

HAUKIOJA, E.; OSSIPOV, V.; KORICHEVA, J.; HONKANEN, T.; LARSSON, S.; LEMPA, K. Biosynthetic origin of carbonbased secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization? **Chemoecology**, v.8, p.133-139. 1998.

HERDEDIA ZÁRATE, N.A. Produção da araruta `comum`, solteira e consorciada com alface e cenoura. **Acta Científica Venezolana**, v.58, n.1, p.1-5, 2007.

HAY, R.K.M.; WATERMAN, P.G. Physiology. Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production. Essex, England: Longman, **Scientific & Technical**, p. 23-46. 1993.

HIDDINK, G.A.; TERMORSSHUIZEN, A.J; RAAIJMAKERS, J.M.; Effect of mixed and single crops on disease suppressiveness of soils. **Phytopathology** St. Paul, v. 95, p. 1325-1332, 2005.

HOFMANN, L.; FRITZ, D.; NITZ, S.; KOLLMANNNSBERGER, H.; DRAWERT, F. Essential oil composition of three polyploids in the *Achillea millefolium* "complex". **Phytochemistry**. v. 31, n. 2, p. 537-542. 1992.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO. Aromatic natural raw materials – Vocabulary: ISO 9235. Genebra, 8p. 1997.

KINDLOVITS, S.; NÉMETH, É. Sources of variability of yarrow (*Achillea* SPP.) essential oil. **Acta Alimentaria**, Budapest, v. 41, n.1, p. 92-103, Sept. 2012.

KOCEVAR, N.; GLAVAC, I.; INJAC, R.; KREFT, S. Comparison of capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography for determination of flavonoids in *Achillea millefolium*. **Journal of Pharmacology Biochemistry Analytical**, v. 46, p. 609 – 614, 2008.

KOVACIK, J.; KLEJDUS, B. Induction of phenolic metabolites and physiological changes in chamomile plants in relation to nitrogen nutrition. **Food Chemistry**, 142, p. 334-341. 2014.

LEITE, G.L.D.; SILVA, F.W.S.; GUANABENS, R.E.M.; FERNANDES, L.A.; FIGUEIREDO, L.S.; SILVA, L.F. NPK and flavonoids affecting insect populations in *Dimorphandra mollis* seedlings. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.34, p.1722. 2012.

LOPES, F.C.M., et al. Avaliação da atividade imunológica de *Achillea*

millefolium L. ("milfolhas"). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13 supl 2, p.11-13, 2003.

LOPES, F.C.M., et al. Effect of the essential oil of *Achillea millefolium* L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor- α in murine macrophages. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. V.41, N.3, p.401-405, jul./set., 2005.

LOPEZ-LAZARO, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 31-59, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 544. 2002.

LUZ, J.M.Q.; SILVA, S.M.; HABBER, L.L.; MARQUEZ, M.O.M. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista brasileira de plantas medicinais**, vol. 16, n. 3. Botucatu Julho/Setembro. 2014.

MAFFEI, M.E.; GERTSCH, J.; APPENDINO, G. **Natural product reports**. Italy. 2011.

MAGALHÃES, E.R.; CASTRO, D.M. DE; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Medicinais**. Viçosa: UFS, p. 220. 1998.

MAIRESSE, L. A. S. COSTA, E.C., FARIAS, J.R., FIORIN, A.R. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.14, n.2, p. 1-12, 2007.

MAIA, J.T.L.S.; MARTINS, E.R.; COSTA, C.A.; FERRAZ, E.O.F.; ALVARENGA, I.C.A.; SOUZA JUNIOR, I.T.; VALADARES, S.V. Influência do cultivo em consórcio na produção de fitomassa e óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e hortelã (*Mentha x villosa* Huds.). **Revista brasileira de plantas medicinais**, vol. 11, n. 2, p. 137-140, Botucatu. 2009.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Editora Agronomica Ceres, São Paulo, 638 p. 2006.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1987.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Elsevier Ltd. 3ª ed. 2012.

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

MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais: aspectos agronômicos**. Brasília, DF: UNB, p. 19. 1989.

MAY, A.; BOVI, O.A.; SACCONI, L.V.; SAMRA, A.G.; PINHEIRO, M.Q. Produtividade da biomassa de melissa em função de intervalo de cortes e doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.312-315, 2008.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA – MAPA. Acesso ao site <www.org.br> em -9 de novembro de 2013.

MONTANARI JÚNIOR, I. Aspectos do cultivo comercial da *Melissa officinalis*, **Boletim Agroecológico**, v.14, n. 18, 1999.

MONTANARI, J. I. **Aspectos da Produção Comercial de Plantas Medicinais Nativas**. CPQBAUNICAMP. Campinas, SP. 2002.

MORAES, J.L.A. Potencial de Mercado para óleos essenciais de oito ervas medicinais, aromáticas e/ou condimentares (MACs). **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.18, julho. 2000.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, p. 4050-4063, 2009.

NETTO, S. P.; RAFFAELLI, G. Produção experimental de mil-folhas (*Achillea millefolium*), visando à extração de óleo essencial. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 2, n. 3, p. 27-31, jul./set., 2004.

OLIVEIRA, A.R.M.F.; JEZLER, C.N.; OLIVEIRA, R.A.; COSTA, L.C.B. Potencial alelopático, produção de biomassa e óleo essencial de alevante (*Mentha x piperita* var. *citrata* (Ehrh.) Briq.) em cultivo solteiro e consorciado com cebolinha (*Allium schoenoprasum* L.) e chicória (*Chicorium endivia* L.) **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 9, n. 4, p. 497-501, out/dez. 2011.

PAVIANI, L.C. Extração com CO₂a altas pressões e fracionamento do óleo essencial de capim-limão utilizando peneiras moleculares. **Tese (Doutorado em Agronomia)**, Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, Rio Grande do Sul. p. 245. 2004.

PICHI, D.G.; ALMEIDA, A.C.S.; JAMAMI, N.; SALVI JÚNIOR, A.; SACRAMENTO, L.V.S. Cálcio e fitorreguladores no desenvolvimento e estado nutricional de *Mentha spicata x suaveolens* cultivada em solução nutritiva. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.3, p.446-452. 2012.

PINTO, J.E.B.P.; FERRAZ, E.O.; BERTOLUCCI, S.K.V.; SILVEIRA, H.R.O.; SANTOS, A.R.; SILVA, G.M. Produção de biomassa e óleo essencial em mil folhas cultivadas sob telas coloridas. **Horticultura Brasileira**, v.32, p. 321-326. 2014.

RAAL, A.; ORAV, A.; ARAK, E. Essential oil content and composition in commercial *Achillea millefolium* L. herbs from different countries. **Journal of Essential oil Bearing Plants – JEOBP**, v. 15, p. 22-31. Estônia. 2012.

REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S; CORRÊA, R. M. Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob a influência do meio de cultura. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 331-335, 2009.

REZENDE, B.L.A. **Avaliação de produtividade e rentabilidade das culturas de pimentão, repolho, rúcula, alface e rabanete em cultivo consorciado.** (Dissertação de mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2004.

ROCHA, H.C.R.; ALVARENGA, C.D.; GIUSTOLIN, T.A.; BRANT, R.S.; SOUZA, M.D.C.; SARMENTO, H.G.S.; BARBOSA, M.G. Crescimento, produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de capim citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) em cultivo consorciado com algodoeiro colorido no semiárido mineiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, Botucatu. 2012.

ROSA, M. B. et al. Estudo espectrofotométrico da atividade foto-protetora de extratos aquosos de achillea millefolium, brassica oleracea var. capitata, cyperus rotundus, plectranthus barbatus, porophyllum ruderale (JACQ.). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 1, 2008.

RUIZ, J.M., BRETONES, G., BACHOUR, M., RAGALA, L., BELAKBIR, A., ROMERO, L. Relationship between boron and phenolic metabolism in *Tabacco* leaves. **Phytochemistry**, v.48, n.2, p.269-272. 1997.

SALES, J.F. et al. Acúmulo de massa, teor foliar de nutrientes e rendimento de óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* Epl.) cultivado sob adubação orgânica. **Bioscience Journal**, v.25, n.1, p.60-68, 2009.

SALVAGNINI, L.E. et al. Evaluation of efficacy of preservatives associated with Achillea millefolium L. extract against Bacillus subtilis. **Brazilian Journal Microbiology**, São Paulo, v. 37, n.1, p. 75-77, jan./mar. 2006.

SANTOS, A.; PADUAN, R.H.; GAZIN, Z.C.; JACOMASSI, E.; D'OLIVEIRA, P.S.; CORTEZ, D.A.G.; CORTEZ, L.E.R. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p.436-441. Abr/Jun. 2009.

SANTOS, R.C.; FILHO, A.A.M.; COSTA, H.N.R.; PANERO, F.S.; BARRETO, H.C.S.; COSTA, M.C.G.; TONINI, H.; SOUZA, R.C.P. Influência da adubação NPK no rendimento do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis*. **Orbital the electronic journal of chemistry**, V.2, n. 4, out-dez. 2010.

SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Coordenação, Maria Consolacion Udry, Nivaldo Estrela Marques e Rosa Maria Peres Kornijezuk. Brasília, DF: MAPA/SDC, 2006.

SERRA, A.P.; MARCHETTI, M.E.; VIEIRA, M.C.; ROBAINA, A.D.; VERONESI, C.O.; NASCIMENTO, J.M.; MATOS, F.; CONRAD, V.A.; MORAIS, H.S.; GUIMARÃES, F.C.N. Eficiência nutricional do Nitrogênio e produção de biomassa em *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) em condições de casa de vegetação. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.15, n.1, p.78-85. 2013.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Produção mundial e nacional**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2000.

SILVA, R.C.B.; SCARAMUZZA, W.L.M.; SCARAMUZZA, J.F. Sintomas de deficiências nutricionais e matéria seca em plantas de nim, cultivadas em solução nutritiva. **Cerne**, v. 17, n.1, p. 17-22, jan/mar, Lavras. 2011.

SINGH, M.; SINGH, U.B.; RAM, M.; YADAV, A.; CHANOTIYA, C.S. Biomass yield, essential oil yield and quality of geranium (*Pelargonium graveolens* L. Her.) as influenced by intercropping with garlic (*Allium sativum* L.) under subtropical and temperate climate of India. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 234-237, Índia. 2013.

SOBKOWICZ, P.; TENDZIAGLOSKA, E. Competition and yield in mixture of Oats and wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Oxford, v. 191, p. 377-385, 2005.

SOUZA, T.M. et al. Avaliação da atividade fotoprotetora da *Achillea*

millefolium L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V.15, N.1 p.36-38, Jan./Mar. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª Ed. Porto Alegre, 2013.

TOUNEKTI, T. et al. Ionic interactions and salinity affect monoterpene and phenolic diterpene composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 174, n. 3, p. 504-514, 2011.

VIÉGAS, I. DE J. M.; NAIFF, A.P.M.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; LOBATO, A.K. DA S.; FRAZÃO, D.A.C; CORDEIRO, R.A.M. Visual symptoms, growth and nutrients of *Alpinia purpurata* plants exposed to N, P, K, Ca, Mg and S deficiencies. **Journal of Food, Agriculture & Environment**. 9(3 e 4), p. 1048 - 1051.2011.

VIÉGAS, I.J.M.; SOUZA, G.O.; SILVA, A.F.; CARVALHO, J.G.; LIMA, M.M. Composição mineral e sintomas visuais de deficiências de nutrientes em plantas de pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.). **Acta Amazonica**, v. 43(1), p. 43-50, 2013.

VIEIRA, M.C.; CARLESSO, A.; HEREDIA ZÁRATE, N.A.; GONÇALVES, W.L.F.; TABALDI, L.A.; MELGAREJO, E. Consórcio de manjeriçã (*Ocimum basilicum* L.) e alface sob dois arranjos de plantas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, Botucatu. 2012.

YADEGARI, M.; SHAKERIAN, A. Effects of micronutrients foliar application on essential oils of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.). **Advances in Environmental Biology**, 8(4), p. 1063-1068. Iran. 2014.

WANDERER, M.; FRANKE, L.B.; BARROS, I.B.I. de. Germinação de sementes de melissa com diferentes origens, In: II Congresso Brasileiro de Agroecologia, Anais, **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.1, fev. 2007.

WANG, M.; WU, C.; CHENG, Z.; MENG, H.; ZHANG, M.; ZHANG, H. Soil Chemical Property Changes in Eggplant/Garlic Relay Intercropping Systems under Continuous Cropping. **Plos one**, v. 9, oct, China. 2014.

CAPÍTULO 2

Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em monocultivo e consorciado com *Achillea millefolium* L.

RESUMO

A *M. officinalis* L. contém baixos teores de óleo essencial e, segundo relatos etnobotânicos, a *A. millefolium* L. consorciada com outra planta aromática pode aumentar a produção de metabólitos secundários. Por isso, objetivou-se avaliar a influência da consorciação entre *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L. no crescimento e na produção de óleo essencial. O experimento foi realizado com os tratamentos, monocultivo da *M. officinalis* L., monocultivo da *A. millefolium* L. e os cultivos consorciados entre ambas as espécies. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com sete repetições. Após a colheita, foi realizada a separação de caule e folha, para a *M. officinalis* L., e, pecíolo e folíolo, para *A. millefolium* L. As plantas foram submetidas ao processo de secagem. Amostras dos materiais vegetais secos foram submetidas à hidrodestilação para extração do óleo essencial e este foi analisado por CG-DIC e CG-EM. Foi possível concluir que o cultivo consorciado com *A. millefolium* L. aumenta o teor de óleo e reduz a biomassa da *M. officinalis* L., mas não influenciou na composição química do óleo essencial.

Palavras-chaves: Melissa. Mil folhas. Consórcio. Cromatografia gasosa.

ABSTRACT

The *M. officinalis* L. contains low levels of essential oil and, according to ethnobotanical reports, the *A. millefolium* L., when intercropped with other aromatic plant, can increase the secondary metabolites production. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of the intercropping between *M. officinalis* L. and *A. millefolium* L. in the growth as well as in the essential oil production. The experiment was conducted with the treatments, monoculture of *M. officinalis* L., monoculture of *A. millefolium* L. and the intercropping between both species. The experimental design was in randomized block with seven replicates. After the harvest, there happened separation of the stem and the leaf, to the *M. officinalis* L.; and of the petioles and leaflets to the *A. millefolium* L. The plants were submitted to the drying process. Samples of dried plant materials were submitted to hydrodistillation for essential oil extraction and this was analyzed by GC-FID and GC-MS. It was possible to conclude that the intercropping with *A. millefolium* L. increases the oil content and reduces the biomass of *M. officinalis* L., but it did not influence in the chemical composition of essential oil.

Keywords: Lemon balm. Yarrow. Intercropping. Gas chromatography.

1 INTRODUÇÃO

A *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) é amplamente utilizada pela população brasileira e distribuída por todo mundo (LOPEZ-LAZARO 2009). Consta na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS - RENISUS (BRASIL, 2014). Conhecida por mil folhas, atroveram, novalgina e milefólio, é utilizada, principalmente como analgésica, anti-inflamatória, diurética e antiespasmódica; na área de cosméticos, na culinária e como planta ornamental (BRASIL 2014; PINTO et al., 2014).

A *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae), conhecida por melissa ou erva cidreira verdadeira, é uma das plantas medicinais e aromáticas mais importantes e com potencial no mercado (YADEGARI; SHAKERIAN, 2014). Encontra-se na lista de espécies medicinais regulamentadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010). É utilizada, principalmente pelo efeito carminativo e usos na alimentação e em indústrias cosméticas (MARTINS et al., 2000; REIS et al., 2009;). Seu óleo essencial, com os compostos majoritários, Neral (α -citral) e Geranial (β -citral), possui atividades: antioxidativa, antibiótica, antifúngica, antibacteriana e sedativa (SORENSEN, 2000; LUZ, 2014). Porém apresenta baixo teor de óleo (0,02 a 0,40%), requerendo de técnicas que favoreça a produção e a qualidade deste.

O Brasil possui potencial para cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares e é um dos grandes produtores mundiais de óleos essenciais (BIZZO et al., 2009; CÔRREA JÚNIOR et al., 2014). A produção e composição química de metabólitos secundários das plantas medicinais são influenciadas por condições edafoclimáticas, e conseqüentemente, pode ser fortemente influenciada pelas técnicas de cultivo adotadas (MAIA, 2007; SALES et al., 2009; LUZ et al., 2014). Assim, é necessário o aprimoramento de técnicas de

cultivo que proporcionam incremento na biomassa, na produção e qualidade do óleo essencial (BIZZO et al., 2009; CÔRREA JÚNIOR et al., 2014).

Técnicas como a consorciação de culturas tem se apresentado propícia nesta área. A consorciação é definida como sistemas de cultivo em que há o crescimento simultâneo de duas ou mais espécies de plantas na mesma área (GAO et al., 2009). Contribui para o aumento da produtividade, na diminuição das plantas daninhas, pragas e doenças (GRANGEIRO et al., 2008; WANG et al., 2014).

Em casos de plantas medicinais, o consórcio pode influenciar a produção de metabólitos secundários. E plantas como *A. millefolium* L., em consórcio com planta aromática, induz a produção de metabólitos secundários, aumentando o rendimento de óleo essencial (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR, 2006; SANTOS et al., 2009; BRANDÃO et al., 2014). O que pode auxiliar no aumento do teor de óleo de *M. officinalis* L.

Por isso, objetivou-se avaliar a influência do monocultivo e do cultivo consorciado de *A. millefolium* L. e *M. officinalis* L., na produção de biomassa, teor e composição química qualitativa e quantitativa de óleos essenciais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condução, colheita e análise do crescimento vegetativo

O experimento foi instalado e conduzido no campo experimental da Fazenda Gota da Esperança do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG, no período de novembro de 2013 a março de 2014. A UFLA está situada nas coordenadas geográficas 21° 14' S e 45° 00' W, a 918 m de altitude. Segundo a classificação de Sá Júnior et al. (2012) o clima predominante, de acordo com metodologia proposta por Köppen, é do tipo Cwa, com as seguintes características; úmido

com inverno seco e verão quente. O tipo de solo do campo experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico de textura argilosa (EMBRAPA, 2013). O solo foi analisado no laboratório do Departamento Ciência do Solo da UFLA para determinação dos atributos de fertilidade. As características físico-químicas do solo (0 -20 cm) são: pH: 5,7; K: 142,0 mg dm⁻³; P: 2,84 mg dm⁻³; Ca: 2,60 μ mol dm⁻³; Mg: 0,90 μ mol dm⁻³; Al: 0,10 μ mol dm⁻³; H+Al: 2,90 μ mol dm⁻³; SB: 3,86 μ mol dm⁻³; t: 3,96 μ mol dm⁻³; T: 6,76 μ mol dm⁻³; V: 57,16%; M: 2,535; matéria orgânica: 2,87 dag kg⁻¹, P-Rem: 24,34 mg l⁻¹. Os dados climatológicos do período avaliado foram fornecidos pelo setor de Climatologia do Departamento de Engenharia da UFLA e podem ser observados na Figura 1.

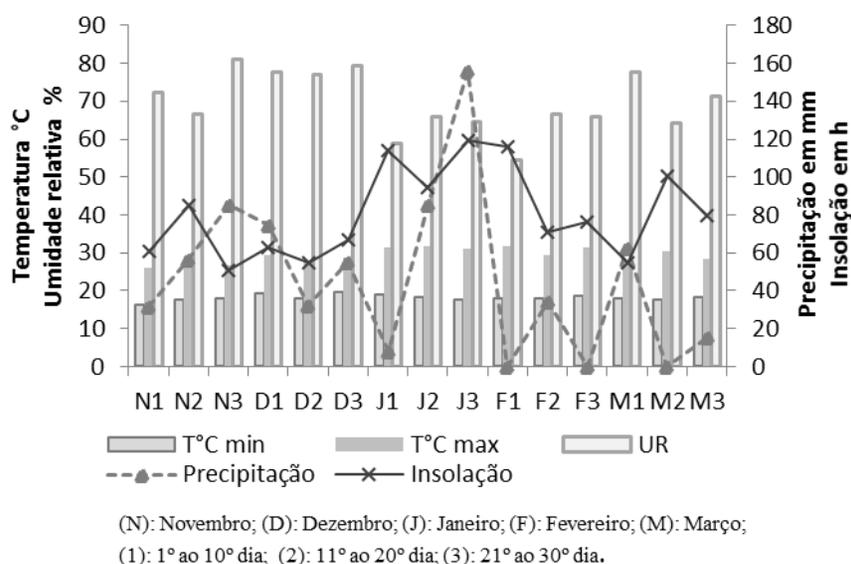


Figura 1 Temperaturas máximas e mínimas; umidade relativa (UR) média; insolação e precipitação acumuladas para os meses de novembro de 2013 a março de 2014. UFLA, Lavras, 2015.

As mudas foram produzidas a partir de plantas matrizes de *M.*

officinalis L. e *A. millefolium* L. - pertencentes ao Horto de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares do DAG/UFLA. A propagação vegetativa da *M. officinalis* L. foi feita por microestacas apicais e da *A. millefolium* L. por meio de estolões ponteiros. Após 30 dias, em novembro de 2013, as mudas foram transplantadas a campo com espaçamento de 0,40 m x 0,40. No plantio, foi aplicado um quilo de esterco bovino por cova (15cm x15cmx20cm). Durante a condução do experimento foi realizado os tratos culturais necessários à manutenção das plantas.

A colheita do experimento foi realizada aos 120 dias de cultivo. Cada planta de *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L. foi separada, respectivamente, em caule e folha, e em pecíolo e folíolo, com posterior secagem em estufa com ventilação forçada a 40°C até atingir peso constante para determinação da biomassa seca de folhas, caule e total da parte aérea da planta, em g planta⁻¹.

Para análise da área foliar da *M. officinalis* L., utilizou-se 30 folhas/planta fresca, padronizadas a partir do terceiro par de folhas, de três plantas de cada parcela. A área foliar (AF, cm² planta⁻¹) foi realizada com auxílio do aparelho Medidor Eletrônico de área foliar, modelo LI – 3100-LICOR.

Foram coletadas, em campo, folhas de *M. officinalis* L., no terceiro par de folhas, e folhas de *A. millefolium* L., na mesma idade fisiológica para quantificar os pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* e *b*, relação *b/a* clorofila total e carotenóides. Para o transporte do campo ao laboratório, as folhas foram envolvidas em papel alumínio e acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo para extração e quantificação dos pigmentos. As análises de clorofila *a* e *b*, total e carotenóides foram realizadas conforme metodologia de Lichtenthaler & Buschmann (2001), sendo os teores expressos em mg g⁻¹ de matéria fresca de folhas. Os teores dos pigmentos fotossintéticos foram determinados a partir de leituras espectrofotométricas (Beckman, modelo 640 B) e medidos a

absorbância a 663,2 nm, 646,8 nm e 470 nm de cada amostra.

Para análise do desempenho agrônômico da consorciação, utilizou o índice de uso eficiente da terra (UET), pela fórmula $UET = (Ca / Ma) + (Cb / Mb)$, onde Ca e Cb são, respectivamente, as produções de óleo essencial (g/ha) em consorciação das culturas de “a” (*M. officinalis* L.) e “b” (*A. millefolium* L.); Ma e Mb são, respectivamente, as produções em monocultivo de “a” e “b”. Quando o valor de UET é superior a 1,0 indicam que a produtividade do consórcio é superior ao monocultivo (MONTEZANO; PEIL, 2006).

2.2 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos, disposto em sete blocos, com nove plantas úteis - de cada espécie - por unidade experimental mais a bordadura. Os tratamentos foram o monocultivo da *M. officinalis* L., o monocultivo da *A. millefolium* L. e o cultivo consorciado entre *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L. (Figura 2).



Figura 2 Croqui e plantas do experimento após 40 dias do plantio. (A) Monocultivo da *A. millefolium* L., (B) Monocultivo da *M. officinalis* L., (C) cultivo consorciado entre *M. officinalis* L. (m) e *A. millefolium* L. (a). Lavras, 2015.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott e por contrastes ortogonais pelo teste de Scheffé, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011). Os contrastes ortogonais realizados foram: Y1: cultivo solteiro da *M. officinalis* L. vs cultivo consorciado da *M. officinalis* L. e Y2: cultivo solteiro da *A. millefolium* L. vs cultivo consorciado da *A. millefolium* L.

2.3 Extração e análises químicas dos óleos essenciais

Para extração do óleo essencial empregou-se 45g de folhas secas de *M. officinalis* L. e 45g de folíolos (sem pecíolo) de *A. millefolium* L. que foram hidrodestiladas em aparelho de Clevenger modificado por 90 minutos. O óleo essencial foi recolhido e purificado por partição líquido-líquido com diclorometano (3x5mL). O sulfato de magnésio anidro foi adicionado à fração orgânica reunida para eliminação de resíduos de umidade. A solução foi filtrada e seca sob capela de exaustão de gases, a evaporação do solvente foi feita em temperatura ambiente. O óleo essencial foi pesado e armazenado em frascos âmbar hermeticamente fechados e mantidos em geladeira a 4 °C até as análises químicas. O teor de óleo essencial ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ matéria seca das folhas) e o rendimento (mg planta^{-1}) foram determinados.

As análises químicas dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoquímica da UFLA. As análises cromatográficas foram realizadas em aparelho Agilent 5890A equipado com detector de ionização em chama (CG-DIC) e detector seletivo de massas Agilent 5975C (CG-EM), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan s⁻¹, com intervalo de aquisição de massas de 40-400 m/z.

Os óleos essenciais foram analisados empregando coluna HP-5MS (30 cm de comprimento x 250 µm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura). Utilizou-se hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram 220° e 240°C. Para o óleo da *M. officinalis* L., a temperatura inicial do forno foi de 60°C por 1 min com uma rampa de temperatura de 3°C min⁻¹ até 150°C, seguido de uma rampa de 10°C min⁻¹ até 250°C por 1 min. Para o óleo de *A. millefolium* L., a temperatura inicial do forno foi de 60°C com uma rampa de temperatura de 3°C min⁻¹ até 200°C, seguido de uma rampa de temperatura de 10°C min⁻¹ até 270°C, mantendo-se em condição isotérmica por 1 min. As amostras de óleo essencial de ambas espécies foram diluídas em acetato de etila (1%, v/v) e 1 µl foi injetado automaticamente no modo *split* a uma razão de 1:50.

Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos seus índices de retenção relativos à co-injeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C20, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA), e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST, 2008) e de literatura (Adams, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento e produção de óleo essencial

A produção de folhas de *M. officinalis* L. foi influenciada pelo cultivo consorciado. O cultivo consorciado com *A. millefolium* L. resultou em menor biomassa seca de folhas na *M. officinalis* L. de 23'10 (Tabela 1). Comparada estatisticamente no cultivo solteiro, o acúmulo de biomassa seca de folhas de *M. officinalis* L. foi significamente menor no cultivo consorciado. Corrêa Júnior et al. (1998) e Scheffer e Corrêa Júnior (2006) relataram a influência alelopática da *A. millefolium* L. sobre plantas aromáticas. O efeito alelopático é devido ao

mecanismo de interação bioquímica entre as plantas, considerando uma forma de adaptação química defensiva, além de um fator de estresse ambiental (MARASCHINI, 2004).

O mesmo não ocorreu com a espécie *A. millefolium* L., que tanto no monocultivo como no consorciado, não alterou significativamente a média de produção de biomassa seca do pecíolo e folíolo que foi apenas 4% maior no consórcio. No que se refere à matéria seca da parte aérea, observa-se diferença no acúmulo dessa variável em *M. officinalis* L., de 27% a mais no cultivo solteiro em relação ao consorciado. Arashiro et al. (2011) trabalhando em cultivo consorciado de mil folhas (*A. millefolium* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) relataram menor produção de biomassa seca em cultivo consorciado.

A planta cultivada em regime de sombra apresenta maior área foliar para captação da luz. No consórcio a *A. millefolium* L. não sombreou a *M. officinalis* L., no entanto a maior área foliar foi observada no cultivo solteiro (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios da área foliar⁽¹⁾, da matéria seca da parte aérea, e as estimativas dos contrastes ortogonais do cultivo solteiro e consorciado, em campo, de *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L. Lavras, 2015.

Planta	Cultivo	Área foliar (cm)	Matéria seca (g planta ⁻¹)	
			Caule	Folha
<i>M. officinalis</i> L.	Solteira	537,88 a	35,13	36,12
<i>M. officinalis</i> L.	Consortiada	486,76 b	24,43	27,99
Contraste	MS vs MC	-	10,694	8,121**
<i>A. millefolium</i> L.	Solteira	-	41,11	21,43
<i>A. millefolium</i> L.	Consortiada	-	42,6	22,28
Contraste	MFS vs MFC	-	-1,497	-0,856
CV (%)		10,85	24,65	17,99

⁽¹⁾Médias seguidas com letras iguais, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

** Significativo estatisticamente, pelo teste de Scheffé, à 5% de probabilidade.

MS (*M. officinalis* L. solteira), MC (*M. officinalis* L. consorciada), MFS (*A. millefolium* L. solteira), MFC (*A. millefolium* L. consorciada).

O tipo de cultivo também influenciou os teores de pigmentos fotossintéticos com exceção a clorofila *a* na planta *A. millefolium* L. e *M. officinalis* L (Tabela 2). Os demais, clorofila *b*, *b/a*, total e carotenóides apresentaram diferenças de teores na análise de pigmentos. Esses resultados também foram encontrados nos estudos de Pinto et al. (2014), os quais não encontraram diferença nos teores de clorofila *a* quando cultivaram a mil folhas (*A. millefolium* L.) sob telas coloridas. A *M. officinalis* L. e a *A. millefolium* L. em cultivo solteiro apresentaram menores médias de pigmentos, exceto a clorofila *b/a*.

Tabela 2. Valores médios da quantificação dos pigmentos fotossintéticos e as estimativas dos contrastes ortogonais do cultivo solteiro e consorciado, em campo, de *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L. Lavras, 2015.

Planta	Cultivo	Clorofila (mg MF ⁻¹)				Carotenóide (mg MF ⁻¹)
		a	b	b/a	Total	
<i>M. officinalis</i> L.	Solteira	0,38	0,57	1,47	0,95	0,43
<i>M. officinalis</i> L.	Consoiciada	0,66	0,76	1,17	1,43	0,5
Contraste	MS vs MC	0,286**	0,196**	-0,301**	0,483**	0,138**
<i>A. millefolium</i> L.	Solteira	0,63	0,61	1,00	1,23	0,56
<i>A. millefolium</i> L.	Consoiciada	0,65	1,13	1,81	1,78	0,58
Contraste	MFS vs MFC	0,21	0,526**	0,809**	0,555**	-0,789**
CV (%)		13,96	15,91	22,39	10,7	11,34

** Significativo estatisticamente, pelo teste de Scheffé, à 5% de probabilidade.

MS (*M. officinalis* L. solteira), MC (*M. officinalis* L. consorciada), MFS (*A. millefolium* L. solteira), MFC (*A. millefolium* L. consorciada).

A maior, e total, produção de clorofila *b/a* ocorreu em *A. millefolium* L. no cultivo consorciado. Houve uma diferença de produção na planta *M. officinalis* L., sendo que o cultivo solteiro apresentou maior teor de clorofila *a/b*

seguido do teor de clorofila total, ao contrário do que foi encontrado no cultivo consorciado para os dois caracteres. A menor relação *b/a* no cultivo consorciado pode ser devido ao sombreamento da *M. officinalis* L. na *A. millefolium* L. que elevou a produção de clorofila *b* (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Foram observados resultados significativos no teor e no rendimento (g planta⁻¹) do óleo essencial para *M. officinalis* L. (Tabela 3). Foi verificado um maior teor, de aproximadamente 99% a mais, de óleo essencial de *M. officinalis* L. em cultivo consorciado com *A. millefolium* L. Com o teor de óleo essencial na *A. millefolium* L. em consórcio obteve-se um aumento não significativo de 11%.

Tabela 3. Valores médios do teor e rendimento do óleo essencial e as estimativas dos contrastes ortogonais do cultivo solteiro e consorciado, em campo, de *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L. Lavras, 2015.

Planta	Cultivo	Teor (%)	Rendimento	
			(g planta ⁻¹)	(g ha ⁻¹)
<i>M. officinalis</i> L.	Monocultivo	0,111	0.041	2561
<i>M. officinalis</i> L.	ConSORCIADO	0,221	0.061	1898
Contraste	MS vs MC	0,110**	-0.019**	663.714
<i>A. millefolium</i> L.	Monocultivo	0,109	0.045	2816
<i>A. millefolium</i> L.	ConSORCIADO	0,121	0.052	1608
Contraste	MFS vs MFC	0,012	-0.006	12077,14**
CV(%)		21,75	25,25	30,73

** Significativo estatisticamente, pelo teste de Scheffé, à 5% de probabilidade.

O aumento no teor do óleo essencial em plantas cultivadas consorciadas com a *A. millefolium* L., também foi observado por Santos et al. (2009) com *Cymbopogon citratus* L. (capim limão) e Arashiro et al. (2011) com *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim). Já Brandão et al. (2014), avaliando o cultivo consorciado entre *M. officinalis* L. e *A. millefolium* L., em vasos, não observaram diferenças no teor de óleo essencial, somente no rendimento de óleo para *M. officinalis* L.

Mann (1987) e Andrade e Casali (1999) afirmam que nas rotas dos metabólitos secundários são ativados estágios particulares de crescimento e desenvolvimento ou em períodos de estresse, podendo aumentar ou diminuir o teor de óleos essenciais. Brant et al. (2009) também cita que variações ambientais, como temperatura, irradiação e fotoperíodo, podem influenciar no rendimento da biomassa e na qualidade do óleo essencial.

O valor do índice do uso eficiente da terra (UET) foi 1,40, superior a 1,0. Indicando que é necessário 40% a mais de área para que as culturas no monocultivo produzam o equivalente à produção obtida no cultivo consorciado. BRANDÃO et al. (2014) encontrou valor de UET de 3,3 no consórcio, em vasos, de melissa (*M. officinalis* L.) e mil folhas (*A. millefolium* L.).

3.2 Análises químicas do óleo essencial

As amostras do óleo essencial de *M. officinalis* L. tiveram como características organolépticas um óleo límpido, com coloração levemente amarelada e odor característico ao da planta, devido ao composto citral. Já o óleo essencial da *A. millefolium* L. apresentou a coloração azul.

Foram identificados 25 constituintes químicos no óleo essencial de *M. officinalis* L. no monocultivo e no cultivo consorciado, que corresponderam a 98% e 95%, respectivamente, da composição química total do óleo essencial (Tabela 4).

Em termos qualitativos não houve diferenças expressivas na composição química do óleo essencial. Os constituintes majoritários da *M. officinalis* L. foram o Neral (β -citral), com 29,68 e 27,29 e o constituinte Geranial (α -citral), com 41,04 e 38,03 em cultivos, solteiro e consorciado, respectivamente. Ambos os cultivos apresentaram teores inferiores dos compostos majoritários em comparação aos da Farmacopéia Brasileira (2010), onde os teores do Neral e

Geranial estão entre 30,4 a 32,9% e 49,0 a 53,3%, respectivamente. Os compostos majoritários (citronelal, neral e geranial) apresentaram porcentagem relativa maiores no cultivo solteiro, 41%, 8% e 7% respectivamente. Já os constituintes, isso-citronelil e trans-6-hidroxi-2-terpineol, apresentaram porcentagem relativa bem superior no cultivo consorciado.

Tabela 4. Porcentagem relativa dos compostos do óleo essencial de folhas de *Melissa officinalis* L. sob cultivo solteiro e consorciado. Lavras, 2015.

Constituinte	TR*	Área (%) \pm DP	
		Cultivo solteiro	Cultivo Consorciado
Octen-3-ol	7,35	0,29 \pm 0,12	0,22 \pm 0,05
1,8-Cineol	9,67	0,30 \pm 0,11	0,26 \pm 0,07
Linalol	11,91	0,23 \pm 0,06	0,22 \pm 0,06
<i>Trans</i> -rose oxide	13,15	0,29 \pm 0,09	0,20 \pm 0,03
Éter de geranil vinila	13,86	0,49 \pm 0,14	0,37 \pm 0,09
Fotocitral A	14,06	0,40 \pm 0,15	0,32 \pm 0,08
Citronelal	14,22	6,54 \pm 2,47	3,89 \pm 0,61
Iso-Pinocanfeno	14,73	0,73 \pm 0,14	0,49 \pm 0,10
Cis-Pinocanfeno	15,13	0,28 \pm 0,09	0,29 \pm 0,04
Isogeranial	15,53	1,06 \pm 0,19	0,70 \pm 0,15
Angelato de prenila	16,06	0,31 \pm 0,01	0,35 \pm 0,05
Citronelol	17,58	0,51 \pm 0,07	0,40 \pm 0,05
Neral	18,21	29,68 \pm 0,77	27,29 \pm 2,16
<i>Trans</i> -Geraniol	18,69	0,29 \pm 0,08	0,19 \pm 0,00
Citronelato de metila	18,99	0,37 \pm 0,00	0,39 \pm 0,14
Metil citronelato	19,07	0,92 \pm 0,19	0,61 \pm 0,06
Geranial	19,58	41,04 \pm 1,95	38,03 \pm 4,36
Geraniato de metila	21,88	1,24 \pm 0,44	1,76 \pm 0,20
Isocitronelil iso-valerato	22,53	0,90 \pm 0,00	3,91 \pm 1,83
Ácido Gerânico	23,35	1,96 \pm 0,24	2,20 \pm 0,23
<i>Trans</i> -6-hidroxi- α -terpineol	24,16	2,23 \pm 0,74	5,29 \pm 2,28
Acetato de Geranil	24,57	0,82 \pm 0,25	0,64 \pm 0,17
Óxido de cariofileno	32,99	7,02 \pm 1,52	7,32 \pm 1,56

Constituinte	TR*	Área (%) ± DP	
		Cultivo solteiro	Cultivo Consorciado
Epóxido II de α -Humulene	35,10	0,22 ±0,00	0,22 ±0,01
4(12),8(13)-cariofila dieno-5 α -ol	36,45	0,30 ±0,11	0,33 ±0,10
Área total (%)		98,42	95,89
Número de constituintes		25	25

*Tempo de retenção em coluna HP-5MS na ordem de eluição. DP: desvio padrão (n=3).

Devido à complexidade química do óleo essencial de *A. millefolium* L. foram apresentados apenas os sete constituintes de maior área relativa (Tabela 5). Os sete constituintes 1,8 cineol, borneol, 4-terpineol, beta-cariofileno, espatulenol, oxido de cariofileno e camazuleno computaram uma área relativa de 75,4% no cultivo solteiro e 67,37% no consorciado. Ocamazuleno no cultivo solteiro foi de 22% superior no consorciado, no entanto o 1,8 cineol foi de 66% a mais no cultivo consorciado.

Tabela 5. Porcentagem relativa dos compostos dos óleos essencial de folíolos de *A. millefolium* L. sob cultivo solteiro e consorciado. Lavras, 2015.

Constituinte	TR*	Área (%) ± DP	
		Cultivo solteiro	Cultivo consorciado
1,8-cineol	8,99	3,18 ±0,89	5,29 ±1,85
Borneol	14,42	9,74 ±1,49	9,29 ±1,37
4-terpineol	14,93	6,96 ±1,40	6,76 ±1,15
β -cariofileno	25,70	12,35 ±1,77	11,56 ±1,82
Espatulenol	32,33	2,47 ±0,19	2,18 ±0,30
Óxido de cariofileno	32,56	6,89 ±0,73	6,04 ±0,66
Camazuleno	38,35	33,81 ±2,93	26,25 ±4,75
Área total (%)		75,40	67,37
Número de constituintes		7	7

*Tempo de retenção em coluna HP-5MS na ordem de eluição. DP: desvio padrão (n=3).

O óleo essencial da *A. millefolium* L., independente do tipo de cultivo, apresentou como constituinte majoritário o camazuleno. No entanto, no cultivo consorciado observou-se uma tendência de menor síntese desse constituinte. Assim como, no óleo de *M. officinalis* L., observou-se um teor ligeiramente superior na maioria dos constituintes químicos no cultivo solteiro.

4 CONCLUSÕES

O cultivo consorciado *Melissa officinalis* L. com *Achillea millefolium* L., proporciona aumento no teor dos óleos essenciais, porém uma menor produção de matéria seca da *M. officinalis* L.

Em relação ao rendimento total do óleo essencial há uma necessidade de 40% a mais de área com o cultivo solteiro para produzir o equivalente à produção obtida no consorciado.

O tipo de cultivo não interfere na composição química do óleo essencial.

5 AGRADECIMENTOS

A CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

ADAMS RP. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Illinois: Allured, 804 p. 2007.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª Ed. Brasília. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - RDC n.10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, p.52-59. 10 mar. 2010.

ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário**. Viçosa: UFV, 1999.

ARASHIRO, M.P.; ZIROLDO, D.F.; YAMAGUCHI, M.U.; SARTOR, C.F.P.; PATRONI, S.M.S.; D'OLIVEIRA, P.S.; CORTEZ, L.E.R. Cultivo consorciado entre *Achillea millefolium L.* e *Rosmarinus officinalis L.* e seu efeito no rendimento do óleo essencial, biomassa e atividade antimicrobiana. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 3, p. 373-380, set/dez. 2011.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, Vol. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BRANDÃO, D.S.; SILVA, P.H.L.; JARUCHE, Y.G.; SANTOS, R.R.; MARTINS, E.R. Produção de biomassa e do rendimento do óleo essencial de melissa em cultivo solteiro e consorciado com mil - folhas e alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.9, p.1513-1518, set. 2014.

BRANT, R. S. et al. Crescimento, teor e composicao do oleo essencial de melissa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1401-1407, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. DAF/SCTIE. RENISUS. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Disponível em: <<http://www.plantasmedicinaisfitoterapia.com/mil-folhas-lefolio.html>>. Acesso em: 20/12/2014.

Correa Júnior, C.; Ming, L.C.; Scheffer, M.C. **Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas**. EMATER, Paraná. 1998.

CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. As plantas medicinais, aromáticas e condimentares e a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, vol. 32, n.3, Vitória da Conquista. 2014.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3ª edição. Brasília, 353 p. 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

GAO, Y.; DUAN, A.; SUN, J.; LI, F.; LIU, Z.; LIU, H.; LIU, Z. Crop coefficient and water-use efficiency of winter wheat/spring maize strip intercropping. **Field Crops Research**, v. 111, n. 1-2, p. 65-73, 2009.

GRANGEIRO, L.C.; NEGREIROS, M.Z; SANTOS, A.P.; COSTA, L.M.; SILVA, A.R.C.; LUCENA, R.R.M. Crescimento e produtividade de coentro e rabanete em função da época de estabelecimento do consórcio. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n. 1, p. 55-60. 2008.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. Chorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UVVIS spectroscopy. In: WROLSTAD

RE (ed). **Current protocols in food analytical chemistry**. Madison: John Wiley & Sons. p. 431-438. 2001.

LOPEZ-LAZARO, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 31-59, 2009.

LUZ, J.M.Q.; SILVA, S.M.; HABBER, L.L; MARQUEZ, M.O.M. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n.3, Botucatu, jul/set. 2014.

MAIA, T.L.S.M. Cultivo de plantas medicinais e aromáticas em consórcio com hortaliças. **Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)** - Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Fitotecnia. UFMG. Montes Claros. 2007.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1987.

MARASCHIN, F.S. Extração aquosa de aleloquímicos e bioensaios laboratoriais de alelopatia. **Dissertação (Mestrado - Instituto de Biociências)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p.84. 2004.

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

MONTEZANO, E.M.; PEIL, P.M.N. Sistemas de consórcio na produção de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 12, n.3, p. 27-31, jul/set. 2004.

NIST-NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library. Gaithersburg. Software. 2008.

PINTO, J.E.B.P.; FERRAZ, E.O.; BERTOLUCCI, S.K.V.; SILVEIRA, H.R.O.; SANTOS, A.R.; SILVA, G.M. Produção de biomassa e óleo essencial em mil folhas cultivadas sob telas coloridas. **Horticultura Brasileira**, v.32, p. 321-326. 2014.

REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S; CORRÊA, R. M. Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob a influência do meio de cultura. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 331-335, 2009.

SALES, J.F. et al. Acúmulo de massa, teor foliar de nutrientes e rendimento de óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* Epl.) cultivado sob adubação orgânica. **Bioscience Journal**, v.25, n.1, p.60-68, 2009.

SÁ JÚNIOR, A.; CARVALHO, L.G.; SILVA, F.F; ALVES, M.C. Application of the Koppen classification for climatic zoning in the state of Minas Gerais, Brazil. **Theor Appl Climatol.**, 108:1-7. 2012.

SANTOS, A.; PADUAN, R.H.; GAZIN, Z.C.; JACOMASSI, E.; D'OLIVEIRA, P.S.; CORTEZ, D.A.G.; CORTEZ, L.E.R. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p.436-441. Abr/Jun. 2009.

SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Coordenação, Maria Consolacion Udry, Nivaldo Estrela Marques e Rosa Maria Peres Kornijezuk. Brasília, DF: MAPA/SDC, 2006.

SORENSEN, J.M. *Melissa officinalis*. **The Internacional jornal of Aromatherapy**. New York, USA, v. 10, n. ½, p. 7-15, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. Porto Alegre: Artmed, p.918. 2013.

YADEGARI, M.; SHAKERIAN, A. Effects of micronutrients foliar application on essential oils of lemom balm (*Melissa officinalis* L.). **Advances in Environmental Biology**, 8(4), p. 1063-1068. Iran. 2014.

WANG, M.; WU, C.; CHENG, Z.; MENG, H.; ZHANG, M.; ZHANG, H. Soil Chemical Property Changes in Eggplant/Garlic Relay Intercropping Systems under Continuous Cropping. **Plos one**, v. 9, oct, China. 2014.

CAPÍTULO 3

Produção de biomassa, teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob omissão de nutrientes

RESUMO

Os macro e micronutrientes são essenciais para diversas reações metabólicas dos vegetais e são indispensáveis ao desenvolvimento normal de suas atividades vitais. Objetivou-se avaliar o crescimento vegetativo, bem como o teor e a composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. submetida a omissão de nutrientes. O experimento foi conduzido, sob a técnica de elemento faltante em solução nutritiva de Hoagland & Arnon em cultivo hidropônico. Foram avaliados nove tratamentos, sendo um completo, contendo todos os nutrientes, e oito com omissão de um nutriente em cada (-N, -P, -K, -Ca, -Mg, -S e -Fe, -Zn). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições e três plantas por parcela. Aos 120 dias de cultivo, avaliaram-se a produção de matéria seca total da planta (mg), teores de pigmentos fotossintéticos e teores e composições químicas dos óleos essenciais. A ordem crescente de limitação dos nutrientes para o crescimento da planta foi N=Fe >P=K=Ca >Zn >S >Mg, e para produção do óleo essencial foi Ca=S >P=K=Zn >>Mg. A omissão de nutrientes essenciais em *M. officinalis* L. interfere na produção de biomassa, teor e composição química do óleo, principalmente pelos nutrientes N, Fe, Ca e S. A omissão de Mg aumenta a clorofila, carotenóides e teor de óleo essencial. Assim, podendo estabelecer técnica de produção e um manejo adequado as exigências nutricionais interligando a produção e o teor de óleo essencial.

Palavras-chaves: Melissa. Nutrição mineral. Hidropônia. Cromatografia gasosa.

ABSTRACT

The macro and micronutrients are essential for many metabolic reactions of plants and are essential for the normal development of their vital activities. The objective of this paper was to evaluate the vegetative growth, as well as the content and the essential oil chemical composition of *Melissa officinalis* L. when submitted to the omission of nutrients. The experiment was conducted under the missing element technique in the Hoagland & Arnon's nutrient solution in hydroponic cultivation. Nine treatments were analyzed, being one complete, containing all the nutrients, and eight lacking one element each (-N, -P, -K, -Ca, -Mg, -S and -Fe, -Zn). The experimental design was completely randomized with four replications and three plants per share. After 120 days of cultivation, the production of total dry plant matter (mg), photosynthetic pigments content and the chemical composition of essential oils were evaluated. The increasing order of nutrient limitations for plant growth was Fe=N >K=P=Ca >Zn >S >Mg, and for the essential oil production it was Ca=S >P=K=Zn >>Mg. The omission of essential nutrients in *M. officinalis* L. interferes in the production of biomass, in the content and in the oil chemical composition, especially for nutrients N, Fe, Ca and S. The omission of Mg increases chlorophyll, carotenoids, and the essential oil content. Thus, it is possible to establish a production technique and the proper nutritional requirement management connecting the production and the essential oil content.

Keywords: Lemon balm. Mineral nutrition. Hydroponics. Gas chromatography.

1 INTRODUÇÃO

A *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae), popularmente conhecida como melissa ou erva cidreira verdadeira, é uma das mais importantes plantas medicinais e aromáticas (YADEGARI; SHAKERIAN, 2014). Está presente na lista de espécies medicinais regulamentadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010). Possui grande potencial de mercado, devidos suas ações fitoterápicas, principalmente, o efeito carminativo, usos na alimentação e nas indústrias cosméticas e de perfumes (REIS et al., 2009).

Seu óleo essencial é largamente utilizado pelas suas atividades antioxidantes, antibiótica, antifúngica, antibacteriana e sedativa (LUZ, 2014). Seu acúmulo ocorre nos tricomas das folhas, cujos teores são geralmente baixos entre 0,02 a 0,40%. O óleo essencial de melissa é constituído, principalmente pelos monoterpenos isoméricos, neral (α -citral) e geranial (β -citral), os quais são os principais responsáveis pela sua atividade sedativa (SORENSEN, 2000).

A produção de princípios ativos pode ser influenciada por diversos fatores, como a nutrição mineral, bem como a limitação de nutrientes. Algumas pesquisas nesta área já foram realizadas em mil folhas (*Achillea millefolium*) por Alvarenga (2013), em alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) por Tounekti et al. (2011), em pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.), em espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Schrad.) por Viégas et al. (2013, 2014) e, em nim (*Azadirachta indica*) por Silva et al. (2011).

Os macro e micronutrientes são essenciais para diversas reações metabólicas dos vegetais e são indispensáveis ao desenvolvimento normal de suas atividades vitais. O conhecimento dos sintomas de deficiência auxilia no conhecimento e interpretação do estado nutricional da cultura. Permite também, distinguir sintomas provocados por agentes patogênicos daqueles de carência nutricional (SILVA et al., 2001).

Existe uma carência de informações sobre as exigências nutricionais de plantas medicinais e aromáticas, bem como sua correlação com os elementos essenciais para o crescimento e biossíntese dos metabólitos secundários (BIZZO et al, 2009; ALVARENGA, 2013; YOUSEFZADEH et al., 2013).

Objetivou-se avaliar o crescimento, produção e composição química do óleo essencial de *M. officinalis* L., em cultivo hidropônico, empregando a técnica do elemento faltante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Condução, colheita e análise vegetativa

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG, no período de julho de 2014 a setembro de 2014. A UFLA está situada nas coordenadas geográficas 21° 14' S e 45° 00 W, a 918 m de altitude. Segundo a classificação de Sá Júnior et al. (2012), o clima regional predominante, de acordo com metodologia proposta por Köppen, é do tipo Cwa, com as características; úmido com inverno seco e verão quente.

As mudas de *M. officinalis* L. foram propagadas a partir de microestacas apicais, com aproximadamente 7 cm, de plantas matrizes cultivadas em canteiros do Horto de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares do DAG/UFLA e enraizadas em substrato comercial “Tropstrato-HA”. Plantas com 55 dias de idade foram adaptadas em solução nutritiva modificada de Hogland e Arnon (1950) a 25%, por uma semana e a 50% na semana posterior. Na terceira semana, o experimento foi instalado.

O cultivo de *M. officinalis* L. foi em sistema hidropônico, sob a técnica do elemento faltante, com omissão de macronutrientes: N, P, K, Ca, Mg e S e de micronutrientes: Fe e Zn, com base na solução nutritiva modificada de

Hogland e Arnon (1950). As plantas foram cultivadas em vasos com capacidade de seis litros de solução nutritiva, com aeração realizada por compressor de ar.

As soluções nutritivas foram preparadas com os sais puros, e a concentração de nutrientes da solução nutritiva completa foi de 210,1 mg L⁻¹ de N; 31 mg L⁻¹ de P; 234,6 mg L⁻¹ de K; 200,4 mg L⁻¹ de Ca; 48,6 mg L⁻¹ de Mg; 64,2 mg L⁻¹ de S; 500 µg L⁻¹ de B; 20 µg L⁻¹ de Cu; 648 µg L⁻¹ de Cl; 5,022 µg L⁻¹ de Fe; 502 µg L⁻¹ de Mn; 11 µg L⁻¹ de Mo e 50 µg L⁻¹ de Zn por litro de solução. Para as demais soluções foram omitidos por tratamento um dos seguintes nutrientes: -N, -P, -K, -Ca, -Mg, -S, -Fe e -Zn). Durante a condução do experimento, as soluções nutritivas foram renovadas semanalmente e completadas com adição de água deionizada quando necessário para manutenção do nível de solução das plantas.

Periodicamente, até os 120 dias, foram fotografados os sintomas de deficiência nutricional. Em seguida, as plantas de *M. officinalis* L. foram colhidas, separadas em raiz, caule e folha. As partes vegetativas foram individualmente desidratadas em estufa com ventilação forçada a 40°C até peso constante. O peso do material vegetal seco foi mensurado e determinadas a biomassa seca de raiz, caule, folha e total da planta, em g planta⁻¹. Foram determinadas as porcentagens das produções relativas da matéria seca total (PRMS) de todos os tratamentos, considerando os valores obtidos para essa variável no tratamento completo correspondente a 100%.

2.2 Análises quantitativas dos pigmentos fotossintetizantes

Folhas de *M. officinalis* L., completamente expandidas localizadas entre o segundo e terceiro nó abaixo do ápice, foram colhidas aos 120 dias para quantificar os pigmentos fotossintéticos (mg g⁻¹ de matéria fresca de folhas):

clorofila *a* e *b*, clorofila total e carotenóides. As análises de clorofila e carotenóides foram realizadas conforme metodologia de Lichtenthaler & Buschmann (2001). Foram pesados 2g de amostra das folhas, maceradas e homogeneizadas em 10 ml de acetona 80% (v/v). Os teores dos pigmentos fotossintéticos foram determinados a partir de leituras espectrofotométricas (Beckman, modelo 640 B) e medidos a absorvância a 663,2 nm, 646,8 nm e 470nm de cada amostra. Devido à senescência, não foi efetuada a análise de clorofila e carotenóide para o tratamento com omissão de Fe.

2.3 Extração e análises químicas do óleo essencial

Para a extração do óleo essencial empregou-se amostras de todos os tratamentos, com exceção daquele que omitiu ferro e nitrogênio. Amostras compostas de 30g de folhas secas de *M. officinalis* L. foram imersas em 1000 mL de água destilada num balão de destilação e hidrodestiladas por 60 min, em aparelho de Clevenger modificado. O hidrolato foi recolhido e, o óleo essencial purificado por partição líquido-líquido com diclorometano (3 × 5 mL). A fração orgânica foi reunida, tratada com sulfato de magnésio anidro, seguida de filtração simples e evaporação do solvente orgânico em capela de exaustão de gases a temperatura ambiente. O óleo essencial foi pesado e calculado o teor (mg 100 g⁻¹ de folhas secas). Para o cálculo empregou-se a seguinte fórmula: teor de óleo essencial (%) = [quantidade do óleo (mg) / biomassa seca de folha (g)] x 100. O óleo essencial foi armazenado em frascos âmbar hermeticamente fechados e mantidos em geladeira a 4 °C, até as análises químicas.

Foram determinadas as porcentagens das produções relativas do teor de óleo essencial (PRO), considerando os valores obtidos para essa variável no tratamento completo correspondente a 100%.

Para as análises quantitativas, o óleo essencial foi analisado em sistema

Agilent 5890A equipado com detector de ionização em chama (DIC), empregando coluna HP-5MS (30 cm de comprimento x 250 µm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura). Utilizou-se hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram 220° e 240°C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, mantida por 1 min, seguida por uma rampa de temperatura de 3°C min⁻¹ até 150°C, e, posteriormente, por uma rampa de 10°C min⁻¹ até 250°C. O óleo essencial foi diluído em acetato de etila (1%, v/v) e 1µl foi injetado no modo *split* a uma razão de 1:50. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos pela média da porcentagem de área normalizada relativa dos picos cromatográficos ± o desvio padrão.

As análises qualitativas foram realizadas em Cromatógrafo Agilent® 7890A acoplado a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan/s, com intervalo de aquisição de massas de 40-400 m/z. As condições operacionais foram as mesmas empregadas nas análises por CG-DIC.

Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos seus índices de retenção relativos à co-injeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C20, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST, 2008) e de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados usando-se a equação de Van den Dool and Kratz (1963) e para as atribuições foram consultados índices de retenção citados em literatura (Adams, 2007).

Para as análises da fração volátil todos os tratamentos foram avaliados. Para extração da fração volátil das folhas secas de *M. officinalis* L. empregou-se a técnica de *headspace* estático. Para isso, utilizou-se do extrator/amostrador *headspace* automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG,

Switzerland) acoplado ao sistema de CG/EM. As condições operacionais de análise foram: temperatura de incubação da amostra de 100 °C durante 30 min, temperatura de seringa a 110 °C. Foram utilizadas cerca de 300 mg de folhas secas/amostra, as quais foram acondicionadas em *vials* para *headspace* de 20 mL, vedados com septo de silicone/PTFE; 500 µL da fase de vapor foram injetados na coluna cromatográfica.

As amostras foram analisadas em sistema de cromatografia de fase gasosa Agilent® 7890A acoplado a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, EUA). As condições de análises foram as mesmas empregadas para as análises dos óleos essenciais (item 2.2). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos pela média da porcentagem da área normalizada relativa dos picos cromatograma total de íons \pm o desvio padrão.

2.4 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com nove tratamentos, quatro repetições e três plantas/vaso por unidade experimental. Os tratamentos foram a solução completa e as soluções com a omissão de fontes dos macronutrientes: -N, -P, -K, -Ca, -Mg e -S; e, dos micronutrientes -Fe e -Zn.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Sintomas visuais de deficiência nutricional

Os sintomas visuais de deficiência nutricional ocasionada pela omissão de macro e micronutrientes nas plantas de *M. officinalis* L. apareceram, em média, a partir do quinto dia após instalação do experimento. O nitrogênio (N) e ferro (Fe) foram os nutrientes mais limitantes no crescimento e desenvolvimento da *M. officinalis* L., em consequência foram os primeiros a se constatar a deficiência visual a partir do terceiro dia da instalação do experimento. Em estudos nutricionais, os primeiros sintomas de deficiência na pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) foi causado pela omissão de N (VIÉGAS et al., 2013), assim como na planta nim (*Azadirachta indica*) estudada por Silva et al. (2011).

A omissão do N causou pontos necróticos (1a e b) em toda a planta, seguido de enrugamento (1c) e encarquilhamento das folhas novas, com junção dos pontos necróticos (1d) e posterior manchas avermelhadas (1e), conforme Figura 1f. Houve redução severa no crescimento da planta. Os sintomas observados não condizem com o sintoma característico que é a clorose generalizada nas folhas velhas (MARCHNER, 2012). O Nitrogênio é o nutriente essencial mais requerido pelas plantas. Participa de diversos compostos indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento das plantas (FREITAS et al., 2011). Entre eles, na biossíntese de aminoácidos, proteínas e enzimas, presentes na estrutura dos ácidos nucléicos e das proteínas (KOVACIK; BACKOR, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

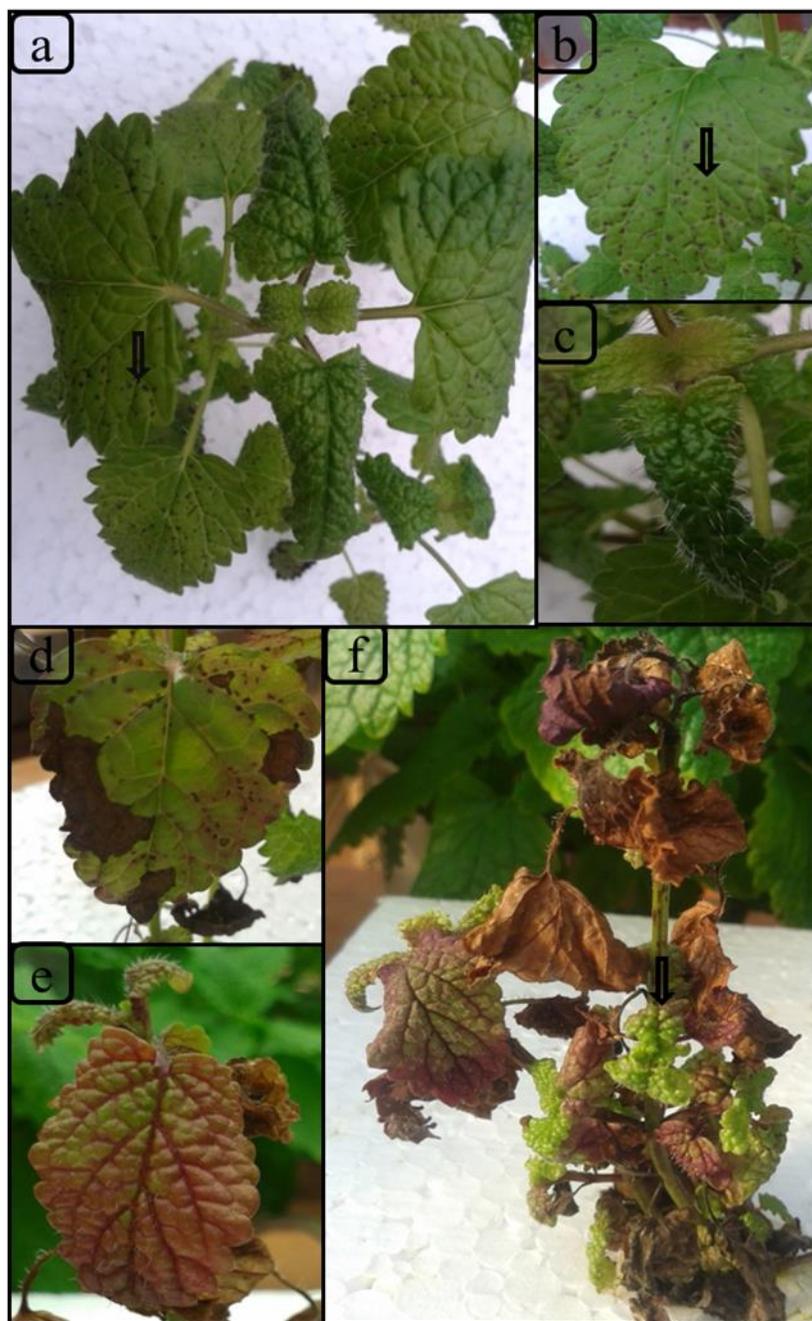


Figura 1 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do nitrogênio. Lavras, 2015.

A ausência de Fe na planta provocou clorose (Figura 2a) nas folhas novas com posterior queima nas bordas para o centro das folhas (2b e c). Observou-se enrolamento das folhas e morte dos meristemas apicais (2e). Devido à grande limitação da *M. officinalis* L. pela omissão do Fe em poucas semanas, ocorreu a morte da planta (2f). O Ferro é um importante componente de enzimas envolvidas na transferência de elétrons. As folhas sob deficiência de Fe se tornam cloróticas devido à participação do mesmo na síntese de complexos constituídos por clorofila e proteína no cloroplasto. Em casos de fortes deficiências aparecem zonas necróticas nas bordas das folhas (FERNANDES, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Apesar da ausência de nutrientes prejudicarem severamente o crescimento da planta, nos tratamentos de Fe e N, notou-se, mesmo depois do aparecimento dos sintomas visuais, a emergência de novos ramos que não conseguiram se desenvolver e o surgimento de novas folhas com área foliar reduzida nas plantas com a omissão de N e Fe (Figura 1f e 2d).

Após o nono dia do experimento as plantas de *M. officinalis* L. apresentaram enrugamento das folhas novas (3a), conseqüentemente diminuição da área foliar devido à ausência do elemento potássio (K), além de pontuações necróticas e clorose nas bordas das folhas novas, conforme Figura 3b. A omissão do K também ocasionou uma tonalidade mais escura da cor verde quando comparado ao tratamento completo, e encurtamento dos internódios (3c). O último sintoma observado foi uma tonalidade avermelhada nos caules (3d).



Figura 2 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do ferro. Lavras, 2015.

O K é um macronutriente essencial para o crescimento, desenvolvimento e maturação de frutos. Sua ausência provoca distúrbios no metabolismo da

planta por atuar em processos fisiológicos no vegetal (FERNANDES, 2006; VIEGAS et al.,2014). Atua principalmente na regulação do potencial osmótico e manutenção do pH na célula, além da abertura e fechamento de estômatos (MALAVOLTA, 2006). Sua deficiência causa produção de putrescina que acumula nos bordos das folhas velhas ou em folhas com intensa evapotranspiração. Putrescina pode substituir o K^+ na manutenção do pH citoplasmático em plantas deficientes de K (MARCHNER, 2012). Geralmente os sintomas visuais de deficiência são clorose com posterior necrose nos ápices e margens das folhas velhas (PULGA et al., 2010).

As plantas apresentam respostas expressivas a adubações potássicas. O aumento da adubação potássica proporcionou aumento nos compostos de plantas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (TOUNEKTI et al.,2011).

A omissão do fósforo (P) levou ao surgimento de pontos necróticos (4a) a partir do sétimo dia do experimento, seguido de manchas avermelhadas (4b e c) nas folhas, enrugamento (4d) e notável clorose arroxeadas nas folhas e caule (Figura 4e). A coloração arroxeadas é devida ao decréscimo da síntese de proteína, resultando no aumento da quantidade de açúcares nos órgãos, favorecendo a síntese em excesso de antocianina (COELHO et al., 2011). Esses mesmos sintomas também foram observados em pimenta-longa por Viégas et al. (2013), em nim por Silva et al. (2011), em mil folhas por Alvarenga (2013).

A atuação do P nas plantas está ligada à transferência de energia, por constituinte do ATP (trifosfato de adenosina), composto necessário a respiração e fotossíntese e na formação de DNA e RNA (FERNANDES, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). Para sintetizar monoterpenos, maioria dos constituintes dos óleos essenciais, há diversas reações de fosforilação e o ATP. Assim, a deficiência em fósforo reduz a taxa de fosforilação, reduzindo sua produção de monoterpenos (SANTOS et al., 2010).

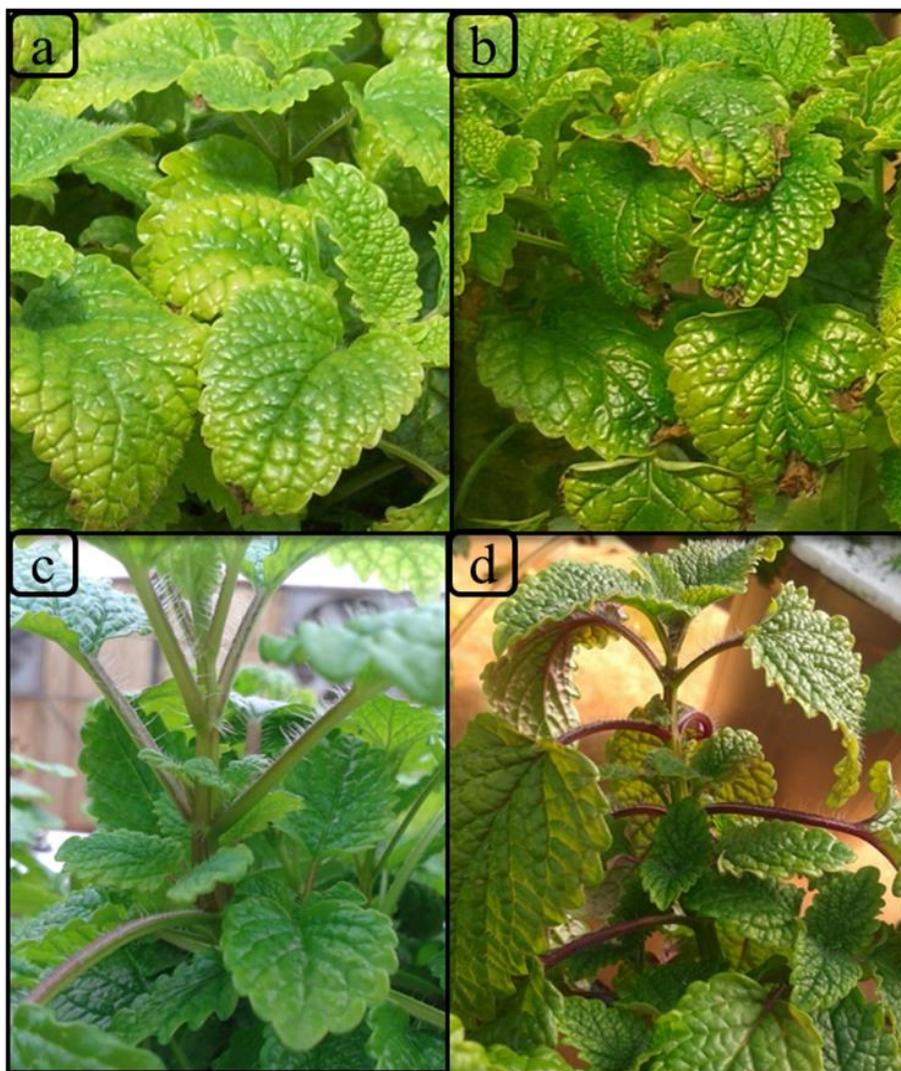


Figura 3 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do potássio. Lavras, 2015.

Sua deficiência ocasiona crescimento retardado, coloração verde-escura na planta, má formação das folhas e presença de manchas necróticas (VIÉGAS et al.; 2011).



Figura 4 Sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do fósforo. Lavras, 2015.

A omissão do cálcio (Ca), no décimo primeiro dia do experimento, causou o surgimento de pontuações necróticas (5a), com posterior junção destas (5b), enrugamento e encarquilhamento severo com as pontas viradas para baixo nas folhas novas (5f), levando a morte dos ápices dos caules, conforme Figura 5g. O último sintoma foi o aparecimento também de manchas avermelhadas nas folhas (5c, d e f). Assim como em pimenta-longa observado por Viégas et al.

(2013), em que a omissão de Ca promoveu deformações, com folhas novas enroladas para a face inferior.

O Ca é componente da parede celular e utilizado na síntese da lamela média, na divisão celular das células vegetais e no funcionamento das membranas. A deficiência de Ca afeta pontos de crescimentos, meristemas apicais e raízes, por não ser remobilizado na planta; causando um aspecto gelatinoso nas pontas das folhas novas, devido à necessidade de pectato de Ca para formação da parede celular; em deficiências mais severas os pontos de crescimentos podem morrer (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Também conhecido como mensageiro secundário em várias respostas da planta, neste papel ele se liga à proteína calmodulina (MARCHNER, 2012). O complexo cálcio-calmodulina se liga a diferentes tipos de proteínas, entre elas, as proteínas mensageiras secundárias de sinalização, na liberação de sinais químicos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os nutrientes magnésio (Mg), enxofre (S) e zinco (Zn) não foram limitantes no crescimento da *M. officinalis* L. Estes apresentaram sutis sintomas de deficiência nutricionais comparados aos demais nutrientes.

O sintoma de deficiência do Mg apareceu no décimo quinto dia da omissão do nutriente. Houve o surgimento de manchas necróticas próximas a bordas das folhas velhas (6a), com posterior junção destas em direção ao centro das folhas (6b e c), ocasionando a morte da folha (Figura 6d). Estes sintomas diferem dos relatos de deficiência de Mg na maioria das plantas, onde são observados amarelecimento internerval das folhas velhas (MALAVOLTA, 2006).

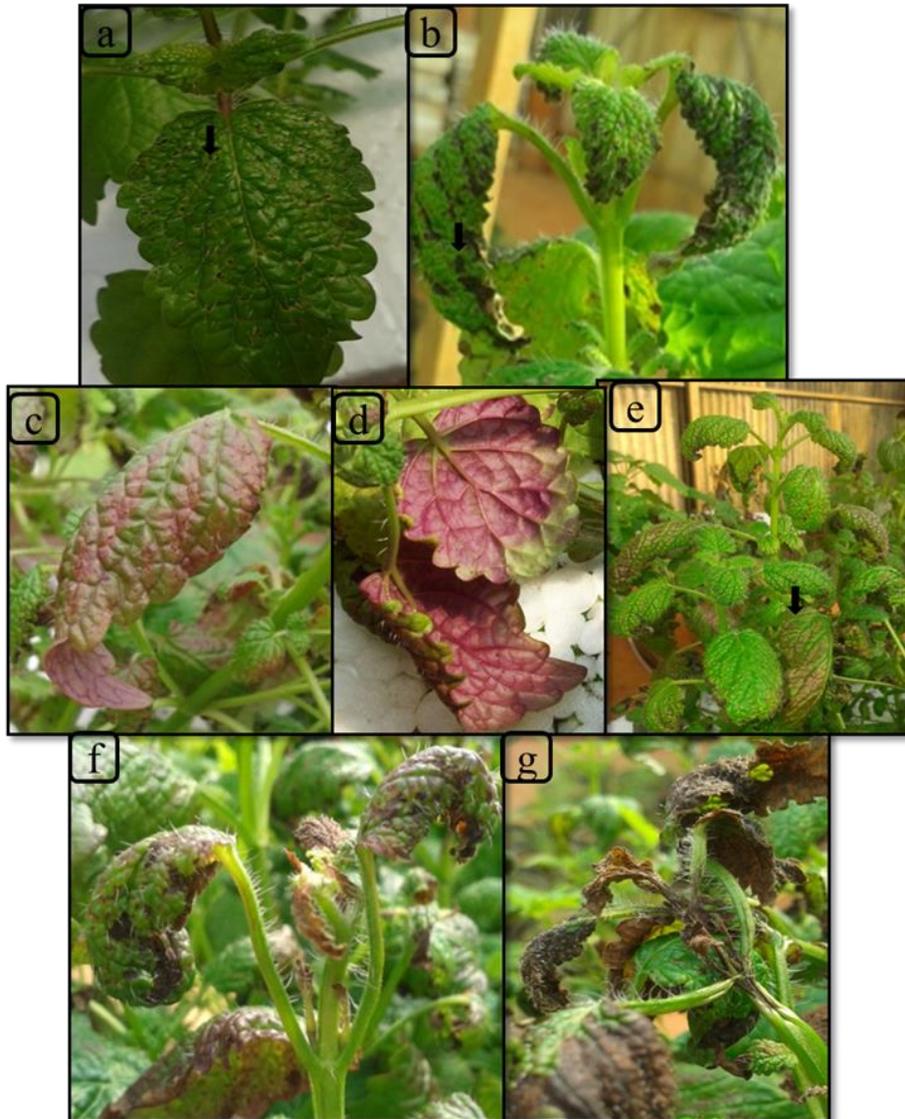


Figura 5 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do cálcio. Lavras, 2015.

O Mg faz parte da estrutura em anel da molécula de clorofila, tem participação na ativação de enzimas no processo de respiração, fotossíntese e síntese de DNA e RNA e é também carregador de P, aumentando a absorção de

P nas raízes da planta (MALAVOLTA, 2006; MARCHNER, 2012). Quando o teor de Mg for relativamente baixo na planta, pode-se haver condições favoráveis ao aparecimento de deficiência induzida pelo excesso de K (FERNANDES, 2006; MARSCHNER, 2012).

No vigésimo terceiro dia surgiram os sintomas referentes à ausência do S. Foi observada leve clorose nas folhas novas (7a e b) com posterior avermelhamento nos ápices dos caules da planta, conforme Figura 7c e d. Sintomas semelhantes foram observados em ipeca por Viégas et al. (2014).

O S desempenha funções estruturais e metabólicas na planta. É encontrado em aminoácidos e constituinte de várias coenzimas e proteínas essenciais no metabolismo (MALAVOLTA, 2006). Geralmente, os sintomas visuais de deficiência de S ocorrem nas folhas velhas com clorose generalizada (MALAVOLTA, 2006). Entretanto, podem variar conforme estado nutricional de N na planta, em plantas com adequada concentração de N os sintomas se iniciam nas folhas novas e, em plantas com deficiência de N os sintomas visuais de S surgem nas folhas velhas (MARCHNER, 2012).

Na ausência do Zn ocorreu inicialmente uma leve clorose e pontos necróticos (8a), posterior junção das partes necrosadas e enrugamento (8b) nas folhas medianas, após o décimo dia. Posteriormente, houve mudança de tonalidade da cor verde comparado ao tratamento completo e avermelhamento do caule e encurtamento dos internódios (Figura 8c e d).

O Zn é um micronutriente associado a várias atividades enzimáticas em todas as plantas (YADEGARI; SHAKERIAN, 2014). O mesmo participa da biossíntese de clorofila e é um co-fator enzimático para a atividade, essencial para síntese do triptofano, precursor do ácido indol-3-acético; atua na regulação e estabilização da estrutura proteica e, afeta a síntese e conservação de auxinas (FERNANDES, 2006, TAIZ; ZEIGER, 2013).



Figura 6 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do magnésio. Lavras, 2015.

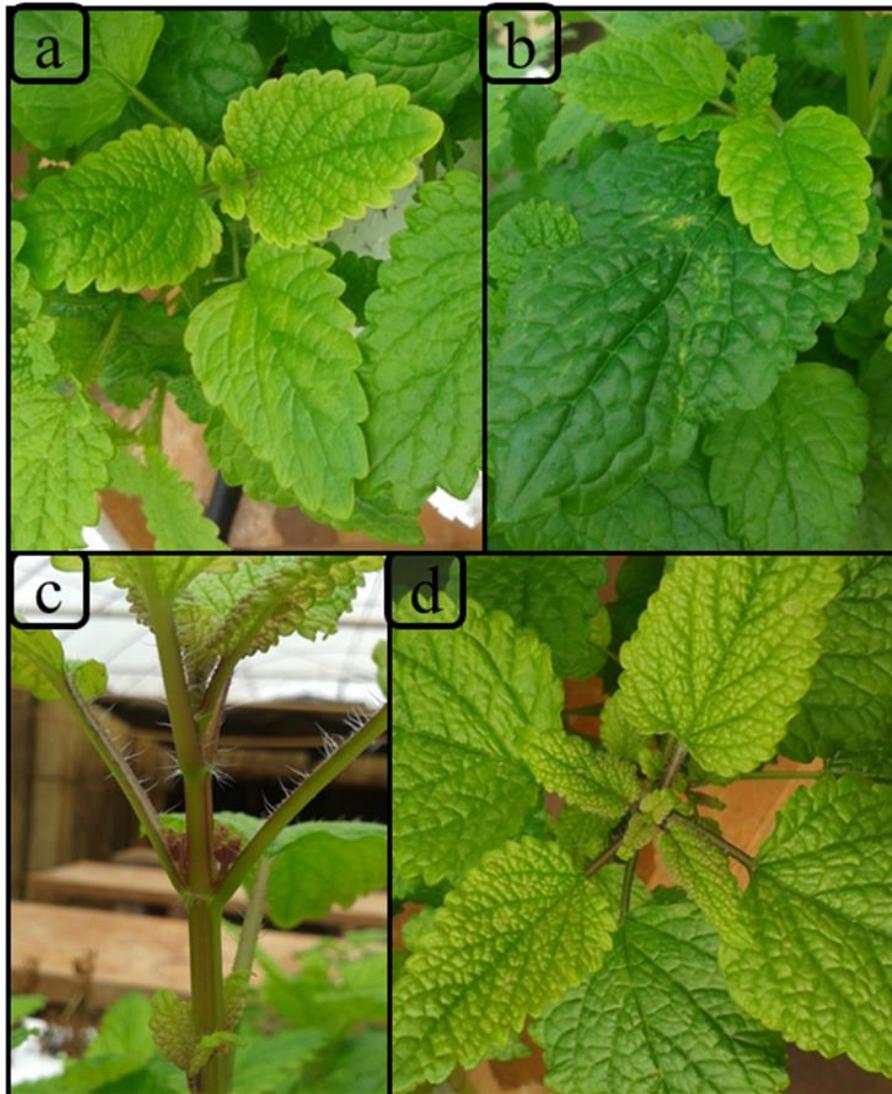


Figura 7 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do enxofre. Lavras, 2015.

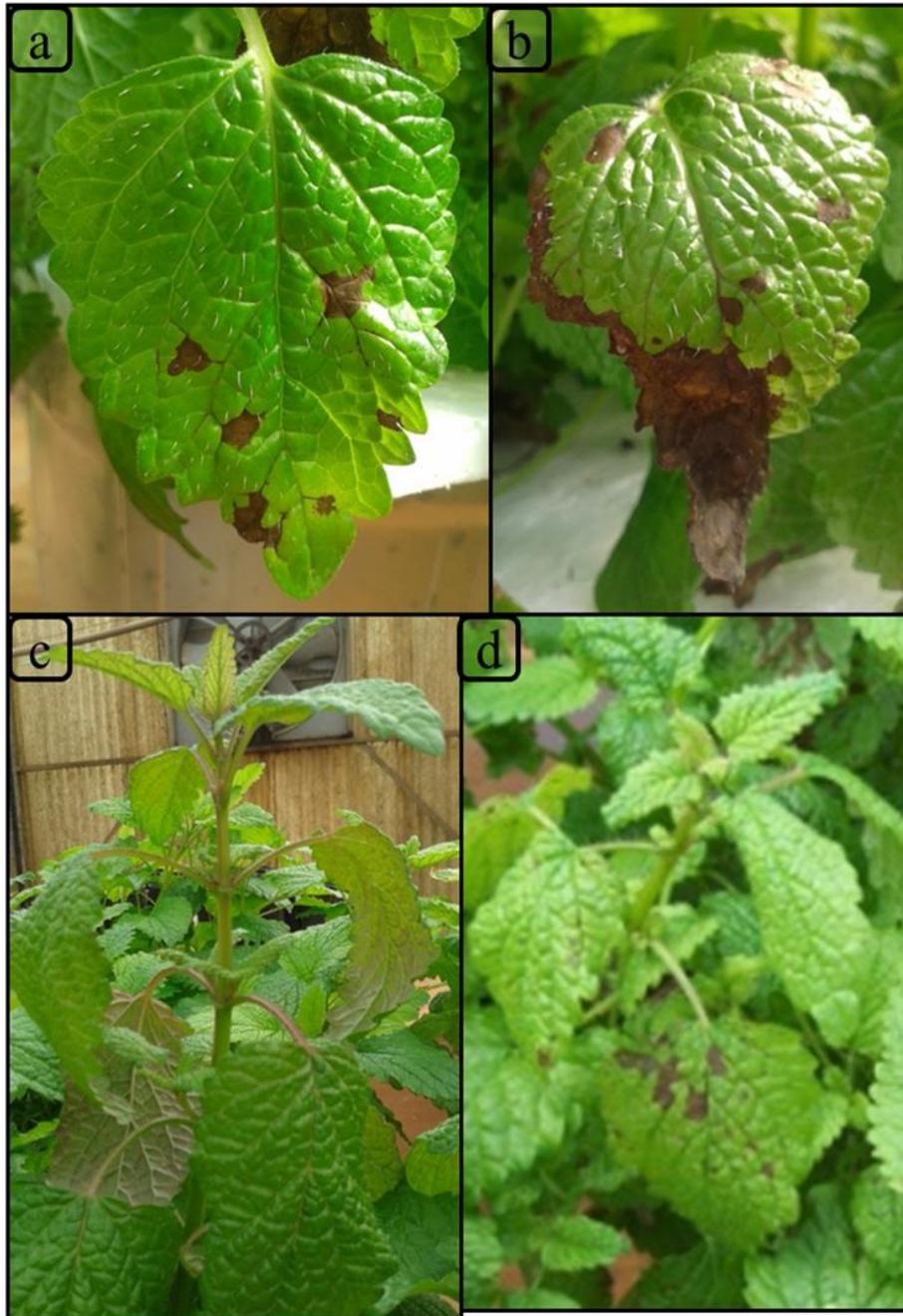


Figura 8 Progresso dos sintomas visuais de deficiência nutricional causado pela omissão do zinco. Lavras, 2015.

Todas as omissões dos nutrientes ocasionaram como último sintoma um avermelhamento de parte da planta - caule, folha ou ambos - exceto nos tratamentos com omissões de Fe, P e Mg.

3.2 Análises de crescimento e teor do óleo essencial

A omissão de nutrientes essenciais influenciou no crescimento de *M. officinalis* L., conforme pode ser analisado através da Figura 9 e Tabela 1. A ausência dos nutrientes Fe e N foi limitante ao crescimento da planta, causando uma menor produção de biomassa seca quando comparado aos demais elementos. A omissão do N também foi limitante para produção de matéria seca em estudos com espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) (Beneditti et al., 2009), mil folhas (*Achillea millefolium* L.) (ALVARENGA, 2013), pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) (VIÉGAS et al., 2013) e ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.) (VIÉGAS et al., 2014).

Os tratamentos com omissões dos N, Fe e Ca obtiveram menores valores de acúmulo de matéria seca de raiz. O N e Fe devido à diminuição de matéria seca total em razão da extrema limitação dos nutrientes à planta. E o Ca, devido a atuação do nutriente em regiões meristemáticas, comprometendo o crescimento da raiz (FERNANDES, 2006; EPSTEIN; BLOOM, 2006). Skrebsky et al. (2008) também encontrou baixos valores de produção de raízes devido a omissão de Ca e N em *Pfaffia glomerata*.

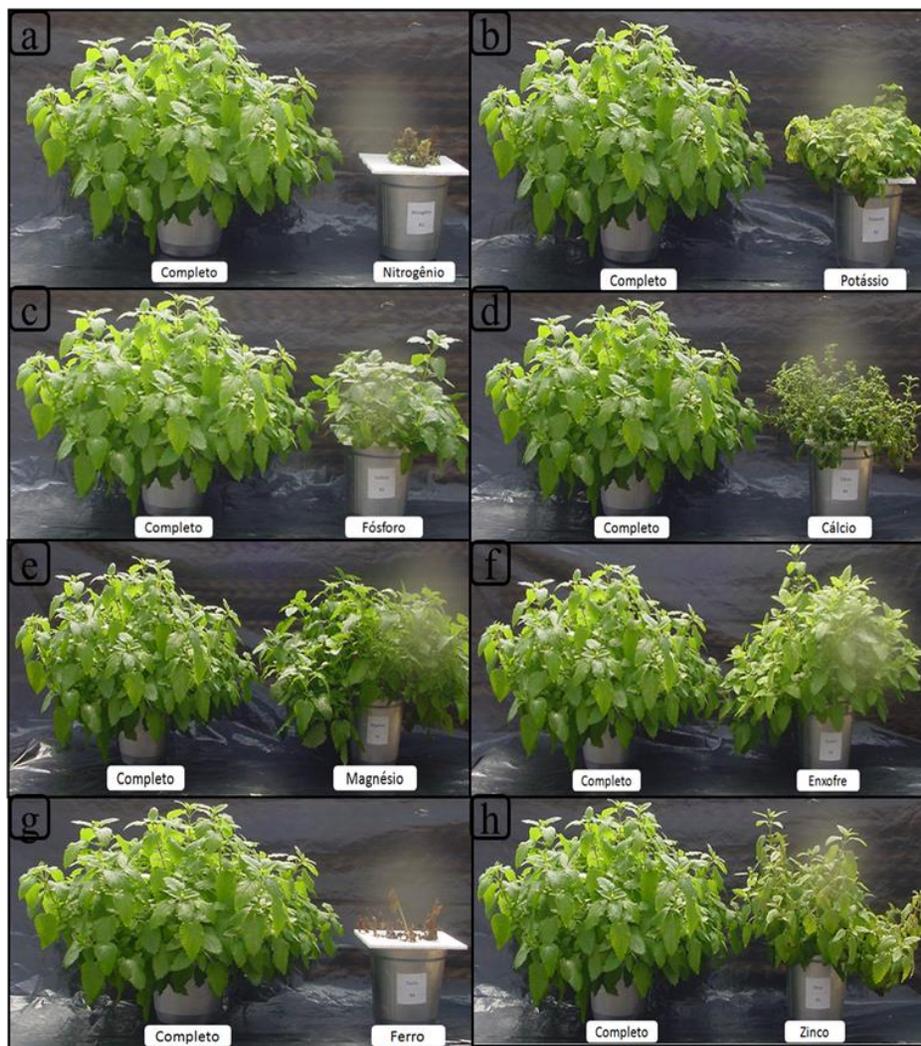


Figura 9 Visão geral das plantas de *M. officinalis* L. sob omissão de nutrientes. (a) Completo, -N; (b) Completo, -K; (c) Completo, -P; (d) Completo, -Ca; (e) Completo, -Mg; (f) Completo, -S; (g) Completo, -Fe; (h) Completo, -Zn. Lavras, 2015.

Tabela 1. Valores médios da matéria seca e do teor de óleo essencial da *M. officinalis* sob omissão de nutrientes em cultivo hidropônico ⁽¹⁾. Lavras, 2015.

Tratamento	Matéria seca (g planta ⁻¹)				PRMS (%)	Teor (%)	PRO (%)
	Raiz	Caule	Folha	Total			
Completo	20,27 a	28,03 a	53,27 a	101,57 a	100	0,071 a	100
N	0,67 c	0,45 e	1,90 e	3,02 d	2,97	-	-
P	7,10 b	6,14 d	18,41 d	31,65 c	31,16	0,027 b	38,03
K	5,55 b	4,41 d	17,37 e	27,33 c	26,9	0,026 b	36,61
Ca	3,75 c	4,60 d	19,77 d	28,12 c	27,68	0,008 b	11,27
Mg	21,19 a	27,88 a	49,38 a	98,45 a	96,93	0,121 a	170,42
S	20,68 a	22,52 b	36,98 b	80,17 b	78,93	0,017 b	23,94
Zn	0,72 c	12,77 c	1,73 e	15,21 d	14,97	0,018 b	25,35
Fe	10,06 b	0,64 e	28,59 c	39,29 c	38,68	-	-
CV (%)	28,76	26,67	22,95	22,74		68,36	

⁽¹⁾Médias seguidas com letras iguais, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. PRMS: produção relativa de matéria seca. PRO: produção relativa de óleo essencial.

O teor de óleo essencial não pode ser quantificado e analisado nas omissões de N e Fe, devido à baixa produção de folhas e morte da planta. A produção de óleo essencial pela *M. officinalis* L. foi reduzida em torno de 40% a 30%, pela ausência dos nutrientes Ca e S, respectivamente. Já o S desempenha funções estruturais e metabólicas na planta. É encontrado em aminoácidos e constituintes de várias coenzimas e proteínas essenciais no metabolismo (FERNANDES, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Entretanto, a omissão do Mg favoreceu um aumento no teor de óleo essencial em cerca de 40%, em relação ao tratamento completo. Segundo Fávaro (2008) alguns pesquisadores afirmam que plantas cultivadas sob omissão do Mg podem apresentar maior produção de óleo essencial.

Em controvérsia, os pesquisadores Upadhyay e Patra (2011), indicam uma resposta positiva a elevação do teor de óleo relacionado ao aumento da

concentração de Mg aplicados em vasos, em estudos com camomila (*Matricaria recutita* L.).

Os nutrientes P, K e Zn não interferiram na produção do óleo essencial, mantendo os valores de produção relativa do óleo próximos ao do tratamento Completo.

3.3 Teores de pigmentos fotossintetizantes

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram afetados, principalmente, pela omissão dos nutrientes N, K e Zn em relação à clorofila (Tabela 2). A ordem de limitação da produção de clorofila *a* foi N=K=Zn > S=Ca > Completo > P > Mg. Para clorofila *b*, N >K=Zn >Ca > S >Mg >Completo >P. Para clorofila total, N >K=Zn >Ca=S > Completo >P >Mg. Alvarenga (2013) corrobora com a redução da produção de clorofila para mil folhas na ausência de N. A omissão de Mg causou aumento dos teores de clorofila e maiores que no tratamento sem omissão. Na deficiência de Mg ocorre aumento do número de cloroplastos pequenos (MALVOLTA, 2006) e talvez o aumento do teor de clorofila.

Em relação aos teores de carotenóides, a omissão do N foi a que propiciou a menor produção e a omissão do Mg a maior produção dos carotenóides. Abbaszadeh et al. (2009) também encontrou valores semelhantes para a *M. officinalis* L.

Estes resultados podem ser devidos a participação do N na síntese da molécula de clorofila. O estresse causado pela omissão do Mg pode ter causado o aumento do teor de carotenóides que agem como protetores do aparato fotossintético nestas condições (ABBASZADEH et al.,2009; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Tabela 2. Valores médios da quantificação dos pigmentos fotossintéticos da *M. officinalis* sob omissão de nutrientes em cultivo hidropônico ⁽¹⁾.

Tratamento	Clorofila (mg g matéria fresca ⁻¹)			Carotenóide (mg g matéria fresca ⁻¹)
	A	b	Total	
Completo	0,66 c	0,81 b	1,46 c	0,48 b
N	0,21 e	0,06 g	0,27 f	0,12 d
P	0,79 b	1,00 a	1,80 b	0,54 b
K	0,26 e	0,30 f	0,56 e	0,32 c
Ca	0,49 d	0,37 e	0,86 d	0,38 c
Mg	1,27 a	0,68 c	1,95 a	0,66 a
S	0,45 d	0,47 d	0,92 d	0,38 c
Zn	0,27 e	0,25 f	0,52 e	0,25 c
CV (%)	9,33	9,42	7,52	17,36

⁽¹⁾Médias seguidas com letras iguais, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. PRMS: produção relativa de matéria seca. PRO: produção relativa de óleo essencial.

3.4 Análises químicas do óleo essencial

Em relação às análises químicas do óleo essencial de *M. officinalis* L., foram observadas diferenças químicas qualitativas e quantitativas. Detectaram uma faixa de 15 a 23 constituintes, os quais foram identificados em mais de 90% da composição química total do óleo essencial (Tabela 4).

As amostras dos tratamentos com omissão de P e Mg e com o tratamento completo apresentaram o maior número de constituintes presentes no óleo (Tabela 3). Os constituintes do óleo essencial variaram com a omissão ou não dos nutrientes, como por exemplo o α -tolualdeído e Z-Isocitral presentes no tratamento com omissão de Mg, e o α -humeleno nas amostras com omissão de Ca. O 6-metil, 5-hepten-2-one só não foi detectado na amostra com omissão de

K do óleo essencial, porém estava presente na fração volátil deste tratamento como constituinte majoritário com $32,23 \pm 0,43$.

As omissões de S e Ca prejudicaram a síntese de constituintes químicos no óleo essencial; apresentando o menor número de compostos presentes e os menores teores de óleo essencial.

O ácido gerânio só não foi detectado na omissão de Ca, assim como, o citronelal que não estava presente somente nas amostras com ausência de S. No tratamento com omissão de Ca observou que os três constituintes neral ($19,15 \pm 0,14$), geranial ($31,39 \pm 0,18$) e óxido de cariofileno ($15,65 \pm 0,06$) somaram mais de 65% da composição química do óleo essencial.

Os constituintes majoritários detectados em todos os tratamentos foram o Neral e Geranial, igualmente descrito na da Farmacopéia Brasileira (2010) para a planta *M. officinalis* L (Figura 10). A omissão de Mg causou aumento dos constituintes majoritários. O Neral e Geranial também foram encontrados em todas as análises de omissão de micronutrientes no óleo essencial de *M. officinalis* L. feitas por Yadegari e Shakerian (2014). Os teores variaram entre $28,76\% \pm 0,13$ a $33,73\% \pm 1,50$ de Neral e entre $41,16\% \pm 0,13$ a $45,90\% \pm 0,76$ de Geranial da composição do óleo.

Exceto nas omissões de Ca e S, que foi observado, assim como no número de constituintes, uma sutil diminuição dos teores, o mesmo foi encontrado na *A. millefolium* L. por Alvarenga (2013). Foi encontrado no Ca; $19,15\% \pm 0,14$ de Neral e $31,39 \pm 0,18$ de Geranial, seguido do composto Óxido de cariofileno com $15,65\% \pm 0,06$. Já na omissão de S, teores de $11,05 \pm 0,89$; $19,83\% \pm 0,00$; $22,45\% \pm 3,67$; de Citral, composto não identificado e Geranial, respectivamente. Também foi encontrada redução dos princípios ativos na *Passiflora alata* na omissão de Ca em trabalhos de Freitas (2006).

Resultados demonstram que a síntese de constituintes de óleo pode ser modificada pela nutrição fornecida a *M. officinalis* L. em cultivo hidropônico.

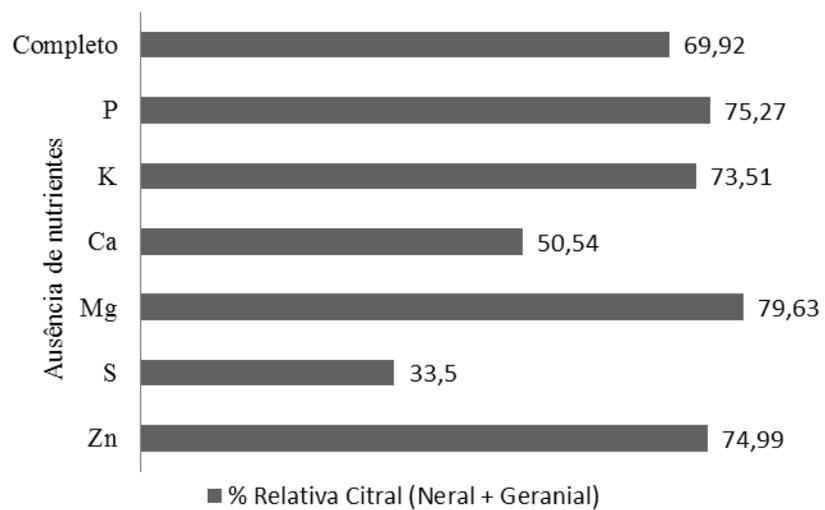


Figura 10 Porcentagem relativa de citral (Neral+Geranial) em relação à ausência de nutrientes e o completo. Lavras, 2015.

Tabela 3. Teor e composição química do óleo essencial de folhas de *M. officinalis* L. cultivada sob omissão de nutrientes. Lavras, 2015.

Constituinte	IR*	Área (%) ± DP									
		Completo	P	K	Ca	Mg	S	Zn			
1-Octen-3-ol	983	0,26±0,00	nd	nd	nd	0,22±0,00	nd	nd	nd	nd	
6-metil, 5-hepten-2-one	990	0,31±0,00	0,22±0,00	nd	0,39±0,01	0,31±0,10	0,67±0,32	0,23±0,01	nd	nd	
α -fornaldeído	1042	nd	nd	nd	nd	0,47±0,00	nd	nd	nd	nd	
Linalol	1100	0,42±0,00	0,26±0,00	nd	nd	0,54±0,13	nd	0,38±0,00	nd	nd	
Exo-isocitral	1152	0,34±0,00	1,65±0,00	nd	nd	0,25±0,00	nd	nd	nd	nd	
Z-Isocitral	1164	nd	nd	nd	nd	0,47±0,10	nd	nd	nd	nd	
Citronelal	1183	1,81±0,00	0,20±0,01	1,65±0,02	2,79±0,01	1,61±0,34	nd	3,12±0,02	nd	nd	
E-Isocitral	1223	0,44±0,00	nd	nd	nd	0,65±0,13	nd	0,56±0,00	nd	nd	
Nonanal	1195	nd	1,10±0,00	nd	nd	0,91±0,20	3,54±0,4	nd	nd	nd	
Citronelol	1233	0,27±0,00	0,98±0,00	0,47±0,01	0,83±0,01	0,41±0,00	nd	nd	nd	nd	
Neral	1241	28,76±0,13	30,70±0,00	29,52±0,51	19,15±0,14	33,73±1,50	11,05±0,89	31,70±0,02	nd	nd	
Nerol	1254	0,53±0,00	0,62±0,01	0,97±0,04	4,39±0,03	0,71±0,09	1,80±0,00	0,82±0,00	nd	nd	
Citronelato de metila	1261	0,27±0,00	0,34±0,01	0,48±0,01	nd	0,26±0,00	nd	0,48±0,00	nd	nd	
Geranial (α -citral)	1271	41,16±0,13	44,57±0,03	43,99±0,75	31,39±0,18	45,90±0,76	22,45±3,67	43,29±0,02	nd	nd	
(2E,4E)-decadienal	1278	0,70±0,02	0,33±0,01	0,33±0,15	0,46±0,01	0,79±0,00	4,48±0,81	0,50±0,01	nd	nd	
Não identificado	1284	nd	0,33±0,01	0,29±0,00	nd	nd	6,30±0,28	0,47±0,01	nd	nd	
Não identificado	1296	nd	0,56±0,00	0,41±0,00	nd	nd	nd	0,96±0,00	nd	nd	
Geraniato de metila	1328	0,74±0,13	1,94±0,00	1,80±0,01	2,09±0,04	1,43±0,16	5,91±0,00	2,04±0,01	nd	nd	
β -humuleno	1371	5,09±0,14	nd	2,66±0,02	0,64±0,02	0,90±0,22	nd	nd	nd	nd	

Constituinte	IR*	Área (%) ± DP								
		Completo	P	K	Ca	Mg	S	Zn		
Ácido gerânico	1369	0,89±0,41	4,40±0,00	0,27±0,05	nd	0,34±0,15	5,21±0,00	0,64±0,00		
Não identificado	1385	7,37±0,12	nd	nd	1,14±0,02	nd	nd	nd		
Acetato de geraniol	1396	1,69±0,01	4,14±0,01	2,85±0,12	6,80±0,01	1,24±0,44	3,02±0,97	2,27±0,00		
Não identificado	1416	0,41±0,00	0,32±0,00	0,41±0,18	nd	0,47±0,03	nd	1,05±0,00		
α-humeleno	1428	nd	nd	nd	1,25±0,02	nd	nd	nd		
β-cariofileno	1434	0,38±0,01	0,30±0,01	nd	nd	nd	1,15±0,00	nd		
Não identificado	1458	1,23±0,01	nd	0,28±0,00	nd	nd	nd	0,47±0,01		
Não identificado	1494	0,45±0,14	0,37±0,01	0,37±0,00	nd	nd	3,06±0,00	nd		
Não identificado	1530	1,08±0,07	0,66±0,01	0,57±0,10	0,80±0,01	nd	4,46±0,43	0,54±0,00		
Óxido de cariofileno	1583	2,67±0,03	2,71±0,00	1,58±0,02	15,65±0,06	2,46±0,21	7,07±2,58	2,51±0,00		
Área total (%)		97,27	96,70	93,48	92,91	97,64	100,00	97,18		
Número de constituintes presentes		23	21	19	15	22	15	19		

*Índice de retenção em coluna HP-5MS na ordem de eluição. nd: não detectado. DP: desvio padrão (n=3).

3.5 Análises químicas da fração volátil

As técnicas de detecção dos constituintes químicos do óleo essencial mostraram diferenças marcantes em relação ao óleo essencial e a fração volátil.

Foram observadas diferenças químicas qualitativas e quantitativas na fração volátil das folhas de *M. officinalis* L. cultivadas em sistema hidropônico com nutrição completa e faltante (Tabela 4). As análises químicas detectaram uma faixa de 6 a 22 constituintes presentes nas amostras, os quais tiveram seus constituintes identificados em mais de 95% da composição química total (Tabela 2). Os tratamentos que apresentaram maiores números de constituintes presentes foram aqueles que omitiram o N e o K. A omissão de N e K também aumentou o número de constituintes no teor de óleo essencial na planta *A. millefolium* L. (ALVARENGA, 2013).

Isopulegol, álcool *trans*-crisantemico, piperitona e acetato de nerol estavam presentes apenas nas amostras com omissão de N. Já os constituintes isocitral, isogeranial e nerol estavam presentes tanto nas amostras com omissão de N quanto naquelas que omitiram K. No tratamento com omissão de K observou-se que quatro constituintes somaram mais de 85% da composição química total da fração volátil, os quais foram o 6-metil-5-hepten-2-ona ($32,23\% \pm 0,43$), neral ($10,34\% \pm 0,55$), geranial ($14,22\% \pm 0,89$) e β -cariofileno ($28,34\% \pm 0,73$).

A omissão de Ca prejudicou a síntese de constituintes químicos voláteis em *M. officinalis* L., pois o menor número de constituintes (6) foi observado nesse tratamento. Além da grande diferença qualitativa, observou-se também uma diferença quantitativa expressiva no teor de citronelal ($69,26\% \pm 11,57$) em comparação com os demais tratamentos. Conforme discutido no item 3.2, apesar da inviabilidade de acúmulo de biomassa com a omissão de Fe o citronelal ($38,09\% \pm 9,54$) também foi o constituinte majoritário nesse tratamento. Yadegari

e Shakerian (2014) também observaram aumento no teor de citronelal com omissão de Fe em *M. officinalis* L.

O constituinte majoritário dos tratamentos completo e com omissão dos nutrientes P, K, Mg, S e Zn foi o 6-metil-5-hepten-2-ona, cujo teor variou entre $32,23\% \pm 0,43$ a $57,19\% \pm 1,29$. Já o citral (neral + geranial) foi o constituinte majoritário do tratamento que omitiu N (45,67%). Existem evidências que 6-metil-5-hepten-2-ona pode ser um produto de reações oxidativas do citral (DEMYTTENAERE et al., 2000). Em plantas sob cultivo hidropônico de *M. officinalis* L., a omissão de nitrogênio parece ter provocado um estresse metabólico na planta desencadeando a oxidação do citral a 6-metil-5-hepten-2-ona.

Pôde-se observar que a síntese dos constituintes voláteis de plantas de *M. officinalis* L. é sensível a nutrição ofertada para as plantas. Os resultados demonstraram que é possível manipular a síntese química qualitativa e quantitativa da fração volátil de plantas de *M. officinalis* L. cultivadas em sistema hidropônico conforme a oferta de macronutrientes e micronutrientes.

Tabela 4. Compostos voláteis das folhas de *M. officinalis* L. cultivada sob omissão de nutrientes. Lavras, 2015.

Constituinte	IR*	Área (%) ± DP									
		Completo	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	
6-metil, 5-hepten-2-one	985	53,73±6,67	2,34±0,07	42,94±2,98	32,23±0,43	4,99±4,56	57,19±1,29	45,45±3,38	18,55±2,79	35,77±3,48	
β-pineno	990	nd	0,12±0,05	nd	0,51±0,07	nd	nd	0,49±0,00	nd	nd	
β-cis-ocimeno	1046	3,68±0,49	0,13±0,01	2,25±1,50	1,60±0,10	nd	5,94±0,64	3,46±1,24	nd	5,43±1,59	
Rosefurano	1097	1,30±0,58	0,23±0,02	1,98±0,17	1,30±0,06	nd	2,74±0,21	nd	nd	2,13±0,42	
Linalol	1100	0,76±0,64	0,11±0,05	0,91±0,02	1,57±0,55	nd	1,17±0,94	1,43±0,16	nd	nd	
Nonanal	1104	nd	0,15±0,11	nd	nd	nd	nd	0,90±0,00	nd	nd	
Isopulegol	1142	nd	0,24±0,16	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Álcool- <i>trans</i> -crisântêmico	1149	nd	5,95±7,46	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Citronelal	1152	4,81±1,17	27,15±2,36	9,72±2,46	3,38±0,68	69,26±11,57	2,89±1,11	8,04±3,57	38,09±9,54	10,92±3,96	
Isocitral	1164	nd	1,08±0,06	nd	0,21±0,16	nd	nd	nd	nd	nd	
Epóxido de rosefuran	1175	1,40±0,33	0,35±0,04	1,41±0,15	3,06±0,08	nd	1,75±0,00	0,81±0,00	nd	nd	
Isogeraniol	1182	nd	1,52±0,12	nd	0,70±0,03	nd	nd	nd	nd	nd	
Neral	1240	3,47±0,87	19,31±2,45	4,04±1,06	10,34±0,55	5,71±0,00	1,48±1,37	4,29±0,69	0,68±0,00	5,92±2,28	
Piperitone	1251	nd	0,26±0,03	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Nerol	1254	nd	0,72±0,32	nd	0,20±0,15	nd	nd	nd	nd	nd	
Metil citronelato	1261	1,05±0,78	3,56±1,63	5,89±4,39	nd	11,53±2,77	1,63±0,00	3,87±1,32	10,33±6,81	4,22±1,08	
Geraniol	1270	6,12±1,99	26,36±3,61	7,11±1,79	14,22±0,89	8,20±1,03	2,12±2,61	6,98±0,75	9,82±0,00	10,57±3,58	
Geraniato de metila	1324	nd	1,01±0,07	1,20±0,03	1,24±0,07	nd	nd	1,38±0,02	1,86±0,00	1,35±0,09	
Acetato de nerol	1384	nd	2,59±1,16	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
β-cariofileno	1413	23,11±7,03	5,64±0,36	21,88±1,48	28,34±0,73	0,30±0,00	23,10±4,00	21,22±7,67	10,64±6,62	22,98±8,13	

Constituinte	IR*	Área (%) ± DP									
		Completo	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	
Óxido de cariofileno	1572	nd	0,66±0,56	nd	0,03±0,00	nd	nd	nd	7,41±6,03	nd	
Área total (%)		99,43	99,60	99,33	99,93	99,99	100,00	99,38	97,38	99,29	
Número de constituintes presentes		10	22	11	16	6	10	13	8	9	

*Índice de retenção em coluna HP-5MS na ordem de eluição. nd: não detectado. DP: desvio padrão (n=3).

4 CONCLUSÕES

O crescimento, produção e qualidade de óleo essencial de *M. officinalis* L. são alterados em função da omissão de nutrientes essenciais, podendo estabelecer um manejo adequado às exigências nutricionais interligando a produção e o teor de óleo essencial.

A ordem crescente de limitação dos nutrientes para o crescimento da planta é N=Fe >K=Ca=P >Zn >S >Mg. Para produção do óleo essencial é N=Fe >S=Ca >Zn=P=K >>Mg.

A ausência de N e Fe é extremamente limitante ao crescimento e desenvolvimento vegetativo da planta *M. officinalis* L. A omissão dos nutrientes Ca e S influencia na qualidade do óleo essencial diminuindo o teor de citral. A omissão de Mg aumenta a clorofila, carotenóides, teor, e o rendimento dos compostos majoritários do óleo essencial de *M. officinalis* L.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecimento às instituições de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro e concessão de bolsa de estudo e produtividade em pesquisa.

REFERÊNCIAS

ADAMS RP. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Illinois: Allured, 804 p. 2007.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª Ed. Brasília. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - RDC n.10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, p.52-59. 10 mar. 2010.

ALVARENGA, I.C.A. Lâminas de irrigação e omissão de nutrientes no cultivo *in vivo* e luz e tdz na micropropagação e constituintes voláteis de *Achillea millefolium* L. **Tese (Doutorado em Fitotecnia)** - Universidade Federal de Lavras, Departamento de agricultura. UFLA. Minas Gerais. 2013.

BENEDETTI, E.L.; WINK, C.; SANTIN, D.; SEREDA, F.; ROVEDA, L.F.; SERRAT, B.M. Crescimento e sintomas em mudas de espinheira santa com omissão de nitrogênio, fósforo e potássio. **Floresta**, v. 39, n. 2, p. 335-343, abr/jun. Curitiba, PR. 2009.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, Vol. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

COELHO, L. C. et al. Caracterização de sintomas visuais, parâmetros de crescimento e desenvolvimento de *Tagetes erecta* sob deficiências nutricionais. **Revista Agrária**, Dourados, v. 4, n.12, p. 113-122, 2011.

DEMYTTENAERE, J.C.R.; HERRERA, M.F.; ABDEL MOTAAL, A.A.; ABD-HAMEED, L.M. Bioactivities, phenolic compounds and *in-vitro*

propagation of *Lippia citriodora* kunth cultivated in Egypt. **Bulletin of Faculty of Pharmacy**, Cairo, v.50, n.1, p. 1-6, june. 2012.

EH, B. et al. Nitrogenous fertilizer influence on quantity and quality values of balm (*Melissa officinalis* L.) **Journal of Agriculture, Extension and Rural Development**, Prabhakaran, v. 1, p. 31-33, 2009.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2ª edição. Editora Planta, Londrina. 2006.

FÁVARO, E.A. Boro e magnésio na produção de óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e avaliação de teor de clorofila. **Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)** – Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, MS. 2008.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG. 2006.

FREITAS, M.S.M. Flavonóides e nutrientes minerais em folhas de maracujazeiro amarelo e deficiência de macronutrientes e boro em maracujazeiro doce. **Tese (Doutorado em Produção Vegetal)** - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Departamento de agricultura. Campos dos Goytacazes, RJ. 2006.

FREITAS, M.S.M.; MONNERAT, P.H.; CARVALHO, A.J.C.; ASCONCELLOS, M.A.S. Sintomas visuais de deficiência de macronutrientes e boro em maracujazeiro doce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.1329-1341. 2011.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, Calif. Agric. Exp. Station, p. 32, (Circular), n.347. 1950.

KOVACIK, J.; BACKOR, M. Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants. **Plant and Soil**, 297,p. 255–265. 2007.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. Chorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UVVIS spectroscopy. In: WROLSTADRE (ed). **Current protocols in food analytical chemistry**. Madison: John Wiley & Sons. p. 431-438. 2001.

LUZ, J.M.Q.; SILVA, S.M.; HABBER, L.L; MARQUEZ, M.O.M. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n.3, Botucatu, jul/set. 2014.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Editora Agronomica Ceres, São Paulo, 638 p. 2006.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Elsevier Ltd. 3ª ed. 2012.

NIST-NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH mass spectral library. Gaithersburg. Software. 2008.

PULGA, A. P. et al. Omissão de macronutrientes no crescimento e no estado nutricional da chicória cultivada em solução nutritiva. *Revista Agrarian*, Dourados, v. 3, n. 7, p. 56-62, 2010.

REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S; CORRÊA, R. M. Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob a influência do meio de cultura. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 331-335, 2009.

SÁ JÚNIOR, A.; CARVALHO, L.G.; SILVA, F.F; ALVES, M.C. Application

of the Koppen classification for climatic zoning in the state of Minas Gerais, Brazil. **Theor Appl Climatol.**, 108:1-7. 2012.

SANTOS, R.C.; FILHO, A.A.M.; COSTA, H.N.R.; PANERO, F.S.; BARRETO, H.C.S.; COSTA, M.C.G.; TONINI, H.; SOUZA, R.C.P. Influência da adubação NPK no rendimento do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis*. **Orbital the electronic journal of chemistry**, V.2, n. 4, out-dez. 2010.

SILVA, C.D.; PEREIRA, P.R.G.; SILVA, D.D.; DINIZ, E.R. Sintomas de deficiência em manjerição (*Ocimum basilicum* L.), em resposta à omissão de macronutrientes, ferro e boro. **Anais da XI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ**, v. 11, n. 2, p. 51-54. 2001.

SILVA, R.C.B.; SCARAMUZZA, W.L.M.; SCARAMUZZA, J.F. Sintomas de deficiências nutricionais e matéria seca em plantas de nim, cultivadas em solução nutritiva. **Cerne**, v. 17, n.1, p. 17-22, jan/mar, Lavras. 2011.

SKREBSKY, E.C.; NICOLOSO, F.T.; MALDANER, J.; RAUBER, R.; CASTRO, G.; JUCOSKI, G.O.; SANTOS, D.R.S. Caracterização das exigências nutricionais de *Pfaffia glomerata* em argissolo vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, jul. Santa Maria, 2008.

SORENSEN, J.M. *Melissa officinalis*. **The Internacional jornal of Aromatherapy**. New York, USA, v. 10, n. ½, p. 7-15, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª Ed. Porto Alegre, 2013.

TOUNEKTI, T. et al. Ionic interactions and salinity affect monoterpene and phenolic diterpene composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 174, n. 3, p. 504-514, 2011.

VIÉGAS, I.J.M.; GALVÃO, J.R.; JÚNIOR, M.L.S.; MELO, N.C.; OLIVEIRA, M.S. Crescimento, composição mineral e sintomas visuais de deficiência

nutricional em ipeca. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p. 141-147, jan/mar. Mossoró. 2014.

VIÉGAS, I. DE J. M.; NAIFF, A.P.M.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; LOBATO, A.K. DA S.; FRAZÃO, D.A.C; CORDEIRO, R.A.M. Visual symptoms, growth and nutrients of *Alpinia purpurata* plants exposed to N, P, K, Ca, Mg and S deficiencies. **Journal of Food, Agriculture & Environment**. 9(3 e 4), p. 1048 - 1051.2011.

VIÉGAS, I.J.M.; SOUZA, G.O.; SILVA, A.F.; CARVALHO, J.G.; LIMA, M.M. Composição mineral e sintomas visuais de deficiências de nutrientes em plantas de pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.). **Acta Amazonica**, v. 43(1), p. 43-50, 2013.

YADEGARI, M.; SHAKERIAN, A. Effects of micronutrients foliar application on essential oils of lemom balm (*Melissa officinalis* L.). **Advances in Environmental Biology**, 8(4), p. 1063-1068. Iran. 2014.

YOUSEFZADEH, S. et al. Effects of Azocompost and urea on the herbage yield and contents and compositions of essential oils from two genotypes of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in two regions of Iran. **Food Chemistry**, Oxford, v.138, n.2-3, p. 1407-1413, May 2013.