

**UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE BOTUCATU  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**CÁLCIO E ETHEPHON NO DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE MENTA (*Mentha Piperita* L.), CULTIVADA EM SOLUÇÃO  
NUTRITIVA**

**JULIANA LETICIA DE FAZIO**

**Dissertação apresentada ao Instituto  
de Biociências, Câmpus de Botucatu,  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre em Ciências Biológicas  
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal.**

**BOTUCATU – SP  
-2007-**

**UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE BOTUCATU  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**CÁLCIO E ETHEPHON NO DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE MENTA (*Mentha Piperita* L.), CULTIVADA EM SOLUÇÃO  
NUTRITIVA**

**JULIANA LETICIA DE FAZIO**

**PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO  
ORIENTADORA**

**Dissertação apresentada ao Instituto  
de Biociências, Câmpus de Botucatu,  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre em Ciências Biológicas  
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal.**

**BOTUCATU – SP  
-2007-**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

De Fazio, Juliana Leticia.

Cálcio e ethephon no desenvolvimento e produção de óleo essencial de menta (*Mentha piperita* L.), cultivada em solução nutritiva /  
Juliana Leticia De Fazio. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de  
Bióciências de Botucatu, 2007.

Orientadora: Carmen Silvia Fernandes Boaro

Assunto CAPES: 20303017

1. Hortelã - Cultivo 2. Menta 3. Plantas aromáticas - Fisiologia

CDD 633.82

Palavras-chave: Lamiaceae; Menta; Nutrição mineral; Reguladores vegetais.

"O homem pretende ser imortal e para isso defende princípios efêmeros. Um dia, inexoravelmente, descobrirá que para ser imortal deverá defender Princípios Absolutos. Nesse dia, morrerá para a carne, efêmera, e viverá para o Espírito, Eterno. Será Imortal."

Dr. Celso Charuri

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, José Carlos e Neusa,*

*O momento que vivo agora é fascinante e só existe porque vocês se doaram em silêncio e aceitaram viver comigo o meu sonho. Presentearam-me com a riqueza do estudo e fizeram de mim não apenas profissional, mas sobretudo ser humano. Queridos pais, a emoção me cala, ficando a certeza de que hoje lhes ofereço essa vitória, pois tudo o que tenho feito é receber. Muito obrigada pelo amor, incentivo e por sempre tornarem realidade todos os meus sonhos.*

*Aos meus irmãos, Márcia, Eduardo e Andréa, por toda a amizade, apoio e companheirismo.*

*Ao Prof. Dr. José Antonio Proença Vieira de Moraes, sempre meu Professor.  
O seu incentivo e ajuda foi o passo inicial dessa conquista.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha existência e pelas bênçãos em minha vida.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Silvia Fernandes Boaro, pela orientação, confiança e amizade durante todo esse tempo.

Aos professores João Domingos Rodrigues, Elizabeth Orika Ono e Gisela Ferreira, pela amizade e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Lin Chau Ming, pela disponibilidade de usar o Laboratório de Plantas Medicinais para a realização da extração do óleo essencial.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Martha Maria Mischan, pelo auxílio prestado nas análises estatísticas.

Ao auxiliar acadêmico do Departamento de Botânica, José Eduardo Costa, pela amizade e por todo auxílio prestado durante a realização deste trabalho.

Ao Senhor Auro Pires, pela amizade, apoio e pelo auxílio na condução prática do experimento.

Aos funcionários do Departamento de Botânica e da Seção de Pós-graduação, pela disponibilidade e amizade.

À Universidade Estadual Paulista e ao corpo docente do Departamento de Botânica, pela oportunidade de realizar este curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Aos amigos Valdir, Maria Cristina, Leandro, Lina, Amanda e Flávia, pela ajuda prestada e pelos momentos de alegria e descontração.

À grande amiga Lidiane Ritsue Nagoshi, pela amizade sincera, paciência e apoio em todos os momentos.

Aos amigos Joseane Scavroni e Leonardo Cesar Ferreira, pelo auxílio na confecção dos abstracts.

Aos amigos da Pró-Vida, pelo carinho e amizade.

## ÍNDICE

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
REVISÃO DE LITERATURA.....	12
CAPÍTULO I – Cálcio e ethephon no desenvolvimento e produção de óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L., cultivada em solução nutritiva.....	29
CAPÍTULO II – Análise de crescimento e produção de óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. em solução nutritiva com variação de cálcio e ethephon.....	56
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
CONCLUSÕES.....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
APÊNDICES.....	102

DE FAZIO, J.L. **Cálcio e ethephon no desenvolvimento e produção de óleo essencial de menta (*Mentha piperita* L.), cultivada em solução nutritiva.** 2007. 101 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

**RESUMO** – A *Mentha piperita* L., planta aromática da família Lamiaceae, é uma espécie de grande interesse econômico na obtenção de óleos essenciais. Seu óleo é amplamente empregado como aditivo de alimentos, em produtos de higiene bucal e em preparações farmacêuticas. Este estudo objetivou avaliar a influência da variação do nível de cálcio em solução nutritiva, associada à aplicação de ethephon, no desenvolvimento e na produção do óleo essencial de menta. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, SP. Para tanto, as plantas foram cultivadas em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon, contendo 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e na mesma solução com sua redução para 50%, 80 mg L<sup>-1</sup> e 90%, 16 mg L<sup>-1</sup> e submetidas à pulverização foliar com 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, onde permaneceram até as datas de colheitas, realizadas aos 46, 76, 106 e 136 dias após o transplante das mudas para a solução nutritiva. O delineamento foi inteiramente casualizado com doze tratamentos, constituídos por três níveis de cálcio e quatro doses de ethephon, quatro repetições e quatro colheitas. A aplicação do ethephon, via foliar, foi realizada em quatro épocas, com intervalos de 30 dias, tendo início aos 31 dias após transplante das mudas para a solução nutritiva. Em cada colheita foram determinados, o comprimento de parte aérea, a área foliar, a matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos, de raízes e total das plantas. Para a análise de crescimento foram determinados os índices fisiológicos, taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa assimilatória líquida (TAL), razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE). O óleo essencial foi extraído da parte aérea das plantas, constituída pelos caules, pecíolos e lâminas foliares, por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, durante uma hora e meia. Após a destilação, o rendimento do óleo foi medido em g 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca. O comprimento de parte aérea, a área foliar, a matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos, de raízes e total das plantas, os índices fisiológicos RAF, AFE, TCA, TAL e TCR, além do rendimento de óleo essencial foram influenciados pela redução do nível de cálcio na solução nutritiva e pela utilização de ethephon. Com exceção da AFE e do rendimento de óleo essencial, com maiores teores nas plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, as demais variáveis apresentaram melhor comportamento quando as plantas foram cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup>. Assim, pode-se sugerir nível excessivo de cálcio na solução completa. No entanto, sugere-se a avaliação da composição química do óleo essencial para aferir a qualidade quando as plantas foram cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, uma vez que embora aos 136 DAT essas plantas tenham apresentado adequado rendimento de óleo, ele não atingiu os teores apresentados pelas plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio. De maneira geral, a redução do nível de cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup> prejudicou o desenvolvimento e o rendimento de óleo essencial. O ethephon também influenciou o desenvolvimento das plantas de menta. Sua utilização nas dosagens de 200 e 400 mg L<sup>-1</sup>, associada a todos os níveis de cálcio e, em especial, ao menor e igual a 16 mg L<sup>-1</sup>, reduziu todas as variáveis avaliadas, acima referidas, prejudicando o desenvolvimento da menta e o rendimento de seu óleo essencial, principalmente a partir dos 106 DAT. Com base nos resultados obtidos, sugere-se que a influência da associação do nível de cálcio com diferentes doses de ethephon, no desenvolvimento e produção de óleo essencial das plantas de menta, possa ter ocorrido devido à relação existente entre a concentração celular deste íon e a biossíntese de etileno, considerando a participação do cálcio na atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, que apresentam importante papel na referida biossíntese. No entanto, estudos futuros deverão ser realizados para a confirmação dessa hipótese.

**Palavras-chave:** Lamiaceae, menta, reguladores vegetais, nutrição mineral.

## ABSTRACT

### **Calcium and ethephon on the development and essential oil yield of peppermint (*Mentha piperita* L.) grown in nutritive solution.**

*Mentha piperita* L., an aromatic plant from Lamiaceae family, is a species with great economic interest for producing essential oils. Its oil is extensively employed as food additive, in products of mouth hygiene and in pharmaceutical formulas. This research aimed to evaluate the influence of the calcium level variation in nutritive solution, associated to ethephon application, on the development and in the essential oil yield of mint. The experiment was conducted in the greenhouse at the Bio Science Institute/ Botany Department, UNESP, Botucatu-SP. Thus, all plants were grown in a n<sup>o</sup> 2 Hoagland & Arnon nutritive solution, varying the calcium level in three different proportions: the first group contained the standart level of calcium, of 160 mg L<sup>-1</sup> found in this nutritive solution. The second group was grown with Ca<sup>2+</sup> reduction in 50%, therefore, 80 mg L<sup>-1</sup>. The third group was grown with Ca<sup>2+</sup> reduction in 90%, therefore, 16 mg L<sup>-1</sup>. The three groups were submitted to leaf pulverization with 100, 200 and 400 mg L<sup>-1</sup> of ethephon. Thus, the plants remained with this treatment until the dates of harvests, which were performed at 46, 76, 106 and 136 days after the transplantation to nutritive solution. The design was completely randomized with twelve treatments constituted of three and four levels of calcium and ethephon, respectively, four replicates and four harvests. The application of ethephon on the leaves first started at the 31<sup>st</sup> day after the transplantation (DAT) to nutritive solution, and was performed at four epochs, with intervals of 30 days. Shoot length, leaf area, and dry matter of leaf blades, stems plus petioles, roots and total of the plants were determined in each harvest. For growth analysis, it was measured the physiological indexes absolute growth rate (AGR), relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR), leaf area ratio (LAR) and specific leaf area (SLA). The essential oil was extracted from the plant shoot, which was constituted of stems, petioles and leaf blades, through hydrodistillation in a Clevenger-type device for one and half hour. After distillation, the oil yield was calculated as g 100 g<sup>-1</sup> dry matter. Shoot length, leaf area, dry matter of leaf blades, stems plus petioles, roots and total of the plants, the physiological indexes LAR, SLA, AGR, NAR and RGR, besides of their essential oil yield were influenced by calcium level decrease in nutritive solution and ethephon application. Except SLA and the essential oil yield with in higher levels in the plants grown with 160 mg L<sup>-1</sup> of Ca<sup>2+</sup>, the other variables showed better behavior when plants were grown with 80 mg L<sup>-1</sup>. Thus, an excessive level of calcium in nutritive solution is suggested. However, the evaluation of chemical composition of the essential oil is recommended in order to survey the quality when plants were grown with 80 mg L<sup>-1</sup> of Ca<sup>2+</sup>. Although at 136 DAT these plants have showed a suitable oil yield, it didn't reach the levels showed by the plants grown with 160 mg L<sup>-1</sup> of Ca<sup>2+</sup>. In a general way, the reduction of calcium level to 16 mg L<sup>-1</sup> damaged the development and thus, the essential oil yield. The use of ethephon also influenced the development of peppermint plants. When it was applied at 200 and 400 mg L<sup>-1</sup> levels associated to every calcium levels, specially to the lowest and equal to 16 mg L<sup>-1</sup>, this regulator decreased all above mentioned evaluated variables and damaged the peppermint development and its essential oil yield, mainly from 106 DAT. Based on the results obtained, the influence of calcium level associated to different ethephon levels on the peppermint plants development and essential oil yield has occurred due to the relation existent between Ca<sup>2+</sup> cellular concentration and the ethylene biosynthesis. Where calcium participates in ACC synthase and ACC oxidase enzymes activity, showing an important role in this biosynthesis. However, in order to ratify this hypothesis, future researches must be done.

**Key-words:** Lamiaceae, peppermint, plant regulators, mineral nutrition.

## INTRODUÇÃO

Devido à utilização crescente nas indústrias alimentícia, de cosméticos e farmacêutica, o cultivo de espécies aromáticas e a obtenção de seus óleos essenciais constituem hoje, importantes atividades econômicas. Nessas indústrias destacam-se sua utilização como condimentos e aromatizantes de alimentos e bebidas, em perfumes e produtos de limpeza e higiene. Muitos óleos essenciais são ainda utilizados em função de suas propriedades terapêuticas e para a aromatização de fórmulas farmacêuticas destinadas a uso oral (Simões et al., 1999).

Entre as espécies aromáticas, as plantas da família Lamiaceae como a sálvia (*Salvia officinalis* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), manjericão (*Ocimum basilicum* L.) e a menta (*Mentha piperita* L.) possuem importância econômica, sendo utilizadas como medicinais, condimentares, aromáticas e ornamentais (Judd et al., 1999).

A *Mentha piperita* L., conhecida como hortelã, hortelã pimenta, menta, menta inglesa, hortelã-apimentada ou sândalo, é uma erva aromática, anual ou perene, de mais ou menos 30 cm de altura, semi-ereta. Seus ramos variam do verde escuro ao roxo purpúreo e suas folhas são elíptico-acuminadas, denteadas e pubescentes. A planta apresenta grande interesse econômico na obtenção de óleos essenciais, que tem ação antimicrobiana e espasmolítica. Na forma de chá abafado de suas folhas, a menta pode ser usada para facilitar a digestão e a eliminação de gases do aparelho digestivo (Goutham, 1980; Simões & Spitzer, 2000; Lorenzi & Matos, 2002).

Os óleos essenciais, também chamados óleos voláteis, etéreos ou simplesmente essências, são encontrados em várias partes das plantas (Tyler et al., 1988; Simões et al., 1999). Substâncias odoríferas como os óleos essenciais, foram consideradas por muito tempo como “desperdício fisiológico” ou produtos de desintoxicação, como também eram vistos os outros produtos do metabolismo secundário. Atualmente, a eles são atribuídas funções ecológicas, como inibição da germinação, proteção contra predadores e atração de polinizadores (Simões et al., 1999).

Alguns estudos demonstram que além da variação de nutrientes na solução nutritiva, a época de cultivo pode alterar a quantidade e a qualidade do óleo obtido, o que está de acordo com as observações de Castro et al. (2001) que referiu que a composição qualitativa e quantitativa do óleo das plantas medicinais pode variar durante as fases de crescimento, tornando-se importante que a planta seja colhida na época apropriada. Alguns estudos referem que a melhor época de colheita para obtenção de maior rendimento de óleo de *Mentha piperita* coincide com a fase de florescimento da espécie, o que nem sempre pode ser

observado quando as plantas são cultivadas em casa de vegetação, uma vez que, em geral, não florescem.

O cultivo de plantas na ausência de solo, em sistema completamente ou parcialmente controlado pode aumentar a produtividade vegetal e essa técnica pode permitir o desenvolvimento de todas as potencialidades das plantas (Mairapetyan, 1999). No Brasil, a hidroponia apresenta-se hoje como alternativa para a obtenção de produtos saudáveis, de excelente qualidade, praticamente isentos de agrotóxicos e com alto valor nutritivo (Teixeira, 1996).

Entre os elementos essenciais que devem estar presentes em qualquer solução nutritiva para atender aos cultivos hidropônicos, o cálcio é um macronutriente que exerce papel chave no crescimento e desenvolvimento.

Devido às variações em sua concentração celular, atua por meio de proteínas moduladoras e suas moléculas-alvo, regulando vários processos celulares. Tais ações regulatórias variam desde o controle do transporte iônico até a expressão gênica, efeitos possíveis devido ao sistema homeostático, que regula os níveis celulares desse cátion (Kretsinger, 1990). Na célula vegetal, o cálcio apresenta desde função estrutural na parede celular, até atuação como mensageiro secundário de muitas respostas celulares (Marschner, 1995).

Deve ser registrada a existência de poucos estudos na literatura que investigaram a influência da nutrição mineral no desenvolvimento da *Mentha piperita*. No entanto, entre eles não foram identificados estudos com variação de cálcio na solução nutritiva.

Além dos nutrientes minerais, os reguladores vegetais também influenciam os processos de crescimento e desenvolvimento de um órgão ou tecido, dependendo da espécie, da parte da planta, do estágio de desenvolvimento, da concentração utilizada, da interação com outros reguladores e de fatores ambientais (Salisbury & Ross, 1992). Tais reguladores, ao influenciarem o crescimento de plantas medicinais e aromáticas podem possibilitar aumento de produção de óleos essenciais, interferindo em sua qualidade (Shukla & Farooqi, 1990).

Entre os reguladores vegetais, o ethephon, descoberto por seu efeito no crescimento de plântulas e no amadurecimento dos frutos, regula ainda várias respostas, incluindo a germinação de sementes, a expansão celular, o florescimento, a senescência e a abscisão (Taiz & Zeiger, 2004; Arteca, 1995).

Quando variações nas concentrações de nutrientes essenciais são estabelecidas no meio de cultivo das plantas e aplicações de reguladores são realizadas, a produtividade

vegetal pode ser avaliada por meio de análise de crescimento, técnica que independente das dificuldades inerentes ao conhecimento sobre a complexidade que envolve o crescimento das plantas, ainda é a mais acessível e precisa para avaliá-lo e inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos sobre o comportamento vegetal (Causton & Venus, 1981; Magalhães, 1986). A produtividade do vegetal, portanto, pode inferir sua produção, na dependência de fatores internos, ligados à própria planta e externos, ligados ao ambiente.

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da variação do nível de cálcio em solução nutritiva, associada à aplicação de ethephon, no desenvolvimento e na produção do óleo essencial de *Mentha piperita* L..

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Família Lamiaceae

A família Lamiaceae pertence à subclasse Asteridae e à ordem Lamiales (Cronquist, 1981) e possui aproximadamente 300 gêneros e 7500 espécies. No Brasil, ocorrem 26 gêneros e cerca de 350 espécies (Souza & Lorenzi, 2005). Muitos desses gêneros foram trazidos pelos colonizadores e se aclimataram facilmente, sendo cultivados em hortas e jardins, como o gênero *Mentha* (menta), *Ocimum* (alfavaca), *Lavandula* (alfazema), *Origanum* (orégano), *Majorana* (manjerona), *Rosmarinus* (alecrim) e *Salvia* (sálvia) (Joly, 1993). Todos compartilham uma importante característica da família que é a presença de odor intenso, conferido pela presença de óleos essenciais (Martins, 1998).

Em geral, as plantas dessa família são herbáceas ou arbustivas, com folhas opostas e inteiras (Souza & Lorenzi, 2005). As flores são pequenas ou grandes, reunidas em inflorescências, quase sempre axilares. Essas flores são diclamídeas, hermafroditas, pentâmeras, zigomorfas e bilabiadas. Apresentam dois ou quatro estames, ovário súpero, bicarpelar, bilocular, com dois óvulos por lóculo e falsamente tetralocular por invaginação dos carpelos. O fruto é do tipo baga e suas sementes raramente possuem endosperma, que quando aparece, é escasso (Barroso, 1986; Heywood, 1993; Joly, 1993; Souza & Lorenzi, 2005).

Pela riqueza em óleos essenciais, espécies da família Lamiaceae tem sido amplamente investigadas sob o ponto de vista agrônômico e químico, não apenas com o intuito de maximizar o conteúdo de óleo essencial, mas também buscando avaliar a variação dos constituintes importantes desses óleos (Martins, 1998).

### 2. *Mentha piperita* L.

A *Mentha piperita* L., conhecida como hortelã, hortelã pimenta, menta, menta inglesa, hortelã-apimentada ou sândalo, é uma erva aromática, anual ou perene, de mais ou menos 30 cm de altura, semi-ereta. Seus ramos variam do verde escuro ao roxo purpúreo e suas folhas são elíptico-acuminadas, denteadas e pubescentes (Goutham et al., 1980; Simões & Spitzer, 2000; Lorenzi & Matos, 2002).

### 3. Óleos essenciais

A ISO (International Standard Organization) define entre os óleos essenciais aqueles obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água. De forma geral, os óleos, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências (Simões & Spitzer, 2000).

Gershenzon (1984) e Gottlieb (1985) registram que os óleos essenciais desempenham também funções de defesa na planta, além de apresentarem importância do ponto de vista ecológico, nas interações planta-planta, planta-fungo e planta-animal. Nesse sentido, Miller (1966), citado por Odum (1988), relatou um caso conhecido da interação planta-planta verificado na vegetação de chaparral da Califórnia, onde as espécies *Salvia leucophylla* e *Artemisia californica* ao liberarem toxinas voláteis para o solo, impediram o desenvolvimento de outras plantas em suas proximidades.

Segundo Gottlieb (1985), a interação planta-animal é caracterizada em especial pela função antiherbivoria que os óleos essenciais apresentam e mais de 100.000 grupos químicos já foram identificados nos vegetais (Howe & Westley, 1988).

Maia (1998) registrou variações químicas e físicas dos componentes do óleo essencial de menta, por se tratar de mistura de compostos de diversas naturezas que a planta acumula a taxas específicas. Essas taxas e, conseqüentemente os teores das substâncias presentes no óleo, são muito dependentes de fatores ambientais. A composição química dos óleos essenciais, portanto, é influenciada pelo ambiente no qual o vegetal se desenvolve e pelo tipo de cultivo realizado. A intensidade da biossíntese de óleos essenciais, compostos de valor comercial, são de modo freqüente, correlacionados com a otimização da nutrição mineral (Mairapetyan, 1999; Simões & Spitzer, 2000). Dessa forma, plantas desenvolvidas sob diferentes condições podem conter óleos com características diferentes.

Os constituintes do óleo essencial variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos de enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações e normalmente, um deles é majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades, ou seja, traços (Simões & Spitzer, 2000).

Charles et al. (1990) referem entre as porcentagens máxima e mínima, dos principais componentes do óleo essencial de menta, as de mentol e de mentona, variando respectivamente entre 57,8 e 46,1% e 20,7 e 16,4%.

Segundo Araújo (1966), o óleo essencial na menta, encontrado em células oleíferas, distribuídas pelas folhas e em conjuntos florais, presentes em outras partes da planta é extraído na razão média de 1% da massa do material a ser destilado.

Devido ao fácil cultivo, a multiplicação da menta pode ser feita em qualquer momento, em especial na primavera ou no outono, por divisão de estolões subterrâneos ou superficiais (Loewenfeld & Back, 1980). No entanto, a menta é exigente quanto à fertilidade do solo (Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1981).

Alguns estudos demonstram que além da nutrição mineral, a época de cultivo e de colheita das plantas pode alterar a quantidade e a qualidade do óleo obtido, o que está de acordo com as observações de Castro et al. (2001) que referiu variação durante as fases de crescimento, tornando-se importante a colheita na época apropriada.

Ellis (1944) realizou estudos com *Mentha piperita* L., durante três anos, nos EUA e mostrou que a época de colheita pode ser determinada pela análise do teor de mentol livre no óleo, pelo método viscométrico. Elevados rendimentos são associados ao teor de mentol, em torno de 45%.

Rabak (1917) trabalhando com *Mentha piperita* L., nos EUA, obteve o maior rendimento de óleo quando as plantas atingiram o máximo florescimento, afetado pelas condições de solo e clima. O autor refere ainda que se as plantas forem secas antes da destilação pode ocorrer redução na produção do óleo, em função de mudanças favoráveis à formação de ésteres e produção de ácidos livres. Conclui também, que o rendimento de óleo nas plantas decresce com a maturação, incrementando sua porcentagem de ésteres e o teor de mentol, portanto, importante componente do óleo, tem relação com o conteúdo de ésteres.

Topalov & Zhelyazkov (1991), estudaram *Mentha piperita* L., clone nº 1 e *M. arvensis* L. cv Mentona 14, na Bulgária. Os autores avaliaram a produção de óleo em três estádios de desenvolvimento, 50% de florescimento, 100% de florescimento e após o florescimento. A *Mentha piperita* L. atingiu 50% do florescimento entre 97 e 100 dias após o plantio e a *Mentha arvensis* L. entre 107 e 109 dias após o plantio. Os maiores rendimentos de ambas as espécies foram alcançados com 50% de florescimento. O rendimento de óleo apresentou redução de 12% na *Mentha piperita* L. e de 9% na *Mentha arvensis* L., quando colhidas com 100% de florescimento. Colheitas após o florescimento, resultaram em redução de 62% para *Mentha piperita* L. e de 76% para *Mentha arvensis* L.. No entanto, o conteúdo de mentol no

óleo da *Mentha piperita* L. aumentou nas colheitas mais tardias, e assim, a colheita após o florescimento, apesar de diminuir o rendimento de óleo, aumenta sua qualidade, aumentando o teor de mentol. Para a *Mentha arvensis* L. a colheita após o florescimento não afetou o teor de mentol no óleo, mas, o rendimento e a qualidade foram reduzidos com a colheita muito precoce.

Leal (2001), David (2003) e Valmorbidia (2003) estudaram *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) com variação respectivamente de nitrogênio, fósforo e potássio, em relação aos níveis preconizados na solução completa. Leal (2001) realizou o cultivo entre dezembro e março, David (2003) entre janeiro e maio e Valmorbidia (2003) entre outubro e fevereiro. Apenas no estudo de Leal (2001) as plantas submetidas ao tratamento com nível completo de nitrogênio e igual a 210 mg L<sup>-1</sup> floresceram. Nos outros dois estudos, mesmo as plantas submetidas ao tratamento com solução nutritiva completa, não floresceram. Estes resultados dificultam ainda mais a decisão sobre o melhor momento para a colheita das plantas com possibilidade de obtenção de maior rendimento e melhor qualidade do óleo.

Alguns estudos referem que a melhor época de colheita da *Mentha piperita* para obtenção de maior rendimento de óleo coincide com a fase de florescimento da espécie, o que torna-se difícil precisar quando as plantas são cultivadas em casa de vegetação, uma vez que nem sempre florescem.

#### **4. Hidroponia**

Plantas aromáticas desenvolvidas em hidroponia apresentaram maior produtividade em relação àquelas cultivadas de modo tradicional, acumulando de 3 a 6 vezes mais óleo essencial por área (Mairapetyan, 1999).

A escolha da solução nutritiva para o cultivo hidropônico é fundamental para o seu êxito. Não existe uma solução ideal para todas as espécies vegetais já que, de acordo com Malavolta (1980), cada espécie vegetal tem uma exigência nutricional diferente. Assim, a escolha de uma solução nutritiva depende de fatores, ligados com a própria solução, com as condições de clima e com a espécie vegetal. A composição da solução deve variar com o crescimento da planta, sendo a amplitude de variação dependente da relação entre seu crescimento e o volume de solução empregado. A variação induzida pelo crescimento causa decréscimo nas quantidades de sais disponíveis para as raízes, além de levar a alteração qualitativa, uma vez que, nem todos os elementos são absorvidos nas mesmas proporções.

Outro efeito de variação é a alteração do pH do meio, que pode induzir precipitações, tornando indispensáveis na solução elementos essenciais, em especial, o ferro e o manganês. Desta forma, o desenvolvimento das plantas envolve, a escolha de solução apropriada para o plantio, o controle contínuo com adição de sais, o controle do pH e a substituição periódica de toda a solução (Sarruge, 1975).

Vários estudos foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos da nutrição mineral sobre a produção e a composição do óleo essencial de espécies da família Lamiaceae, dentre elas *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Mentha crispa* e *Mentha arvensis*. Mairapetyan (1999) estudou a otimização das relações N:P:K em *Mentha piperita* L., em cultivo hidropônico e concluiu que a menta requer maior suprimento de fósforo para o máximo acúmulo de óleo essencial. Leal (2001) trabalhando com *Mentha piperita* L., em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon com diferentes níveis de nitrogênio, concluiu que níveis de nitrogênio iguais a 263 e 315 mg L<sup>-1</sup>, acima daquele recomendado na solução completa e igual a 210 mg L<sup>-1</sup> interferiram com o desenvolvimento das plantas, diminuindo a produção e a qualidade do óleo essencial, que apresentou menor teor de mentol. Rodrigues et al. (2002) testaram o efeito da relação NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e concentrações de potássio na solução nutritiva sobre o crescimento de *M. piperita* L.. Os resultados revelaram a intolerância da espécie à elevadas concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e seu efeito inibitório na absorção do K<sup>+</sup>. Valmorbidia et al. (2006) ao avaliarem a mesma espécie cultivada em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon, concluíram que a menta pode ser cultivada com redução de 50 a 75% do potássio recomendado na solução nutritiva, e iguais respectivamente a 117,0 e 58,5 mg L<sup>-1</sup>, apresentando rendimento e qualidade do óleo essencial satisfatórios. A diminuição de potássio aumentou o teor de mentol nas plantas e não interferiu com o conteúdo de óleo produzido. David et al. (2006) trabalhando com a *Mentha piperita* L. na mesma solução contendo 31,0 mg L<sup>-1</sup> de fósforo, observaram que a redução de 50% do elemento, ou seja, 15,5 mg L<sup>-1</sup> na solução não foi deficiente para as plantas, com resultados satisfatórios para o teor de mentol. No entanto, quando as plantas foram cultivadas com acréscimo de 50% de fósforo na solução e igual a 46,5 mg L<sup>-1</sup>, a produção de matéria seca e de óleo essencial tendeu a ser maior. No entanto, foram observados maiores teores de mentona. Os autores concluíram que a variação do nível de fósforo na solução nutritiva pode resultar em plantas com variação do rendimento e composição do óleo essencial. Picchi et al. (2002) verificaram que plantas de *Mentha spicata* x *suaveolens*, cultivadas em solução nutritiva baseada na de Hoagland & Arnon e contendo 40, 80, 120 e 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, apresentaram, nas concentrações mais elevadas, raízes menos volumosas e mais finas. Santos

et al. (2002) avaliaram a cultura de *Ocimum basilicum*, em solução nutritiva proposta por Furlani (1998) nas concentrações de 50%, 75%, 100% e 125%. Os resultados indicaram que a alfavaca deve ser cultivada na concentração padrão, igual a 100%. Bueno (2004) trabalhando com *Thymus vulgaris* L., em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) com diferentes níveis de fósforo, concluiu que o nível de fósforo igual a 46,5 mg L<sup>-1</sup> e acima daquele recomendado na solução completa e igual a 31 mg L<sup>-1</sup>, interferiu no desenvolvimento das plantas, aumentando o comprimento, a matéria fresca e seca de parte aérea, a matéria seca de raízes e a matéria seca total, o rendimento e o conteúdo do óleo essencial, com aumento do teor de carvacrol. Ferrari et al. (2005) cultivando plantas de hortelã (*Mentha crispa* L.), em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950), com redução do nível de cálcio de 200 para 60 mg L<sup>-1</sup> até 46 dias após transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir e para 30 mg L<sup>-1</sup>, observaram que os níveis mais baixos e iguais a 60/20 e 30 mg L<sup>-1</sup> promoveram redução no comprimento do caule, área foliar, matéria fresca de parte aérea, matéria seca de caules mais pecíolos e total, sendo que somente na concentração igual a 30 mg L<sup>-1</sup> ocorreu redução da matéria seca de folhas e de raízes.

Plantas de *Mentha arvensis*, cultivadas em solução nutritiva deficiente em zinco, mostraram folhas pequenas com clorose internerval no terceiro par, apresentando internós curtos (Misra, 1990).

Os estudos acima referidos indicam que as diferentes espécies apresentam comportamentos variáveis em função dos diferentes nutrientes avaliados. Deve ser ressaltado que desses estudos apenas dois avaliaram cálcio.

## 5. Cálcio

A absorção desse nutriente ocorre no ápice radicular na forma iônica Ca<sup>2+</sup> (Taiz & Zeiger, 2004).

Na planta, o cálcio move-se com a água, e sua movimentação e teor nos tecidos estão sujeitos à taxa de transpiração (Collier & Huntington, 1983). Uma vez depositado, o cálcio não apresenta redistribuição para outras partes da planta, sendo acumulado principalmente em tecidos que transpiram mais facilmente (Millaway & Wiersholm, 1979). Nos órgãos que apresentam dificuldade de transpiração, como as folhas novas e mais internas, o transporte do cálcio é dependente das condições ambientais que favoreçam o desenvolvimento da pressão radicular (Bradfield & Guttridge, 1984).

No floema o cálcio é imóvel, uma vez que, grande parte do elemento absorvido encontra-se na parede celular e lamela média formando os pectatos de  $\text{Ca}^{2+}$ , que apresentam, portanto, função estrutural (Taiz & Zeiger, 2004).

A entrada do cálcio no citoplasma ocorre por canais de  $\text{Ca}^{2+}$ . Os canais de cálcio localizados na membrana plasmática são chamados de canais de influxo e são a principal rota de entrada desse íon no citoplasma. A velocidade de influxo de cálcio pelos canais (Hille, 1992) e os sensores que determinam a abertura ou fechamento de seus portões (Taiz & Zeiger, 2004) permitem o controle preciso das propriedades cinéticas do influxo de cálcio no citoplasma. Esses canais podem ser classificados quanto à forma de operação e controle. Assim, existem os operados por diferença de voltagem, mecanicamente por estiramento celular e por mensageiros secundários. Nos operados por voltagem, a simples variação do potencial elétrico para cálcio atuando sobre os canais determina sua abertura e/ou fechamento (Bush, 1995). Os canais de influxo de cálcio operados mecanicamente são controlados por tensão/estiramento celular, resultante do processo de crescimento celular e estão presentes na membrana plasmática de muitas células. Bush (1995) registrou que esses canais são estimulados por exemplo, por regulação celular do turgor, respostas tigmotrópicas, toxidez ao alumínio, provavelmente devido à competição pelas pontes iônicas de  $\text{Ca}^{2+}$  de grupos carboxílicos não esterificados das redes de pectinas da parede celular, temperatura, dentre outros estímulos. O autor também ressaltou que esses canais podem não ser específicos ao cálcio, respondendo também ao potássio.

Quanto aos canais de cálcio operados por mensageiros secundários, reguladores vegetais, fitocromos e outros sensores bioquímicos seriam responsáveis pela resposta de alguns deles na célula. Os reguladores vegetais tanto endógenos como exógenos devem ser considerados, uma vez que, seu modo de ação na célula proposto há algum tempo ainda é importante nas tentativas de explicações das respostas biológicas. Devem ser destacados os reguladores vegetais e compostos químicos capazes de adentrarem a célula daqueles que apenas atuam na membrana plasmática. Os que difundem pela membrana plasmática e adentram a célula são os chamados lipofílicos e apresentam receptores no citoplasma e/ou núcleo para operarem o sistema gênico. Já os compostos que não conseguem adentrar a célula, os hidrofílicos, apresentam receptores na membrana plasmática (Taiz & Zeiger, 2004). Atualmente existem modelos bem aceitos no que dizem respeito aos receptores membranares e à seqüência de ocorrência de eventos bioquímicos. Em um modelo, recentemente proposto, ocorre a formação de GMPcíclico, que seria um mensageiro secundário específico para estímulos gerados por fitocromos e giberelinas (Taiz & Zeiger, 2004).

O mensageiro secundário 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) ativa especificamente canais de cálcio. Segundo o modelo existente, o complexo hormônio-receptor ativa a fosfolipase C (PLC), enzima localizada na membrana, onde hidroliza o grupo de fosfolipídeos 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol ( $PIP_2$ ), liberando os compostos ativos, 1,4,5-trifosfato de inositol ( $IP_3$ ) e diacilglicerol (DAG), que apresenta glicerol, insolúvel em água. (Salisbury & Ross, 1992; Bethke et al., 1995; Taiz & Zeiger, 2004). O  $IP_3$  produzido é solúvel em água e difunde-se através do citoplasma até encontrar sítios de ligação no tonoplasto. Esses sítios de ligação são sensores dos portões de canais de cálcio, que se abrem quando ligados ao  $IP_3$  (Salisbury & Ross, 1992; Bethke et al., 1995; Taiz & Zeiger, 2004).

A saída do cálcio do citoplasma ocorre por meio de bombas  $Ca^{2+}$ -ATPases, que pertencem a um grupo de bombas iônicas, as ATPases do tipo P, que formam um intermediário fosforilado durante o transporte (Bush, 1995). Nas plantas, as ATPases do tipo P ocorrem na membrana plasmática, são altamente dependentes de ATP, inibidas por vanadato e insensíveis a protonóforos. A formação de intermediários fosforilados é dependente de cálcio (Bush, 1995). As ATPases de cálcio em plantas apresentam baixíssimo Km, com alta afinidade por esse íon (Evans et al., 1991).

Os estudos conduzidos na identificação de tipos de ATPases, localização celular e função encontram restrições devido à variação nos níveis de cálcio durante as avaliações, causada por vento, toque físico e estresses, de maneira geral.

No vacúolo, um dos locais onde é acumulado, o cálcio entra por transportadores secundários  $Ca^{2+}/H^+$  tipo antiporte e nesse caso, para cada  $Ca^{2+}$  que entra saem 3  $H^+$ . Esses transportadores requerem ATPases de  $H^+$  na membrana para geração da força motriz protônica e, portanto, estão restritos a membranas com bombas de  $H^+$ . São abundantes e muito ativos no tonoplasto (Taiz & Zeiger, 2004). O transportador  $Ca^{2+}/H^+$  tipo antiporte apresenta baixa afinidade por cálcio, não existindo um consenso na literatura científica sobre sua estequiometria, podendo transportar 1, 2 ou até 3 prótons ( $H^+$ ) para cada  $Ca^{2+}$ , o que evidencia a dificuldade de estudos, pesquisas e entendimento sobre esse transportador (Taiz & Zeiger, 2004).

No tonoplasto e na membrana de várias organelas ocorrem os canais liberadores de cálcio, que participam da homeostase de cálcio, liberando esses íons para o citoplasma ou daí retirando-os quando ocorre aumento de sua concentração nesse compartimento celular.

Ao entrar na célula o cálcio pode ligar-se aos ácidos oxálico, fítico e fosfórico, ficando armazenado no vacúolo. Tal situação é desfavorável, uma vez que ligado covalentemente, o cálcio torna-se indisponível. O cálcio pode ainda ligar-se não covalentemente por ligação de

valência coordenada, compartilhando elétrons, na parede celular, formando complexos com os ácidos poligalacturônicos. Por fim, o elemento pode, por meio de ligação eletrostática, na parede celular, formar complexos com os pectatos. O cálcio é assimilado pela formação de complexos de valência coordenada e ligações eletrostáticas com aminoácidos, fosfolipídeos e outras moléculas carregadas negativamente (Taiz & Zeiger, 2004).

Devem ser ainda registradas as funções do cálcio na célula, como, a de constituinte da lamela média e parede celular, manutenção da integridade das membranas, devido à estabilização que mantém entre as cabeças dos fosfolipídeos, cofator de enzimas que atuam na hidrólise de ATP e de fosfolipídeos, elemento essencial na formação do fuso mitótico e orientação da divisão celular, na nodulação em leguminosas, no crescimento do tubo polínico em direção ao ovário, por meio de quimiotropismo, no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular, na produção da coifa das raízes, no mecanismo de produção de calosidade nas raízes e parte aérea, quando o tecido sofre injúria, como mensageiro secundário de respostas à sinais ambientais e hormonais e agente regulador de processos metabólicos, quando ligado à calmodulina.

O cálcio, portanto, participa de vários processos fisiológicos nos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas. Sua atividade depende de sua concentração e localização na célula (Trewavas, 1999). Ao contrário dos outros nutrientes, a maior proporção encontra-se localizada no apoplasto, estabilizando ligações entre as substâncias pécticas da parede celular ou como reserva no vacúolo (Taiz & Zeiger, 2004).

### **5.1. Homeostase do cálcio**

A homeostase de  $\text{Ca}^{2+}$  refere-se à manutenção de um ambiente interno dentro de certos limites físicos e químicos (Epstein & Bloom, 2006).

Devido à síntese de energia metabólica, na forma de ATP, depender de grande quantidade de íons fosfato livres, a concentração citoplasmática de cálcio em células vivas é mantida baixa para evitar a formação de fosfato de cálcio, que é um sal insolúvel. Para tanto, um sistema de transportadores, bombas e canais atua na manutenção da concentração citoplasmática de cálcio (Bethke et al., 1995).

Dentre os reservatórios de cálcio, que participam da homeostase desse elemento, podem ser citados a parede celular, ou seja, o apoplasto e alguns compartimentos dentro da célula. A parede celular contém concentrações milimolares de cálcio e dependendo do pH e

propriedades de suas cargas, a concentração de cálcio no apoplasto de células em crescimento é mantida entre 100 e 200  $\mu$ moles (Cleland et al., 1990).

O vacúolo, pode ser considerado um dos mais importantes reservatórios de cálcio para a homeostase desse elemento no simplasto, em parte devido ao seu grande volume. O nível de cálcio nesse compartimento pode variar de 100  $\mu$ moles a 100 mmoles. Sua avaliação é difícil, uma vez que, no vacúolo são encontradas grandes quantidades de ácidos orgânicos, como os ácidos fítico, oxálico e fosfórico, que ao ligarem-se covalentemente ao cálcio, o tornam indisponível (Bethke et al., 1995).

No retículo endoplasmático, em células da camada de aleurona de cevada o cálcio é encontrado na ordem de milimolar, chegando a 5  $\mu$ moles (Bush et al., 1993). O cálcio do retículo endoplasmático de células vegetais apresenta ainda características não totalmente esclarecidas, pois apesar de ser abundante não surgiram, até agora, evidências de sua participação na homeostase.

Moller et al. (1981) verificaram que as mitocôndrias de plantas são capazes de retirar cálcio do citoplasma e nessas organelas o íon participa da regulação de suas funções, pelo controle da oxidação do NADH.

Muitos estudos referidos por Bethke et al. (1995) descreveram as mitocôndrias e o cloroplasto participando da homeostase do cálcio celular. No entanto, o mecanismo de entrada do cálcio na mitocôndria é controvertido, uma vez que essa organela apresenta bombas de cálcio com baixa afinidade pelo elemento, ou seja, elevado Km. Também existem registros de que o cálcio presente na matriz mitocondrial estaria fixado na forma insolúvel de sais de cálcio, o que sugere, uma vez mais, a não participação da mitocôndria na homeostase do cálcio (Bethke et al., 1995).

No cloroplasto, há indícios de que existam canais de cálcio e transportadores tipo uniporte. Também parece existir calmodulina, que pode ligar-se ao cálcio regulando algumas atividades bioquímicas da organela (Taiz & Zeiger, 2004).

Por fim, devem ser registrados os estudos referidos por Hepler (2005) que mostram que as plantas possuem um rico e multifacetado mecanismo de regulação do cálcio citoplasmático.

## 5.2. Cálcio e a transdução de sinais

Um dos papéis mais importantes do cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) é o de mensageiro secundário em vias de transdução de sinal em células vegetais (Bush, 1995; Yang, 1996), estando, portanto, envolvido em várias respostas de plantas à estímulos ambientais e hormonais, em processos celulares e de desenvolvimento.

Dessa forma, um estímulo qualquer, gera, conseqüentemente, resposta da planta, envolvendo toda bioquímica, metabolismo e fisiologia do vegetal, integrando o chamado sistema complexo de transdução de sinais (Bethke et al., 1995). Assim, entre o estímulo e a resposta celular ocorre uma série de eventos na célula iniciados com a percepção do estímulo pelos receptores membranares, que por meio de mudanças em sua conformação e/ou outros mecanismos, enviam o sinal para mensageiros secundários. Também, existem os receptores citoplasmáticos e nucleares, que fazem parte da percepção de moléculas que “carregam os estímulos”. De forma geral, os estímulos são levados por mensageiros secundários até o núcleo onde interagem e operam o sistema gênico, com duplicação do DNA, transcrição de RNAm e por fim, a síntese de uma proteína ou enzima no citoplasma (Taiz & Zeiger, 2004). Essa proteína formada pode ainda ligar-se a outros ativadores citoplasmáticos, como o cálcio, ativar muitas outras enzimas e assim produzir uma série de ações enzimáticas que fazem parte da resposta celular final (Taiz & Zeiger, 2004).

Os íons  $\text{Ca}^{2+}$ , ao mesmo tempo que são adequados para atuarem como sinalizadores ou mensageiros celulares, são inadequados para servirem como elementos efetadores no metabolismo (Bethke et al., 1995). O autor ainda registra que para o íon tornar-se um potente elemento efetador na célula, deve ligar-se a proteínas que, com esta ligação alterem sua conformação e possibilitem a modulação de processos de respostas bioquímicas e fisiológicas.

Entre as proteínas mais comuns ligantes ao cálcio, encontram-se a calmodulina e as proteínas quinases, dependentes de cálcio. A calmodulina é um polipeptídeo com quatro sítios de ligação de cálcio. Um par desses sítios é ligado ao outro por formações helicoidais na molécula, o que gera sua forma de halteres. A calmodulina é uma proteína altamente conservada ao longo da evolução das espécies, sendo encontrada em todas as filogenias das linhas eucarióticas. Uma vez ligada ao cálcio, a calmodulina torna-se ativada e pode ligar-se a muitas outras proteínas e enzimas, ativando-as. Estas últimas, farão parte da seqüência de respostas celulares geradas por estímulos (Zielinski, 1998; Taiz & Zeiger, 2004).

Um outro grupo de proteínas ativado pela ligação com cálcio são as proteínas quinases dependentes de cálcio, constituídas de três domínios na molécula, um domínio quinase, um

domínio semelhante à calmodulina e um domínio auto-inibitório. Quando quatro íons de cálcio ligam-se à proteína quinase, esta torna-se ativa, desacoplando o domínio auto-inibitório.

O cálcio pode, ainda, ligar-se a elementos do citoesqueleto da célula vegetal, regulando-o, sendo conhecido como elemento importante no comportamento dos microtúbulos e microfilamentos de actina da célula (Zielinski, 1998).

### **5.3. Deficiência de cálcio**

Níveis adequados de cálcio são importantes para controlar a toxicidade de íons específicos, como o alumínio e metais pesados (Rengel, 1992; Grattan & Grieves, 1993; Hawkins & Lewis, 1993). Sua presença é essencial para garantir o crescimento de raízes, em densidade e comprimento, importantes para a absorção de nutrientes.

A podridão estilar do tomateiro é provocada pela deficiência de cálcio. Em alguns casos, as folhas apresentam teores normais deste nutriente, enquanto o fruto mostra-se deficiente devido à pequena translocação e ao transporte unidirecional do cálcio no xilema (Lopes, 1998).

Sinais característicos da deficiência de cálcio incluem a necrose de regiões meristemáticas jovens, como os ápices radiculares ou folhas jovens, nas quais a divisão celular e a formação de paredes são mais rápidas. A necrose em plantas em lento crescimento pode ser precedida por clorose generalizada e curvamento das folhas para baixo. As folhas jovens apresentam-se deformadas. O sistema radicular de uma planta deficiente em cálcio pode mostrar-se acastanhado, curto e altamente ramificado, com formação de células bi ou trinucleadas. Pode haver redução severa no crescimento, se as regiões meristemáticas da planta morrerem prematuramente (Taiz & Zeiger, 2004).

## **6. Reguladores vegetais**

Os reguladores vegetais são compostos orgânicos que, em pequenas quantidades, promovem, inibem ou modificam processos fisiológicos. A importância dos reguladores vegetais foi reconhecida na década de 30 e como resultado de extensivas pesquisas, novos compostos naturais e sintéticos têm sido descobertos e usados em práticas agrícolas. Em geral, os reguladores vegetais podem ser considerados como ferramentas químicas potenciais e suplementares no manejo de plantas. No entanto, como são muito poderosos, geralmente, são

aplicados em baixas concentrações (Taiz & Zeiger, 2004), que afetam o metabolismo dos vegetais e a resposta de uma planta, ou de algum de seus órgãos, podendo seu efeito variar em função do cultivar, das condições ambientais, da idade e do estado nutricional da espécie (Nickell, 1982; Salisbury & Ross, 1992).

Os reguladores vegetais podem atuar diretamente nas diferentes estruturas celulares e nelas provocar alterações físicas, químicas e metabólicas. Entre esses reguladores existem aqueles que atuam à nível de membrana plasmática, onde estão localizadas as proteínas receptoras. Nesse caso, sua ação, conforme referido anteriormente, inicia-se com a união do hormônio e da proteína receptora na membrana plasmática. O complexo hormônio-receptor ativa a fosfolipase C (PLC), enzima localizada na membrana, onde hidroliza o grupo de fosfolípídeos 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol ( $PIP_2$ ), liberando os compostos ativos, 1,4,5-trifosfato de inositol ( $IP_3$ ) e diacilglicerol (DAG), que apresenta glicerol, insolúvel em água. O  $IP_3$ , muito solúvel em água, move-se até o tonoplasto, causando a liberação de  $Ca^{2+}$  para o citosol. O DAG na membrana plasmática, ativa a proteína quinase C (PKC), que utiliza ATP para fosforilar enzimas que regulam diversas fases do metabolismo (Salisbury & Ross, 1992; Davies, 2004; Taiz & Zeiger, 2004).

Entre os reguladores vegetais, o ácido abscísico, a auxina, a citocinina e a giberelina podem também, atuar sobre canais de  $Ca^{2+}$ , aumentando a concentração de  $Ca^{2+}$  citosólico. A PKC é ativada pelo  $Ca^{2+}$ , que também pode ativar outras quinases e combinar com a calmodulina, formando o complexo  $Ca^{2+}/CaM$ , que ativa várias enzimas entre as quais, quinases, NADquinase e ATPases. As ATPases das membranas plasmáticas transferem o excesso de  $Ca^{2+}$  citosólico para fora da célula, armazenando parte dele no vacúolo. Com a liberação de  $H^+$  para a parede celular que se acidifica, pode ocorrer também transporte de  $K^+$  para dentro da célula, que será armazenado no vacúolo. A acidificação da parede celular ativa enzimas endo-trans-glicosilases que atuam nas microfibrilas de celulose da parede celular, rompendo e refazendo ligações, aumentando sua plasticidade, favorecendo o influxo de água e provocando o alongamento celular. O retículo endoplasmático e o Complexo de Golgi podem sintetizar a  $\beta$ -glucan sintetase e vesículas contendo carboidratos, que participam diretamente da síntese da parede celular. Neste processo  $IP_3$ , DAG e  $Ca^{2+}$  funcionam como mensageiros secundários (Salisbury & Ross, 1992).

Shukla & Farooqi (1990) referem que os reguladores vegetais influenciam o crescimento de plantas medicinais e aromáticas, possibilitando o aumento de produção e qualidade de óleos essenciais.

## 7. Etileno

Em 1934, o etileno, mesmo sendo um gás, passou a ser considerado um hormônio vegetal por ser um produto de ocorrência natural nas plantas, que promove diferentes efeitos no seu crescimento e desenvolvimento. É sintetizado em muitos tecidos vegetais em resposta à condições de estresse (Vieira & Monteiro, 2002).

O etileno é um hidrocarboneto insaturado ( $C_2H_4$ ), sendo o mais simples de todos os reguladores das plantas. Como fonte sintética de etileno destaca-se o ácido 2-cloroetilfosfônico, ethephon (Vieira & Monteiro, 2002).

O etileno, descoberto por seu efeito no crescimento de plântulas e no amadurecimento dos frutos, regula ainda várias respostas, incluindo a germinação de sementes, a expansão celular, o florescimento, a senescência e a abscisão (Arteca, 1995; Taiz & Zeiger, 2004).

A produção do etileno bioquimicamente é controlada pela concentração do substrato, ácido amino-ciclopropano carboxílico (ACC), o precursor do etileno e a atividade da enzima ACC oxidase (Yang & Hoffman, 1984; Kende, 1993). A ACC sintase é o primeiro fator limitante à síntese de ACC e produção do etileno (Yang & Hoffman, 1984). No entanto, existem evidências de que em algumas plantas a atividade da ACC oxidase também altera-se em resposta a fatores que influenciam a produção do etileno (Kende, 1993).

O etileno está envolvido nos processos fisiológicos desde a germinação das sementes até a senescência e morte das plantas, coordenando vários eventos, como amadurecimento dos frutos, indução da expansão lateral de células, dormência, abscisão, florescimento, senescência, crescimento apical e radicular e dominância apical (Higashi et al., 2002; Vieira & Monteiro, 2002; Taiz & Zeiger, 2004).

A biossíntese de etileno é aumentada em resposta a um grande número de estímulos, incluindo ferimentos, ataque de patógenos, estimulação mecânica e déficit hídrico. O aumento da produção de etileno promove a síntese de compostos de defesa e crescimento que favorecem a sobrevivência sob condições adversas, durante o desenvolvimento das plantas (Higashi et al., 2002).

Alguns estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a influência da aplicação de ethephon em espécies da família Lamiaceae, entre elas *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Salvia officinalis* e *Ocimum basilicum*. El-Keltawi & Croteau (1986), avaliando a influência do ethephon em *Mentha piperita*, via aplicação foliar de 250, 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> observaram, em todas as doses, redução da coloração verde e aumento na pigmentação antociânica nas folhas e caules e redução na produção de matéria fresca e óleo essencial. Os autores

relacionaram estes efeitos na coloração das plantas às elevadas concentrações utilizadas. Singh et al. (1999) verificaram que plantas de *Mentha spicata* tratadas com 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon apresentaram aumento no teor de óleo essencial. Povh (2004) estudando plantas de *Salvia officinalis* tratadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, observou redução da matéria seca de lâminas foliares e de caules mais pecíolos e do rendimento de óleo essencial. Barreiro (2006), estudando plantas de *Ocimum basilicum* tratadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, observou redução da altura, área foliar, matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos e total e aumento do rendimento de óleo essencial de inflorescências.

Espécies não pertencentes à família Lamiaceae também foram estudadas com o objetivo de avaliação da influência da aplicação de ethephon, entre elas, *Impatiens balsamina*, *Zea mays*, *Brassica juncea* e *Jasminum*. Tamari et al. (1998) observaram que 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon retardaram o crescimento de *Impatiens balsamina* L. Quando, no entanto, essas plantas foram submetidas à 200 mg L<sup>-1</sup>, ocorreu pequeno aumento da altura. Zhou et al. (1999) obtiveram diminuição da matéria seca total em *Zea mays* L. quando submetidas a 15 µM:M de ethephon. Khan et al. (2000) não observaram efeito do ethephon na área foliar de *Brassica juncea* L. quando aplicado em concentração igual a 200 mg L<sup>-1</sup>.

O efeito do ethephon no crescimento, florescimento e conteúdo de óleo essencial em diferentes espécies de *Jasminum* foi verificado por Bhattacharjee & Divakar (1989) que trabalharam com concentrações iguais a 100, 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon. Nas concentrações iguais a 100 e 500 mg L<sup>-1</sup>, tanto o número de gemas como o diâmetro basal aumentaram.

O cálcio que não participa da transdução de sinal do etileno (Bethke et al., 1995) influencia sua biossíntese por atuar na atividade da enzima ACC sintase (Yang & Poovaiah, 2000) e na transcrição (Kwak & Lee, 1997) e atividade (Gallardo et al., 1999; Yang & Poovaiah, 2000) da ACC oxidase. Gallardo et al. (1999) estudando sementes de ervilha, aplicaram substâncias bloqueadoras de canais de cálcio e um antagonista do cálcio intracelular e observaram que estes tratamentos inibiram a atividade da ACC oxidase e a produção de etileno. Segundo os autores, estes resultados sugerem o envolvimento do cálcio na última etapa da biossíntese de etileno. No entanto, nenhum estudo foi encontrado na literatura consultada que avaliasse a relação entre cálcio e ethephon no desenvolvimento de espécies vegetais.

## 8. Análise de crescimento

Independente das dificuldades inerentes ao conhecimento sobre a complexidade que envolve o crescimento das plantas, a análise de crescimento ainda é o meio mais acessível e bastante preciso para avaliá-lo e inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos sobre o comportamento vegetal (Causton & Venus, 1981; Magalhães, 1986). A produtividade do vegetal pode inferir sua produção, na dependência de fatores internos, ligados à própria planta e externos, ligados ao ambiente.

A análise de crescimento pode ser útil no estudo do comportamento vegetal sob diferentes condições ambientais. Do ponto de vista biológico, a análise de crescimento é indispensável para o melhor conhecimento das plantas como entidades biológicas que são independente da exploração agrícola (Benincasa, 2003). Essa mesma autora afirma que a análise de crescimento é realizada por meio de índices fisiológicos e entre eles a razão de área foliar (RAF), a área foliar específica (AFE), a taxa assimilatória líquida (TAL), a taxa de crescimento absoluto (TCA) e a taxa de crescimento relativo (TCR).

Segundo Benincasa (2003) a análise de crescimento baseia-se no fato de que cerca de 90% da matéria seca acumulada pelas plantas, ao longo do crescimento, resulta de sua atividade fotossintética e o restante da absorção de nutrientes minerais, indispensáveis ao desenvolvimento vegetal. Esta análise permite avaliar o crescimento final da planta como um todo e a contribuição de diferentes órgãos no crescimento total. A partir de dados de crescimento pode-se inferir a atividade fisiológica, isto é, estimar de forma bastante precisa as variações de crescimento entre as plantas geneticamente diferentes ou entre plantas crescendo em ambientes diferentes.

Alguns estudos foram realizados em diferentes espécies da família Lamiaceae visando observação da influência da nutrição ou da aplicação de ethephon sobre os índices fisiológicos que compõem a análise de crescimento. El-Keltawi & Croteau (1986) observaram em plantas de *Mentha piperita*, *M. crispera* e *Salvia officinalis* tratadas com ethephon na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup>, redução no tamanho das folhas. Leal (2001) ao cultivar *Mentha piperita* L., em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio e iguais a 210, 263 e 315 mg L<sup>-1</sup>, determinou a razão de área foliar, a área foliar específica, a taxa assimilatória líquida e a taxa de crescimento relativo e observou que o maior nível de nitrogênio diminuiu esses índices fisiológicos, o rendimento de óleo das plantas e o teor de mentol. David (2003) e David et al. (2006), cultivando *Mentha piperita* L., em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo e iguais a 15,5, 31,0 e 46,5 mg L<sup>-1</sup>, constataram que o maior nível de fósforo e igual a 46,5 mg

L<sup>-1</sup>, diminuiu a razão de área foliar, a razão de massa foliar e as plantas tenderam a apresentar maior produção de óleo e dos teores de mentona. Valmorbidia (2003) e Valmorbidia et al. (2006), cultivando *Mentha piperita* L., em solução nutritiva com diferentes níveis de potássio e iguais a 234, 117 e 58,5 mg L<sup>-1</sup>, observaram que a razão de área foliar, a área foliar específica, a taxa assimilatória líquida e a taxa de crescimento relativo não foram influenciadas pelos níveis de potássio utilizados. No entanto, nas plantas cultivadas com o menor nível de potássio o teor de mentol aumentou. Singh & Misra (2001) ao aplicarem 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon em *Mentha spicata* L., observaram aumento da razão de área foliar. Bueno (2004) trabalhando com *Thymus vulgaris* L. em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) com diferentes níveis de fósforo, concluiu que o nível de fósforo, igual a 46,5 mg L<sup>-1</sup>, acima daquele recomendado na solução completa e igual a 31 mg L<sup>-1</sup>, interferiu no desenvolvimento das plantas, aumentando a taxa de crescimento absoluto. De Fazio et al. (2005) cultivando plantas de hortelã (*Mentha crispa* L.), em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950), com redução do nível de cálcio de 200 mg L<sup>-1</sup> para 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e para 30 mg L<sup>-1</sup>, observaram que as plantas cultivadas com 60/20 e 30 mg L<sup>-1</sup> se adaptaram a essa condição, apresentando produtividade semelhante àquelas tratadas com 200 mg L<sup>-1</sup>, com discreta diminuição da TCA, TCR, RAF e AFE, o que sugere nível de cálcio super estimado na solução nutritiva completa de Hoagland & Arnon (1950). Barreiro et al. (2006) cultivando *Ocimum basilicum* com aplicação de diferentes reguladores vegetais, concluiu que o ethephon na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> promoveu redução da área foliar específica e aumento da taxa assimilatória líquida.

Espécies não pertencentes à família Lamiaceae também foram estudadas visando observação da influência da nutrição ou da aplicação de ethephon sobre os índices fisiológicos que compõem a análise de crescimento. Rodrigues et al. (1993) relataram que plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. CV “COOK”), quando cultivadas em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950) com redução dos níveis de cálcio para 33,5, 67 e 0% e iguais a 133, 66 e 0 mg L<sup>-1</sup> apresentaram redução da área foliar. Jain et al. (1997) estudando a influência do cálcio em *Vigna mungo* L., verificaram redução da área foliar nas plantas submetidas à deficiência desse íon. Diminuição da área foliar e da biomassa de raízes e parte aérea também foi observada em plantas de *Coffea arabica* submetidas à deficiência de cálcio (Ramalho et al., 1995).

Os estudos acima referidos indicam que o comportamento das espécies vegetais pode ser avaliado por meio de índices fisiológicos, quando diferentes nutrientes, diferentes reguladores ou suas diferentes doses são utilizadas.

## **CAPÍTULO I**

### **CÁLCIO E ETHEPHON NO DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L., CULTIVADA EM SOLUÇÃO NUTRITIVA**

Artigo elaborado nas normas da Revista Brazilian Archives of Biology and Technology

# CÁLCIO E ETHEPHON NO DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L., CULTIVADA EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Juliana Leticia De Fazio<sup>1</sup>, Valdir Zucareli<sup>1</sup>, Martha Maria Mischan<sup>2</sup>, Carmen Silvia Fernandes Boaro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, CP 510, 18618-000, Botucatu, SP, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. Autor para correspondência: Carmen Sílvia Fernandes Boaro, e-mail: csfboaro@ibb.unesp.br

## ABSTRACT

Calcium levels equal to 160, 80 and 16 mg L<sup>-1</sup> associated to 100, 200 and 400 mg L<sup>-1</sup> of ethephon were evaluated in *Mentha piperita* L. development. Shoot length, leaf area, dry matter of leaf blades, stems plus petioles, roots and total of the plants and their essential oil were influenced by calcium reduction and ethephon application. Except the oil yield with higher levels in the plants with 160 mg L<sup>-1</sup> of Ca<sup>2+</sup>, the other variables showed better behavior when the plants were grown with 80 mg L<sup>-1</sup>. In a general way, calcium decrease to 16 mg L<sup>-1</sup> damaged the development and oil yield. Ethephon at 200 and 400 mg L<sup>-1</sup> levels associated to Ca<sup>2+</sup> levels and specially to 16 mg L<sup>-1</sup> decreased the evaluated variables and injured the development and essential oil yield, mainly from 106 days after transplanting.

**Key-words:** Lamiaceae, peppermint, plant growth regulators, mineral nutrition.

## INTRODUÇÃO

A *Mentha piperita* L., conhecida como hortelã, hortelã pimenta, menta, menta inglesa, hortelã-apimentada ou sândalo, é uma erva aromática anual ou perene, de mais ou menos 30 cm de altura, semi-ereta. A planta apresenta grande interesse econômico na obtenção de óleos essenciais, que tem ação antimicrobiana e espasmolítica. Na forma de chá abafado de suas folhas, a menta pode ser usada para facilitar a digestão e a eliminação de gases do aparelho digestivo (Goutham, 1980; Simões & Spitzer, 2000; Lorenzi & Matos, 2002).

O cultivo de plantas na ausência de solo, em sistema completamente ou parcialmente controlado pode aumentar a produtividade vegetal e essa técnica pode permitir o desenvolvimento de todas as potencialidades das plantas (Mairapetyan, 1999). Plantas aromáticas desenvolvidas em hidroponia apresentaram maior produtividade em relação àquelas cultivadas de modo tradicional, acumulando de 3 a 6 vezes mais óleo essencial por área (Mairapetyan, 1999).

---

\* Autor para correspondência

Essa produtividade, resultado do processo fotossintético, também depende da nutrição mineral. Entre os elementos essenciais, o cálcio é um macronutriente necessário para o desenvolvimento das plantas. Participa de vários processos fisiológicos nos seus diferentes estádios de desenvolvimento, sendo que a atividade do elemento depende de sua concentração e localização na célula (Trewavas, 1999). Ao contrário dos outros nutrientes, a maior proporção encontra-se localizada no apoplasto, estabilizando ligações entre as substâncias pecticas da parede celular ou como reserva no vacúolo (Taiz & Zeiger, 2004). Estudos demonstram que as plantas possuem um rico e multifacetado mecanismo de regulação do cálcio citoplasmático (Hepler, 2005).

Um dos papéis mais importantes do cálcio é o de mensageiro secundário em vias de transdução de sinal em células vegetais (Bush, 1995; Yang, 1996). Este íon está envolvido em várias respostas de plantas a estímulos ambientais e hormonais em processos celulares e de desenvolvimento. No entanto, o cálcio não atua como elemento efetivador no metabolismo. Segundo Bethke et al. (1995), para se tornar um potente elemento efetivador, o cálcio deve ligar-se a proteínas que, assim, alteram sua conformação, possibilitando a modulação de respostas bioquímicas e fisiológicas. Entre as proteínas mais comuns que se ligam ao cálcio encontra-se a calmodulina.

Poucos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar os efeitos da nutrição mineral sobre o desenvolvimento de espécies da família Lamiaceae, entre elas *Mentha spicata*, *Mentha piperita* e *Mentha crispa*. Picchi et al. (2002) verificaram que plantas de *Mentha spicata* x *suaveolens*, cultivadas em solução nutritiva baseada na de Hoagland & Arnon e contendo 40, 80, 120 e 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, apresentaram, nas concentrações mais elevadas, raízes menos volumosas e mais finas. Rodrigues et al. (2002) testaram o efeito da relação NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e concentrações de potássio na solução nutritiva sobre o crescimento de *M. piperita* L.. Os resultados revelaram a intolerância da espécie à elevadas concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e seu efeito inibitório na absorção do K<sup>+</sup>. Ferrari et al. (2005) cultivando *Mentha crispa* L., em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950), com redução dos níveis de cálcio de 200 mg L<sup>-1</sup> para 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e para 30 mg L<sup>-1</sup>, observaram que os níveis mais baixos e iguais a 60/20 e 30 mg L<sup>-1</sup> promoveram redução no comprimento do caule, área foliar, matéria fresca de parte aérea, matéria seca de caules mais pecíolos e total, sendo que somente na concentração igual a 30 mg L<sup>-1</sup> ocorreu redução da matéria seca de folhas e de raízes.

Espécies não pertencentes à família Lamiaceae também foram estudadas com o objetivo de avaliar os efeitos da nutrição mineral sobre a produção, dentre elas *Stylosanthes*

*guyanensis*, *Coffea arabica* e *Vigna mungo*. Rodrigues et al. (1993), ao cultivarem *Stylosanthes guyanensis* em solução nutritiva com variação do nível de cálcio de 200 para 133, 66 e 0 mg L<sup>-1</sup>, relataram drástica redução da área foliar conforme os níveis de cálcio foram reduzidos. Ramalho et al. (1995), observaram diminuição da área foliar em *Coffea arabica* submetida à deficiência de cálcio. Jain et al. (1997) obtiveram os mesmos resultados cultivando *Vigna mungo* L. sob deficiência do mesmo elemento.

Apesar da importância do cálcio no metabolismo vegetal e de inúmeras espécies terem sido estudadas ao serem cultivadas com esse nutriente, não foram identificados na literatura consultada trabalhos que avaliem o elemento no desenvolvimento da *Mentha piperita* L..

A composição química dos óleos essenciais é influenciada pelo ambiente no qual o vegetal se desenvolve e pelo tipo de cultivo realizado. Segundo Scora & Chang (1997), a menta é uma planta de fácil adaptação a diferentes condições de clima e solo. Entretanto, estudos comprovam que a espécie depende de condições ambientais adequadas, inclusive da nutrição mineral, para se desenvolver de modo satisfatório (Piccaglia et al., 1993; Mairapetyan, 1999; Patra & Anwar, 2000; Simões & Spitzer, 2000; Leal, 2001).

Charles et al. (1990) referem entre as porcentagens máxima e mínima, dos principais componentes do óleo essencial de menta, as de mentol e de mentona, variando respectivamente entre 57,8 e 46,1% e 20,7 e 16,4%.

Mairapetyan (1999) estudou a otimização das relações N:P:K em *Mentha piperita* L., em cultivo hidropônico e concluiu que a menta requer maior suprimento de fósforo para o máximo acúmulo de óleo essencial. Leal (2001) trabalhando com *Mentha piperita* L., em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon com diferentes níveis de nitrogênio, concluiu que níveis de nitrogênio iguais a 263 e 315 mg L<sup>-1</sup>, acima daquele recomendado na solução completa e igual a 210 mg L<sup>-1</sup> interferiram com o desenvolvimento das plantas, diminuindo a produção e a qualidade do óleo essencial, que apresentou menor teor de mentol. Valmorbidia (2003) e Valmorbidia et al. (2006) ao avaliarem a mesma espécie cultivada em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon, concluíram que a menta pode ser cultivada com redução de 50 a 75% do potássio recomendado na solução nutritiva, e iguais respectivamente a 117,0 e 58,5 mg L<sup>-1</sup>, apresentando rendimento e qualidade do óleo essencial satisfatórios. A diminuição de potássio aumentou o teor de mentol nas plantas e não interferiu com o conteúdo de óleo produzido. David (2003) e David et al. (2006) trabalhando com *Mentha piperita* L., na mesma solução contendo 31,0 mg L<sup>-1</sup> de fósforo, observaram que a redução de 50% do elemento, ou seja, 15,5 mg L<sup>-1</sup> na solução não foram deficientes para as plantas, com resultados satisfatórios para o teor de mentol. No entanto, quando as plantas foram cultivadas

com acréscimo de 50% de fósforo na solução e igual a 46,5 mg L<sup>-1</sup>, a produção de matéria seca e de óleo essencial tendeu a ser maior, com maiores teores de mentona. Os autores concluíram que a variação do nível de fósforo na solução nutritiva pode resultar em plantas com variação do rendimento e composição do óleo essencial.

Alguns estudos demonstram que além da nutrição mineral, a época de cultivo e de colheita das plantas pode alterar a quantidade e a qualidade do óleo obtido, o que está de acordo com as observações de Castro et al. (2001) que referiu variação durante as fases de crescimento, tornando-se importante a realização da colheita na época apropriada.

Rabak (1917) trabalhando com *Mentha piperita* L., nos EUA, obteve o maior rendimento de óleo quando as plantas atingiram o máximo florescimento, afetado pelas condições de solo e clima. O autor refere ainda que se as plantas forem secas antes da destilação pode ocorrer redução na produção do óleo, em função de mudanças favoráveis à formação de ésteres e produção de ácidos livres. Conclui também, que o rendimento de óleo nas plantas decresce com a maturação, incrementando sua porcentagem de ésteres e o teor de mentol, importante componente do óleo, tendo relação com o conteúdo de ésteres, diminui nessas condições.

Leal (2001), David (2003) e Valmorbidia (2003) estudaram *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) com variação respectivamente de nitrogênio, fósforo e potássio, em relação aos níveis preconizados na solução completa. Leal (2001) realizou o cultivo entre dezembro e março, David (2003) entre janeiro e maio e Valmorbidia (2003) entre outubro e fevereiro. Apenas no estudo de Leal (2001) as plantas submetidas ao tratamento com nível completo de nitrogênio e igual a 210 mg L<sup>-1</sup> floresceram. Nos outros dois estudos, mesmo as plantas submetidas ao tratamento com solução nutritiva completa, não floresceram. Estes resultados dificultam ainda mais a decisão sobre o melhor momento para a colheita das plantas com possibilidade de obtenção de maior rendimento e melhor qualidade do óleo.

Poucos estudos referem que a melhor época de colheita da *Mentha piperita* para obtenção de maior rendimento de óleo coincide com a fase de florescimento da espécie, o que torna difícil precisar quando as plantas são cultivadas em casa de vegetação, uma vez que nem sempre florescem.

Os reguladores vegetais são compostos orgânicos que, em pequenas quantidades, promovem, inibem ou modificam processos fisiológicos (Taiz & Zeiger, 2004). Afetam o metabolismo dos vegetais e a resposta de uma planta, ou de algum de seus órgãos e seu efeito

variar em função do cultivar, das condições ambientais, da idade e do estado nutricional da espécie (Nickell, 1982; Salisbury & Ross, 1992).

Shukla & Farooqi (1990) referem que os reguladores vegetais influenciam o crescimento de plantas medicinais e aromáticas, possibilitando o aumento de produção e qualidade de óleos essenciais.

O etileno, o mais simples regulador vegetal, está envolvido nos processos fisiológicos desde a germinação das sementes até a senescência e morte das plantas. Durante o desenvolvimento, o etileno coordena vários eventos, tais como amadurecimento dos frutos, dormência, abscisão, florescimento, senescência, crescimento apical e radicular e dominância apical. Como fonte sintética de etileno destaca-se o ethephon (ácido 2-cloroetilfosfônico) (Castro et al., 2002).

Alguns estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a influência da aplicação de ethephon em espécies da família Lamiaceae, entre elas a *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Salvia officinalis* e *Ocimum basilicum*. El-Keltawi & Croteau (1986), avaliando a influência do ethephon em *Mentha piperita*, via aplicação foliar de 250, 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup>, observaram, em todas as concentrações, redução da coloração verde e aumento na pigmentação antocianica nas folhas e caules. Observou-se também redução na produção de óleo essencial e na matéria fresca. Os autores relacionaram a variação de coloração das plantas às elevadas concentrações utilizadas. Ao avaliarem as mesmas concentrações do regulador, em plantas de sálvia observaram aumento do teor de óleo essencial e da quantidade de β-pineno. Singh et al. (1999) observaram aumento no teor de óleo essencial em plantas de *Mentha spicata* tratadas com 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon. Singh e Misra (2001), estudando plantas de *Mentha spicata* tratadas com 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon observaram diminuição da matéria seca de parte aérea e raízes. Povh (2004) estudando plantas de *Salvia officinalis* tratadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, observou redução da matéria seca de lâminas foliares e de caules mais pecíolos e do rendimento de óleo essencial. Barreiro (2006), estudando plantas de *Ocimum basilicum* tratadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, observou redução da altura, área foliar, matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos e total e aumento do rendimento de óleo essencial de inflorescências.

Espécies não pertencentes à família Lamiaceae também foram estudadas com o objetivo de avaliar a influência da aplicação de ethephon no seu desenvolvimento, entre elas, *Impatiens*, *Zea mays* e *Brassica*. Tamari et al. (1998) observaram que ethephon a 400 mg L<sup>-1</sup> retardou o crescimento de *Impatiens balsamina* L.. Zhou et al. (1999) obtiveram diminuição da matéria seca total em *Zea mays* L. quando submetidas a 15 μM:M de ethephon. Khan et al.

(2000) não observaram efeito do ethephon, em concentração igual a 200 mg L<sup>-1</sup>, na área foliar em plantas de *Brassica juncea* L..

O cálcio que não participa da transdução de sinal do etileno (Bethke et al., 1995) influencia sua biossíntese por atuar na atividade da enzima ACC sintase (Yang & Poovaiah, 2000) e na transcrição (Kwak & Lee, 1997) e atividade (Gallardo et al., 1999; Yang & Poovaiah, 2000) da ACC oxidase. Gallardo et al. (1999) estudando sementes de ervilha, aplicaram substâncias bloqueadoras de canais de cálcio e um antagonista do cálcio intracelular e observaram que estes tratamentos inibiram a atividade da ACC oxidase e a produção de etileno. Segundo os autores, estes resultados sugerem o envolvimento do cálcio na última etapa da biossíntese de etileno. No entanto, nenhum estudo foi encontrado na literatura consultada que avaliasse a relação entre cálcio e ethephon no desenvolvimento de espécies vegetais.

A importância da *Mentha piperita* nas indústrias brasileiras, do cálcio e do etileno no desenvolvimento vegetal e a inexistência de trabalhos que avaliem a espécie submetida a esse nutriente e ao regulador justificam o presente trabalho.

Com base no acima exposto, este estudo objetivou avaliar a influência da variação do nível de cálcio em solução nutritiva, associada à aplicação de ethephon, no desenvolvimento e na produção do óleo essencial de *Mentha piperita* L..

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período compreendido entre novembro de 2005 e abril de 2006, em casa de vegetação do Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP, tipo Paddy-Fan com controle de temperatura, que foi mantida em 26°C ± 2°C.

Estacas de *Mentha piperita* L., obtidas de plantas matrizes e provenientes do canteiro de plantas medicinais do Departamento de Botânica, foram colocadas em bandejas de isopor contendo substrato comercial Plantmax<sup>®</sup> e mantidas em câmara de nebulização intermitente, até o enraizamento. A seguir, as mudas foram transferidas para vasos plásticos pintados externamente com purpurina prateada e arejados continuamente por meio da utilização de soprador rotativo, com solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) contendo 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e na mesma solução com sua redução para 50%, 80 mg L<sup>-1</sup> e 90 %, 16 mg L<sup>-1</sup> e submetidas à pulverização foliar com 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, onde permaneceram

até as datas de colheitas, realizadas aos 46, 76, 106 e 136 dias após o transplante das mudas para a solução nutritiva.

O ácido 2-cloroetilfosfônico, ethephon, foi utilizado na forma do produto comercial Ethrel<sup>®</sup> contendo 240 g de ácido 2-cloroetilfosfônico por litro do produto, fabricado pela Bayer Crop Science. As pulverizações, via foliar, foram realizadas aos 31, 61, 91 e 121 dias após transplante, com pulverizador manual de 5 L, bico leque 80 02, pressão de 40 libras/pol<sup>2</sup>, adicionando-se espalhante adesivo não iônico, alquil-fenol-poliglicoleter, Extravon<sup>®</sup>, na concentração de 0,5 mL L<sup>-1</sup> de solução, fabricado pela Syngenta Brasil.

Dessa forma, as plantas foram cultivadas em doze tratamentos designados T1 (testemunha) e composto por 160 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com água destilada + 0,05% de extravon, T2, constituído por 160 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T3, com 160 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T4, com 160 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T5, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com água destilada + 0,05% de extravon, T6, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T7, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T8, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T9, com 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com água destilada + 0,05% de extravon, T10, com 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T11, com 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon e T12, constituído por 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 3 x 4 x 4, ou seja, três níveis de cálcio, quatro doses de ethephon e quatro épocas de colheita, de modo a cobrir parte do ciclo do vegetal.

Em cada colheita, determinou-se o comprimento de parte aérea, a área foliar, a matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos, de raízes e total das plantas. O comprimento foi determinado em centímetros e definido como a distância do colo até o ápice da planta. As plantas foram separadas em lâminas foliares, caules mais pecíolos e raízes, acondicionadas em sacos de papel etiquetados e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até obtenção de matéria seca constante. A área foliar, em dm<sup>2</sup>, foi determinada com o auxílio de integralizador de área foliar, modelo LI 3100 da Li-Cor. Após a secagem, o material vegetal foi pesado em balança analítica Ohaus tipo Analytical Standard com sensibilidade de até 0,1 mg.

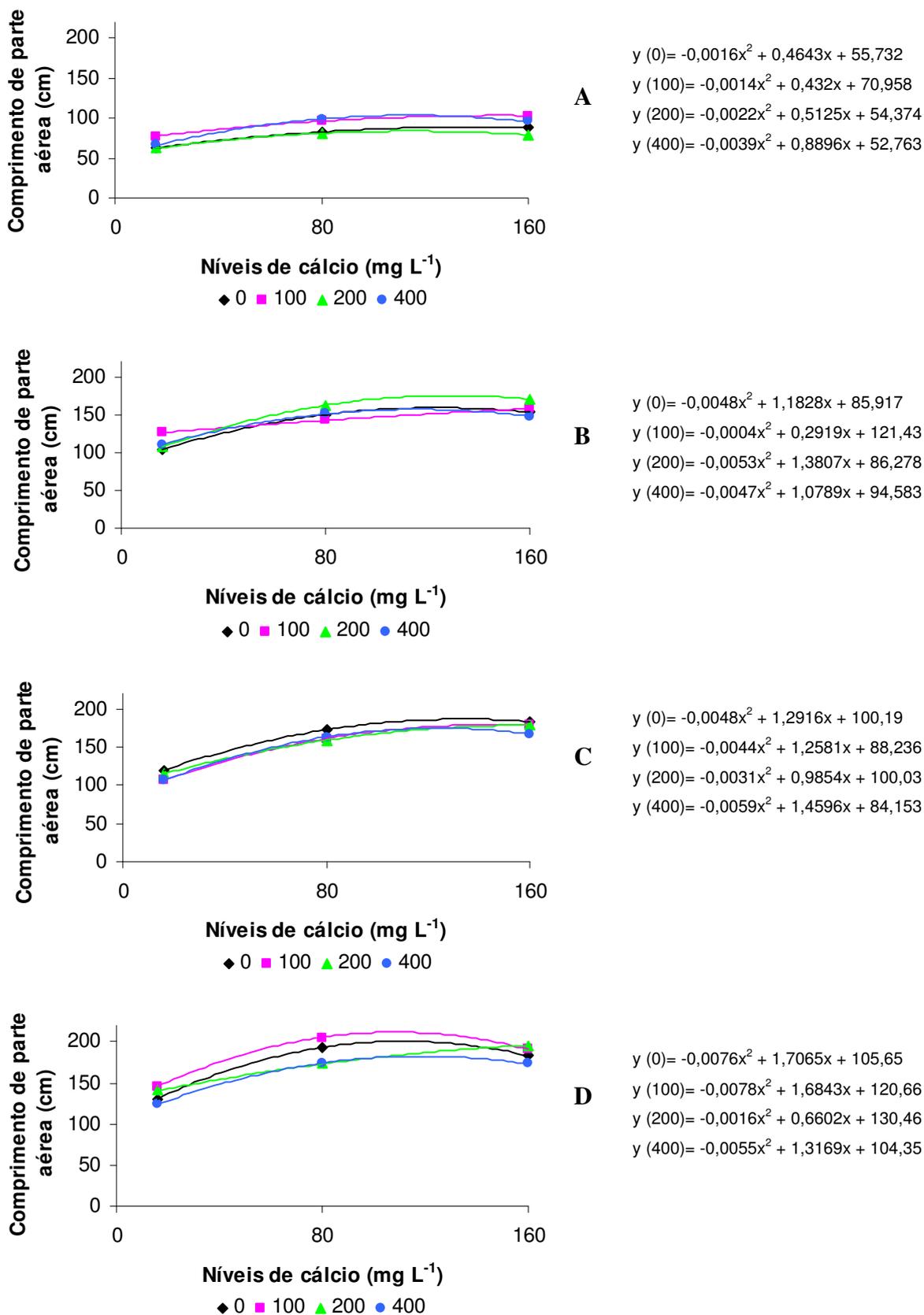
O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. Segundo Simões & Spitzer (2000), os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que o da água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Para tanto, a parte aérea das plantas, constituída pelo caule, pecíolo e lâminas foliares, foi colocada para secar em estufa de circulação forçada de ar a 40°C até obtenção de matéria seca constante. Tal secagem visou impedir a deterioração do material por meio da redução do teor de água uma vez que, a desidratação atua diminuindo a atividade das enzimas, o que permite a conservação da planta por mais tempo (Silva & Casali, 2000). Além disso, a eliminação de água aumenta o percentual de princípios ativos em relação à massa. A seguir, 100 g de material seco foram colocados em balão de fundo chato de 2000 mL, para hidrodestilação com água destilada até cobertura total da amostra, que em seguida foi aquecida. Após a destilação, o rendimento do óleo foi medido em g 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância do fatorial e, conforme a significância dos efeitos de tratamentos, foi feita a análise de regressão.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Verificou-se interação tripla entre as épocas de colheita, doses de cálcio e ethephon para todas as variáveis avaliadas. As figuras apresentadas referem-se a cada época de colheita e as curvas mostram o comportamento das plantas pulverizadas com diferentes doses de ethephon e cultivadas com variação do nível de cálcio.

As plantas cultivadas com diminuição do nível de cálcio apresentaram menor comprimento de parte aérea, mais evidente a partir dos 76 dias após transplante (DAT) em todas as doses de ethephon (figuras 1A, 1B, 1C e 1D). Aos 46, 76 e 106 DAT as diferentes doses do regulador interferiram pouco no comprimento de parte aérea. Aos 136 DAT, as plantas pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon apresentaram comprimento de parte aérea pouco maior em todos os níveis de cálcio avaliados e aquelas pulverizadas com 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> pouco menores. Assim, o efeito mais evidente no crescimento das plantas foi a redução do nível de cálcio para 10%, ou seja, 16 mg L<sup>-1</sup>, que reduziu o comprimento de parte aérea das plantas de menta nas quatro colheitas, mais evidente a partir dos 76 dias após transplante.



**Figura 1.** Comprimento de parte aérea, em cm, aos 46 DAT (A), aos 76 DAT (B), aos 106 DAT (C) e aos 136 DAT (D) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$ . Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

Essa redução no comprimento de parte aérea, como consequência da diminuição do nível de cálcio também foi observada por Ferrari et al. (2005) em plantas de *Mentha crispa* L., cultivadas em solução nutritiva com redução do nutriente de 200 mg L<sup>-1</sup> para 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e para 30 mg L<sup>-1</sup>.

Por outro lado, a redução no comprimento de parte aérea observada nas plantas de menta pulverizadas com 400 mg L<sup>-1</sup>, na última colheita, concorda com as observações de Tamari et al. (1998) que registraram diminuição no comprimento de plantas de *Impatiens balsamina* L., submetidas à mesma dosagem de ethephon e de Singh et al. (1999), que aplicaram 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon em plantas de *Mentha spicata*. Barreiro (2006), ao pulverizar 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon em plantas de *Ocimum basilicum*, também observou menor comprimento de parte aérea.

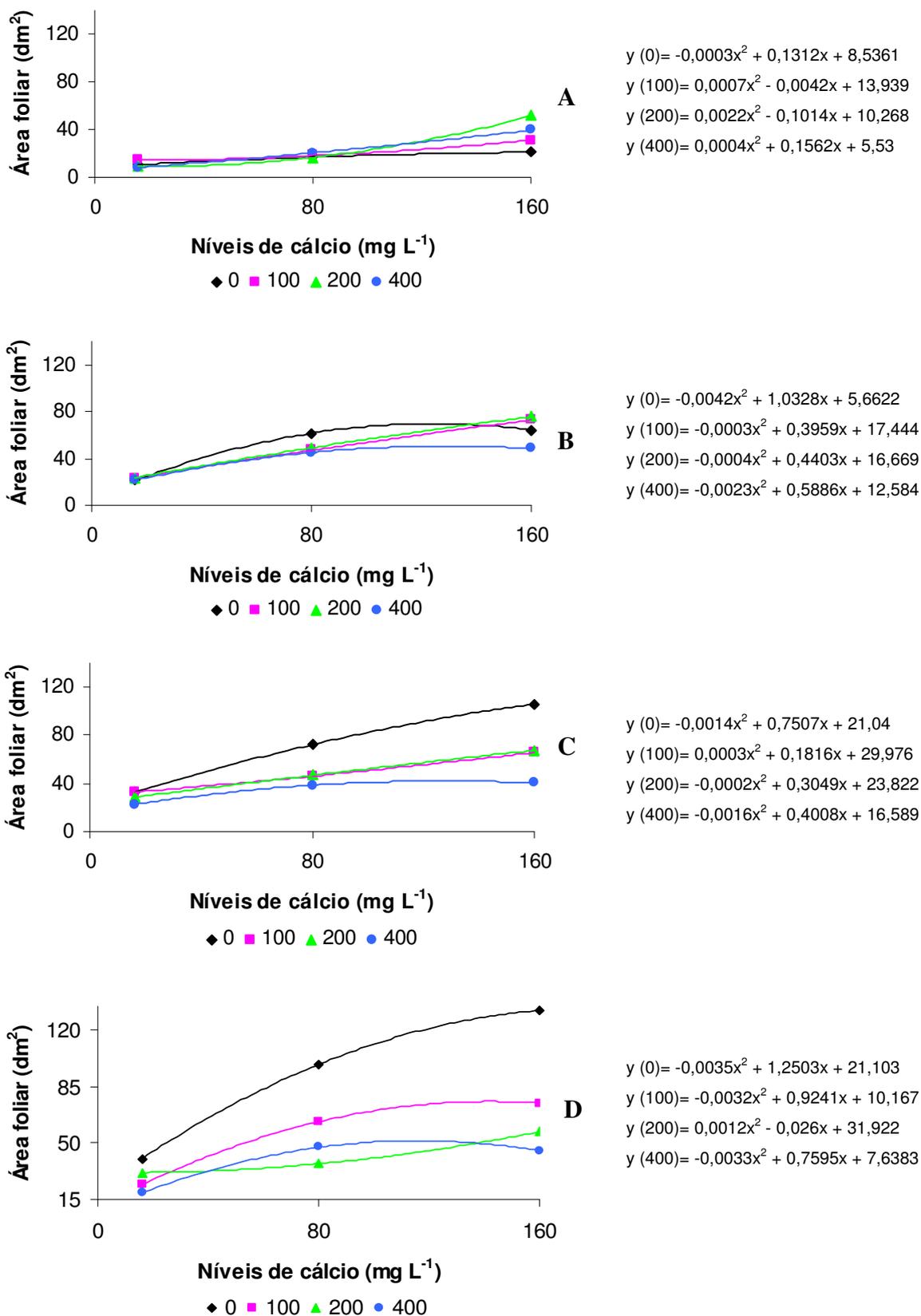
O efeito do ethephon na redução do comprimento de parte aérea deve-se ao fato do mesmo inibir o alongamento da maioria das plantas. O regulador causa intumescimento das regiões de alongamento da parte aérea, raízes e pecíolo das folhas pela inibição longitudinal do crescimento. Esse efeito é causado pela ação do ethephon na orientação das microfibrilas de celulose da parede celular. Assim, com a ação do ethephon, o padrão transversal de alinhamento dos microtúbulos é desorganizado e alterado para uma orientação longitudinal. Essa mudança de 90° na orientação dos microtúbulos leva a uma deposição paralela das microfibrilas de celulose. O novo depósito das paredes é reforçado mais na direção longitudinal do que na direção transversal, promovendo mais a expansão lateral do que longitudinal (Mattoo & Suttle, 1991; Taiz & Zeiger, 2004).

Com o tempo, a variação do nível de cálcio levou as plantas pulverizadas com diferentes dosagens do regulador a apresentarem área foliar com comportamentos mais diversificados entre si (figuras 2A, B, C, D). Aos 46 DAT, quando as plantas foram cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, observou-se efeito das diferentes doses de ethephon, com aumento da área foliar das plantas, em especial quando a dose de 200 mg L<sup>-1</sup> foi utilizada. Este efeito deve-se à provável ação do ethephon na expansão das folhas (Taiz & Zeiger, 2004), que se apresentaram menos espessas (figura 2A). De maneira geral, a redução do cálcio promoveu diminuição da área foliar em todas as plantas. Aos 76 DAT, as plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e pulverizadas com 100 e 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon também apresentaram maiores áreas foliares (figura 2B). Quando o nível de cálcio foi reduzido para 80 mg L<sup>-1</sup>, as plantas não pulverizadas apresentaram as maiores áreas foliares, sugerindo que tal redução do cálcio interferiu na ação do regulador, que nessas condições não promoveu expansão foliar e, portanto, as folhas permaneceram com espessura normal, o que comprova a importância do

cálcio para a atuação do ethephon. Aos 106 e 136 DAT, as plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e não pulverizadas apresentaram maior área foliar e o aumento da dose do regulador, de maneira geral, reduziu a área foliar das plantas (figuras 2C e 2D). Deve ser ressaltada a tendência de maior área foliar das plantas nutridas com 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon aos 106 DAT. Na redução do cálcio para 80 mg L<sup>-1</sup> as plantas pulverizadas com 200 mg L<sup>-1</sup>, aos 136 DAT, apresentaram as menores áreas foliares (figura 2D). A redução do nível de cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup>, também possibilitou resposta diferenciada da área foliar das plantas pulverizadas, menor nas submetidas a dose igual a 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon (figuras 2C e 2D). A menor quantidade de cálcio ao limitar o crescimento das plantas, limitou a influência do regulador vegetal. Até os 76 DAT, as diferentes doses de ethephon muitas vezes aumentaram a área foliar, situação modificada a partir dos 106 DAT, quando, de maneira geral, o aumento da dose de ethephon reduziu a área foliar nos três níveis de cálcio. Assim, a redução do nível de cálcio na solução nutritiva parece ter influenciado a atuação do ethephon na área foliar das plantas de menta.

A redução da área foliar com a diminuição de cálcio está de acordo com os resultados de Rodrigues et al. (1993) que, ao cultivarem *Stylosanthes guyanensis* em solução nutritiva com redução do nível de cálcio de 200 mg L<sup>-1</sup> para 133, 66 e 0 mg L<sup>-1</sup>, observaram evidente redução da área foliar com os níveis de cálcio. Ramalho et al. (1995) estudando *Coffea arabica* e Jain et al. (1997) avaliando *Vigna mungo* L. em deficiência de cálcio também observaram diminuição da área foliar das plantas. Ferrari et al. (2005) cultivando *Mentha crispa* L. com 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e com 30 mg L<sup>-1</sup>, também observaram redução da área foliar nas plantas cultivadas com menor nível de cálcio.

A redução da área foliar, no presente estudo, de plantas cultivadas com aumento das doses de ethephon, a partir dos 106 DAT, está de acordo com os resultados de El-Keltawi & Croteau (1986) que ao pulverizarem plantas de *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* e *Mentha crispa*, com 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, observaram redução das folhas. Barreiro (2006) também observou esta redução estudando plantas de *Ocimum basilicum* L., pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon.

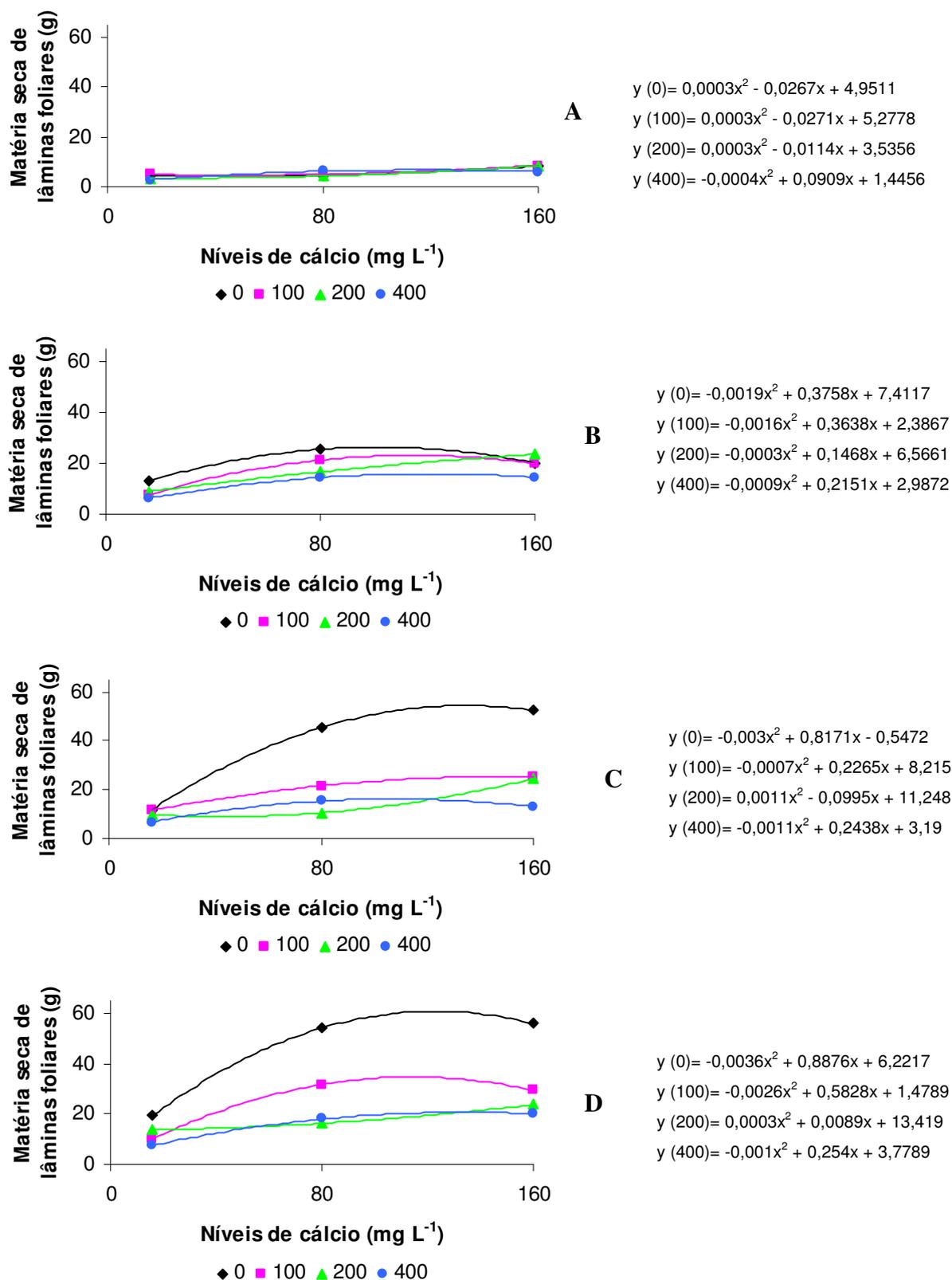


**Figura 2.** Área foliar, em dm<sup>2</sup>, aos 46 DAT (A), aos 76 DAT (B), aos 106 DAT (C) e aos 136 DAT (D) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em mg L<sup>-1</sup> e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em mg L<sup>-1</sup>. Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

Os dados existentes na literatura sobre a ação do cálcio na área foliar e mais especificamente na parte aérea, destacam a importância do mineral na obtenção de plantas com maior área foliar, e, portanto, com condições para obter elevada atividade fotossintética e adequada produção de matéria foliar. Assim, na omissão de cálcio, a sintomatologia de deformação, diminuição de número e clorose de folhas, redução de seu tamanho e necrose do limbo (Malavolta et al., 1976; Rodriguez et al., 1977; Rosolem, 1980), sugere, na instalação da carência de cálcio, redução da área foliar. No presente estudo, as plantas cultivadas com  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio apresentaram redução do número de folhas, que eram menores, cloróticas e apresentavam bordas queimadas.

A redução da área foliar no presente estudo verificada com nível de cálcio igual a  $160$  e  $80 \text{ mg L}^{-1}$  e aplicação de ethephon pode estar relacionada com a ação do etileno nos processos de senescência e abscisão foliar (Vieira & Monteiro, 2002). Nesse caso, a pulverização de etileno acelera o processo de senescência por degradação da clorofila, RNA e proteínas. Além disso, o etileno está relacionado com o processo de abscisão normal de folhas, agindo sobre a atividade das enzimas celulases e pectinases que atuam na zona de abscisão e aplicações exógenas de etileno aceleram ou causam a abscisão prematura das folhas. A aplicação de ethephon, no presente estudo, especialmente nas doses  $200$  e  $400 \text{ mg L}^{-1}$ , estimulou a senescência das plantas, causando epinastia e amarelecimento das folhas, com sua posterior abscisão.

O comportamento da matéria seca de lâminas foliares foi semelhante ao da área foliar quando as plantas de menta foram cultivadas com redução do nível de cálcio e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, sendo o efeito tanto do cálcio como do regulador mais evidente com o tempo. A redução do nível de cálcio diminuiu a matéria seca de lâminas foliares, principalmente quando o nível do nutriente foi igual a  $16 \text{ mg L}^{-1}$  (figuras 3A, 3B, 3C, 3D). Aos 76 DAT os efeitos dos tratamentos começaram a ser mais evidentes e diferentes entre si (figura 3B) e as plantas pulverizadas com  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon apresentaram as menores matérias secas de lâminas foliares. A partir dessa colheita as plantas pulverizadas, de maneira geral, em todos os níveis de cálcio, apresentaram menores áreas foliares, que muitas vezes foi tanto menor quanto maior a dose de ethephon utilizada (figura 3C). Além de o aumento da dose de ethephon influenciar a matéria seca de lâminas foliares, de maneira geral, após 76 DAT, observa-se maior diversidade de resposta das diferentes doses de ethephon com aumento do nível de cálcio na solução.



**Figura 3.** Matéria seca de lâminas foliares, em g, aos 46 DAT (A), aos 76 DAT (B), aos 106 DAT (C) e aos 136 DAT (D) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em mg L<sup>-1</sup> e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em mg L<sup>-1</sup>. Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

A redução da matéria seca de lâminas foliares com diminuição do nível de cálcio observada no presente estudo, concorda com os resultados de Ferrari et al. (2005) que, cultivando *Mentha crispa* L. com 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e com 30 mg L<sup>-1</sup>, também observaram redução da matéria seca nesses órgãos.

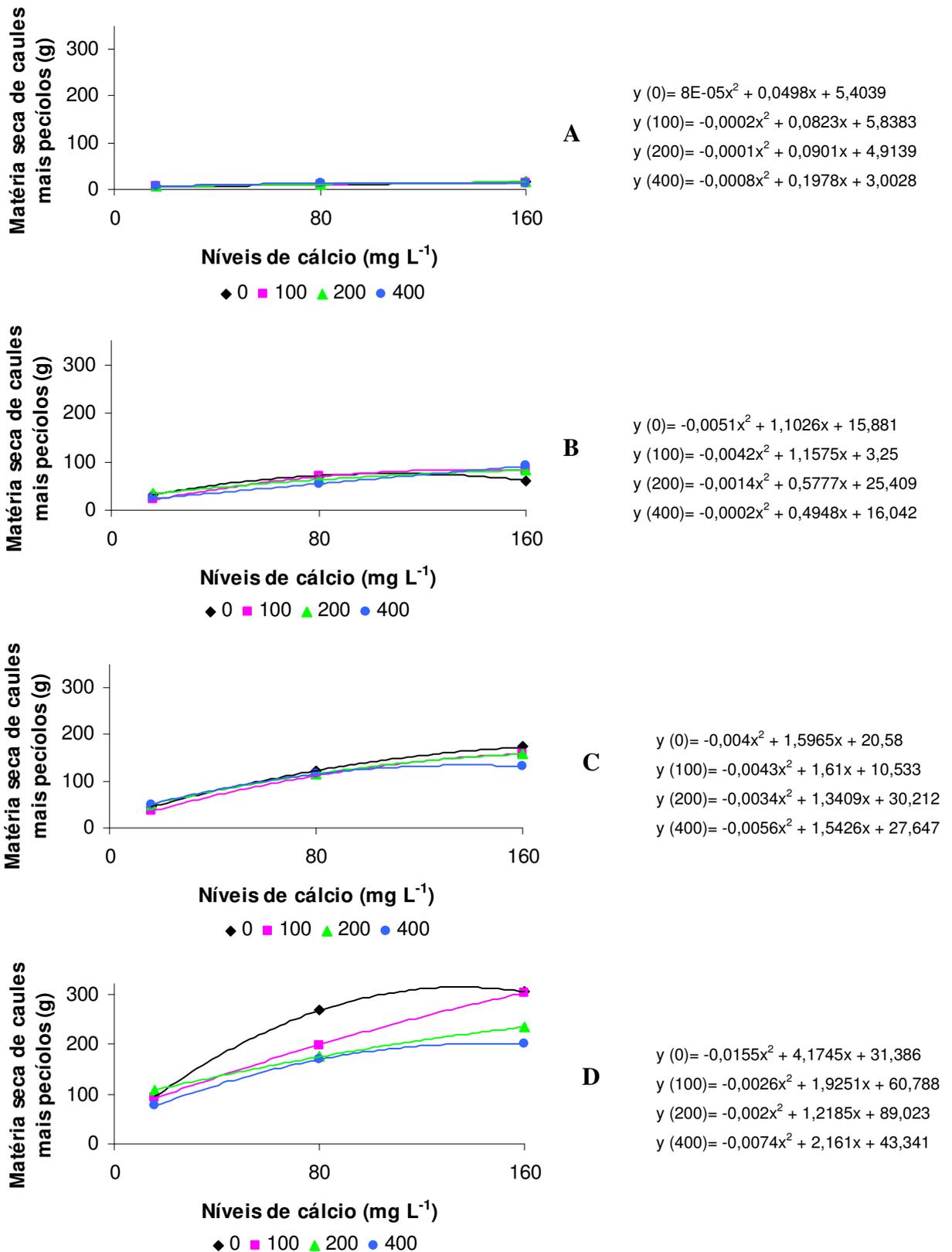
Por outro lado, a redução da matéria seca de lâminas foliares, em plantas pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon concorda com a observação de Barreiro (2006), que submeteu plantas de *Ocimum basilicum* à mesma dosagem do regulador. Povh (2004) estudando plantas de *Salvia officinalis* pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, também observou redução da matéria seca de lâminas foliares.

A redução da matéria seca de lâminas foliares, provocada pela redução do nível de cálcio pode estar relacionada à diminuição da área foliar nessa condição, enquanto a aplicação de ethephon pode ter influenciado a redução da matéria seca de lâminas foliares devido a sua participação nos processos de senescência e abscisão foliar, como mencionados por Vieira & Monteiro (2002).

A matéria seca de caules mais pecíolos diminuiu com a redução do nível de cálcio na solução nutritiva a partir dos 76 DAT (figuras 4A, 4B, 4C e 4D). Aos 106 DAT, quando as plantas foram cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, o aumento da dose de ethephon reduziu a matéria seca de caules mais pecíolos (figura 4C). Com a redução do nível de cálcio não houve efeito das diferentes doses de ethephon avaliadas. Aos 136 DAT, o efeito das diferentes doses do regulador foi evidente e nas plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, a redução da matéria seca de caules mais pecíolos foi maior na medida em que a dose de ethephon aumentou (figura 4D). Com a redução do nível de cálcio para 80 mg L<sup>-1</sup> e para 16 mg L<sup>-1</sup> o efeito das doses do regulador na matéria seca de caules mais pecíolos foi se tornando cada vez menos evidente.

Esses resultados concordam com os de Ferrari et al. (2005) que obtiveram diminuição da matéria seca de caules mais pecíolos de *Mentha crispa* L. quando o nível de cálcio foi reduzido na solução nutritiva, de 200 para 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e para 30 mg L<sup>-1</sup>.

Os resultados são concordantes também com os de Singh e Misra (2001), que ao estudarem o efeito do ethephon no desenvolvimento de *Mentha spicata*, observaram diminuição na matéria seca da parte aérea quando as plantas foram pulverizadas com 1000 mg L<sup>-1</sup>. Povh (2004) e Barreiro (2006) estudaram respectivamente, *Salvia officinalis* e *Ocimum basilicum*, ambas pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon e também observaram redução da matéria seca de caules mais pecíolos.



**Figura 4.** Matéria seca de caules mais pecíolos, em g, aos 46 DAT (A), aos 76 DAT (B), aos 106 DAT (C) e aos 136 DAT (D) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$ . Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

A redução da matéria seca de caules mais pecíolos observada nesse estudo provavelmente ocorreu devido à ação do ethephon no intumescimento das regiões de alongamento da parte aérea, raízes e pecíolo das folhas pela inibição longitudinal do crescimento (Mattoo & Suttle, 1991; Taiz & Zeiger, 2004), como já citado anteriormente.

A redução do nível de cálcio na solução nutritiva diminuiu a matéria seca de raízes das plantas, em especial a partir dos 106 DAT, e as plantas pulverizadas com diferentes doses do regulador vegetal apresentaram diferenças (figuras 5A, 5B, 5C e 5D). Aos 46 DAT, as diferenças foram discretas na medida em que houve aumento do nível de cálcio (figura 5A).

A partir dos 106 DAT tanto a redução do nível de cálcio como o aumento da dose de ethephon, reduziu a matéria seca de raízes.

A diminuição da matéria seca de raízes provocada pela redução do nível de cálcio, observada neste estudo, concorda com os resultados relatados por Ferrari et al. (2005) que cultivando plantas de *Mentha crispa* L., com 30 mg L<sup>-1</sup> observaram redução desta variável.

O efeito do ethephon em raízes também foi relatado por Singh & Misra (2001) que, pulverizando 1000 mg L<sup>-1</sup> em plantas de *Mentha spicata* observaram diminuição de sua matéria seca.

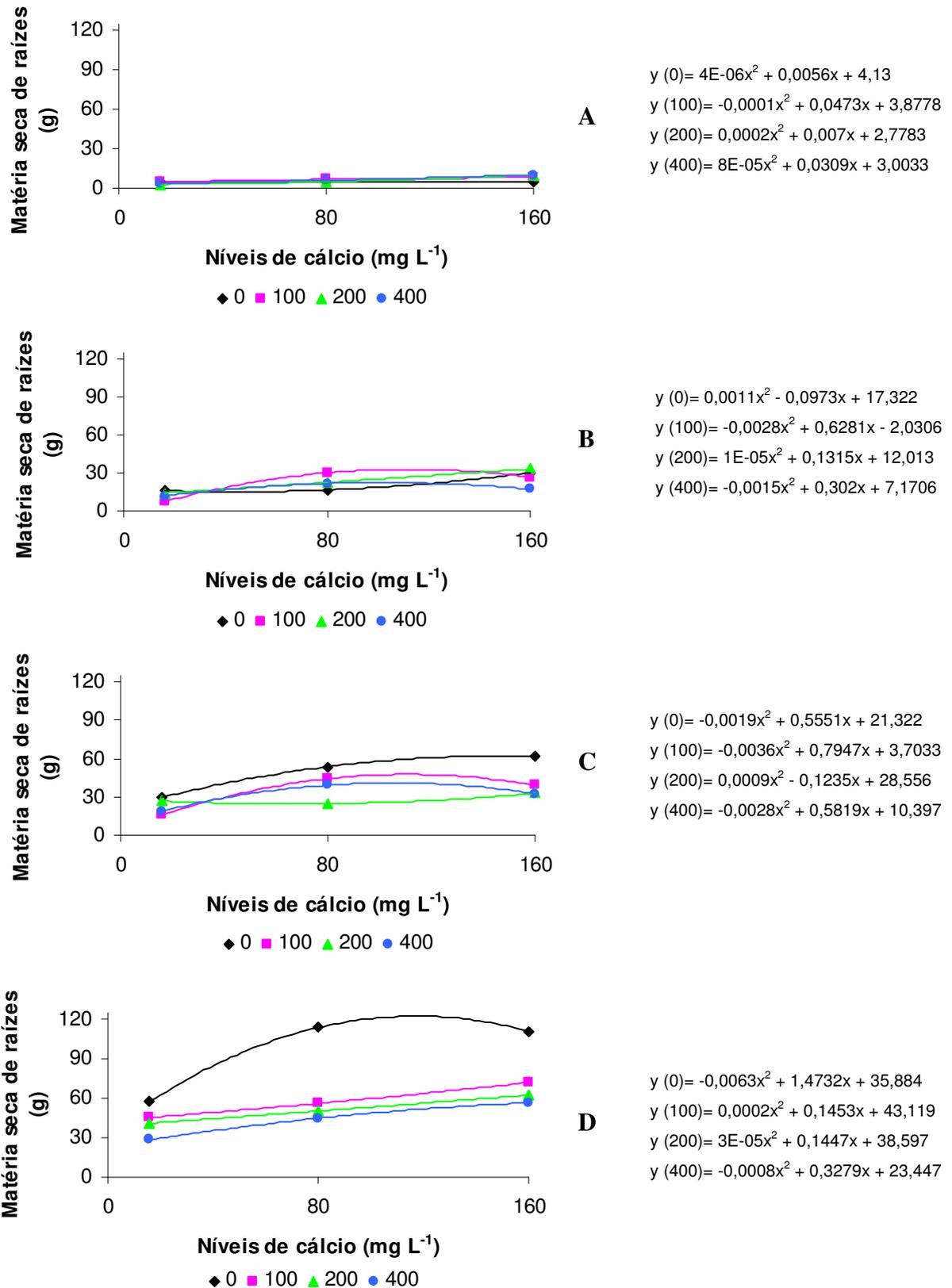
No presente estudo, as raízes das plantas cultivadas com 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio apresentaram-se curtas, grossas e acastanhadas, sugerindo que a redução do cálcio interferiu na divisão celular e no seu crescimento. Como o crescimento radicular foi reduzido, é provável que a absorção de íons tenha sido prejudicada, afetando o desenvolvimento da parte aérea dessas plantas, o que pode ser observado nas figuras 6A, 6B, 6C e 6D.

A matéria seca total das plantas de menta apresentou comportamento semelhante ao da matéria seca de raízes, quando as plantas foram cultivadas com redução do nível de cálcio e pulverizadas com diferentes doses de ethephon. A redução do nível de cálcio reduziu a matéria seca total, de maneira evidente, a partir de 106 DAT (figura 6C).

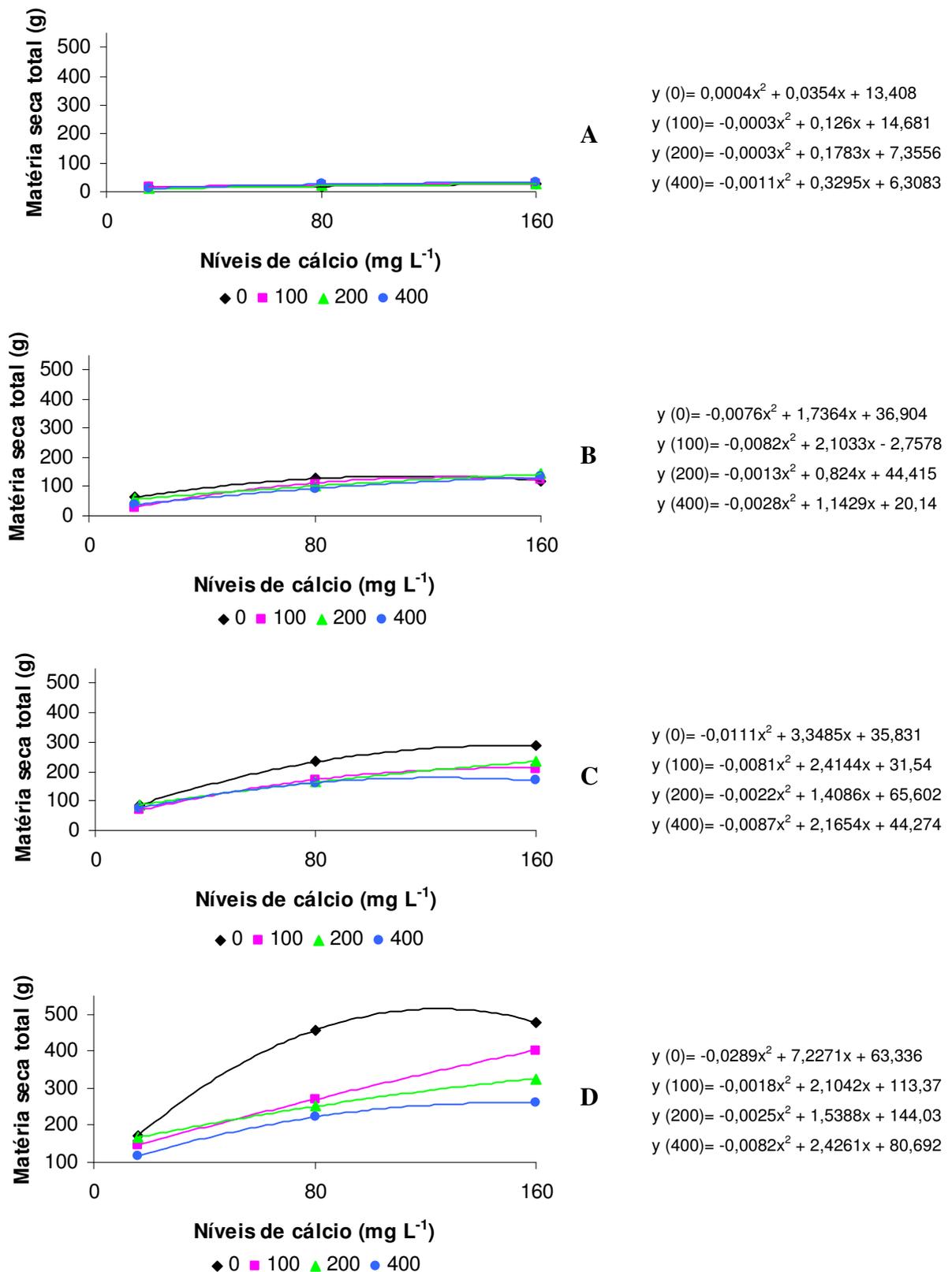
Aos 106 DAT, o nível de cálcio interferiu menos nas respostas das plantas às doses de ethephon do que aos 136 DAT, onde em especial com nível cálcio igual a 160 mg L<sup>-1</sup> o aumento do regulador diminuiu a matéria seca total das plantas (figuras 6C e 6D).

A redução da matéria seca total, portanto, foi mais evidente a partir de 106 DAT, que foi influenciada tanto pela redução do nível de cálcio como pela dose de ethephon utilizada.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os de Ferrari et al. (2005) que, cultivando plantas de *Mentha crispa* L., em solução nutritiva com 60 mg L<sup>-1</sup> até 46 dias após o transplante das plantas para a solução e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e com 30 mg L<sup>-1</sup>, também observaram redução da matéria seca total das plantas.



**Figura 5.** Matéria seca de raízes, em g, aos 46 DAT (A), aos 76 DAT (B), aos 106 DAT (C) e aos 136 DAT (D) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$ . Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

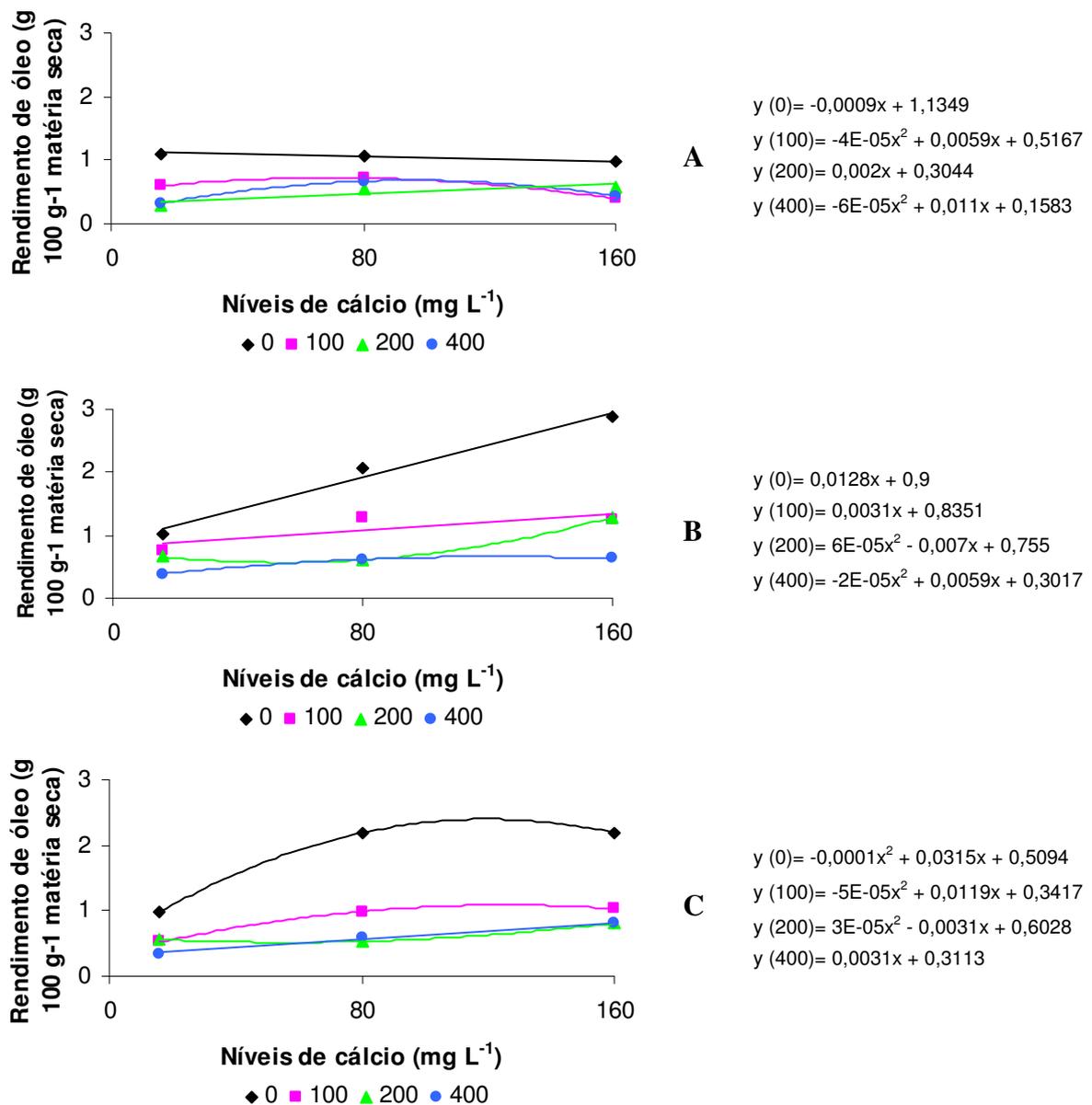


**Figura 6.** Matéria seca total, em g, aos 46 DAT (A), aos 76 DAT (B), aos 106 DAT (C) e aos 136 DAT (D) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$ . Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

Os resultados concordam também com El-Keltawi & Croteau (1986) que verificaram redução da matéria seca total de plantas de *Mentha piperita* e *Salvia officinalis* pulverizadas com 250, 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon. Zhou et al. (1999) também observaram diminuição da matéria seca total de plantas de *Zea mays* L. submetidas a 15 µM:M de ethephon. Barreiro (2006) verificou que plantas de *Ocimum basilicum* pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, apresentaram diminuição da matéria seca total.

O rendimento de óleo essencial foi influenciado pela redução do cálcio na solução nutritiva e pela aplicação de diferentes doses de ethephon, de maneira mais acentuada com o tempo. Aos 76 DAT, as plantas cultivadas com diferentes níveis de cálcio apresentaram praticamente o mesmo rendimento de óleo e a aplicação do regulador diminuiu esse rendimento (figura 7A). Deve ser destacado que a redução do cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup>, promoveu discreto aumento do rendimento de óleo essencial nas plantas não pulverizadas. Talvez a falta de cálcio tenha provocado o estresse que conduziu a tendência de aumento de óleo. Vários estudos já demonstraram que situações de estresse levam a aumento de óleo essencial (Taiz & Zeiger, 2004). Aos 106 DAT, as plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, apresentaram maiores rendimentos de óleo e as pulverizadas com ethephon apresentaram redução desse rendimento na medida em que a dose do regulador aumentou (figura 7B). Nessa época, o nível de cálcio igual a 160 mg L<sup>-1</sup> foi melhor para a produção de óleo essencial. Aos 136 DAT, o cultivo das plantas com 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio resultou em rendimento de óleo essencial semelhante àquele das plantas cultivadas com o dobro desse mineral (figura 7C). Nesse nível mais baixo de cálcio, a resposta das plantas às doses do regulador foi semelhante a verificada com o nível de cálcio igual a 160 mg L<sup>-1</sup> e, nos dois casos houve diminuição de rendimento de óleo essencial. Assim, o nível de cálcio atuou de modo diferente na produção de óleo, dependendo da época de avaliação. Aos 136 DAT 50% de cálcio seriam suficientes para o cultivo das plantas e adequado rendimento de óleo. Em todas as épocas e níveis de cálcio o regulador em suas diferentes dosagens sempre diminuiu o rendimento de óleo.

A redução no rendimento de óleo essencial pela aplicação de diferentes doses de ethephon concorda com os resultados de El-Keltawi & Croteau (1986) que verificaram diminuição na produção de óleo essencial em plantas de *Mentha piperita*, com a aplicação de 250, 500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon. Povh (2004), estudando plantas de *Salvia officinalis*, também observou redução na produção de óleo essencial quando as plantas foram pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon.



**Figura 7.** Rendimento de óleo essencial, em g 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca, aos 76 DAT (A), aos 106 DAT (B) e aos 136 DAT (C) de plantas de *Mentha piperita* L. cultivadas com diferentes níveis de cálcio, em mg L<sup>-1</sup> e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon, em mg L<sup>-1</sup>. Médias de quatro repetições. DAT = dias após transplante das plantas para a solução nutritiva.

Resultados discordantes foram obtidos por Srivastava et al. (1998), que estudando o efeito do ethephon no crescimento e rendimento de óleo em *Cymbopogon martinii*, observaram aumento do rendimento de óleo essencial. Os autores referem que este aumento do óleo essencial ocorreu devido ao aumento da atividade fotossintética das plantas pulverizadas com ethephon, que resultou em seu maior crescimento. Da mesma forma, Singh et al. (1999) observaram aumento de óleo essencial em plantas de *Mentha spicata* pulverizadas com 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon. Barreiro (2006) estudando o efeito de 100 mg L<sup>-1</sup>

de ethephon em plantas de *Ocimum basilicum*, também observou, nas inflorescências, aumento na produção do óleo essencial.

O comprimento de parte aérea, a área foliar, a matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos, de raízes e total das plantas, além do rendimento de seu óleo essencial foram influenciados pela redução do nível de cálcio na solução nutritiva e pela utilização de ethephon. Exceto o rendimento de óleo essencial, com maiores teores nas plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, as demais variáveis apresentaram melhor comportamento quando as plantas foram cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup>. Assim, pode-se sugerir nível excessivo de cálcio na solução completa. No entanto, sugere-se a avaliação da composição química do óleo essencial para aferir a qualidade quando as plantas foram cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, uma vez que embora aos 136 DAT essas plantas tenham apresentado adequado rendimento de óleo, ele não atingiu os teores apresentados pelas plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio. De maneira geral, a redução do nível de cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup> prejudicou o desenvolvimento e o rendimento de óleo essencial. O regulador vegetal ethephon também influenciou o desenvolvimento das plantas de menta. Sua utilização nas dosagens de 200 e 400 mg L<sup>-1</sup>, associada a todos os níveis de cálcio e, em especial, ao menor e igual a 16 mg L<sup>-1</sup>, reduziu todas as variáveis avaliadas, prejudicando o desenvolvimento da menta e o rendimento de seu óleo essencial, principalmente a partir dos 106 DAT. Com base nos resultados obtidos, sugere-se que a influência da associação do nível de cálcio com diferentes doses de ethephon, no desenvolvimento e produção de óleo essencial das plantas de menta, possa ter ocorrido devido à relação existente entre a concentração celular deste íon e a biossíntese de etileno, considerando a participação do cálcio na atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, que apresentam importante papel na referida biossíntese (Gallardo et al., 1999; Yang & Poovaiah, 2000). No entanto, estudos futuros deverão ser realizados para a confirmação dessa hipótese.

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, ao Prof. Dr. Lin Chau Ming por disponibilizar o Laboratório de Plantas Medicinais para a extração do óleo essencial.

## RESUMO

Níveis de cálcio iguais a 160, 80 e 16 mg L<sup>-1</sup>, associados a 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon foram avaliados no desenvolvimento de *Mentha piperita* L.. O comprimento de parte aérea, área foliar, matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos, de raízes e total das plantas e seu óleo essencial foram influenciados pela redução de cálcio e utilização de ethephon. Exceto o rendimento de óleo, com maiores teores nas plantas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, as demais variáveis apresentaram melhor comportamento quando as plantas foram cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup>. De maneira geral, redução do cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup> prejudicou o desenvolvimento e rendimento de óleo. O ethephon nas dosagens de 200 e 400 mg L<sup>-1</sup>, associada aos níveis de cálcio e, em especial, a 16 mg L<sup>-1</sup>, reduziu as variáveis avaliadas, prejudicando o desenvolvimento e o rendimento do óleo essencial, principalmente a partir dos 106 DAT.

## REFERÊNCIAS

- Barreiro, A.P. (2006), Produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função de reguladores vegetais. Dissertação, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu
- Bethke, P.C.; Gilroy, S. and Jones, R.L. (1995), Calcium and plant hormone action. In: Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. 2. ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 298-317
- Bush, D.S. (1995), Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **46**, 95-122
- Castro, H.G. (2001), Contribuição ao estudo das plantas medicinais. Suprema, Viçosa
- Castro, P.R.C.; Sena, J.O.A. and Kluge, R.A. (2002), Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal. Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), Maringá
- Charles, D.J.; Joly, R.J. and Simon, J.E. (1990), Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry*, **29**, 2837-2840
- David, E.F.S. (2003), Níveis de fósforo no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva. Dissertação, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu
- David, E.F.S; Boaro, C.S.F and Marques, M.O.M. (2006), Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. *Rev. Bras. Plantas Med.* **8**, 183-188

- El-Keltawi, N.E. and Croteau, R. (1986), Influence of ethephon and daminozid on growth and essential oil content of peppermint and sage. *Phytochemistry*, **25**, 1285-1288
- Ferrari, T.B. (2005), Desenvolvimento de hortelã (*Mentha crispa* L.) submetida a diferentes níveis de cálcio em solução nutritiva. In: Anais do 10<sup>o</sup>. Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 12<sup>o</sup>. Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal, 2005, Recife, Pernambuco.
- Gallardo, M.; Gómez-Jiménez, M.C. and Matilla, A. (1999), Involvement of calcium in ACC-oxidase from *Cicer arietinum* seed embryonic axes. *Phytochemistry*, **50**, 373-376
- Goutham, M.P. (1980). Activity of some essential oils against dermatophytes. In: *Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. Instituto Plantarum, Nova Odessa
- Hepler, P.K. (2005), Calcium: a central regulator of plant growth and development. *Plant Cell*, **17**, 2142-2155
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. (1950), The water: culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exper. Stat., Berkeley
- Jain, R., Chowdhry, L. and Chatterjee, C. (1997), Influence of calcium on growth, composition and yield of black gram (*Vigna mungo* L.). *Indian J. Plant Physiol.*, **2**, 221-224
- Khan, N.A. and Lone, N.A. (2000), Response of mustard (*Brassica juncea* L.) to applied nitrogen with or without ethrel spray under non-irrigated conditions. *J. Agron. Crop Sci.*, **184**, 63-66
- Kwak, S.H. and Lee, S.H. (1997), The Requirements for Ca<sup>2+</sup>, Protein Phosphorylation, and Dephosphorylation for Ethylene Signal Transduction in *Pisum sativum* L. *Plant Cell Physiol.*, **38**, 1142-1149
- Leal, F.P. (2001). Desenvolvimento, produção e composição de óleo essencial da *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio. Dissertação, Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu
- Lorenzi, H. and Matos, F.J.A. (2002), Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Instituto Plantarum, Nova Odessa
- Mairapetyan, S.K. (1999), Aromatic plant culture in open – air hidroponics. *Acta Hort.*, **502**, 33-36
- Malavolta, E.; Chaves, I.; Tonin, G.S. and Souza, A.F. (1976), Deficiências de macronutrientes na soja (*Glycine max* L. Merril, var IAC-2). *An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz"*, **33**, 471-477
- Matoo, A.K. and Suttle, J.C. (1991), The plant hormone ethylene. CRC Press, Boca Raton,
- Nickell, L.G. (1982), Plant growth regulators agricultural uses. Springer, Berlin

Patra, D.D. and Anwar, M. (2000), Integrated nutrient management and waste recycling for restoring soil fertility and productivity in Japanese mint and mustard sequence in Uttar Pradesh, India. *Agric. Ecosys. Environ.*, **80**(3), 267-275.

Piccaglia, R.; Dellacecca, V.; Marotti, M. and Giovanelli, E. (1993), Agronomic factors affecting the yields and the essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.). *Acta Hortic.*, **344**, 29-40.

Picchi, D.G.; Sacramento, L.V.S. and Almeida, A.C.S. (2002), Cultivo hidropônico de hortelã: Morfologia radicular em função de níveis de cálcio na solução nutritiva. In: Anais do 5º. Workshop de Plantas Medicinais de Botucatu, Botucatu, São Paulo

Povh, J.A. (2004), Efeitos de reguladores vegetais no desenvolvimento de plantas de *Salvia officinalis* L. e na produção de óleo essencial. Dissertação, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu

Rabak, F. (1917), The effect of cultural and climatic conditione on the yield and quality of peppermint oil. *Bull. Plant Ind.*, **80**, 450-454

Ramalho, J.C.; Rebelo, M.C.; Santos, M.E.; Antunes, M.L. and Nunes, M.A. (1995), Effects of calcium deficiency on *Coffea arabica*. Nutrient changes and correlation of calcium levels with some photosynthetic parameters. *Plant Soil*, **172**, 87-96

Rodrigues, J.D. (2002), Efeito da relação  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e concentrações de K na solução nutritiva sobre o crescimento de menta (*Mentha piperita* L.). Anais do 42º. Congresso Brasileiro de Olericultura, Uberlândia, Minas Gerais

Rodrigues, J.D.; Rodrigues, S.D.; Pedras, J.F.; Delachiave, M.E.A.; Boaro, C.S.F. and ONO, E.O. (1993), Diferentes níveis de cálcio e o desenvolvimento de plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. CV “COOK”). *Sci. Agric.*, **50**, 166-175

Rodriguez, S.J.; Cibes, H.R. and Gonzalez-Ibanes, J. (1977), Some nutrient deficiency symptomes displayed by *Dracaena deremensis* “Warneckii” under greenhouse conditions and their subsequent effects on leaf nutrient content. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, **61**, 406-464

Rosolem, C.A. (1980), Nutrição mineral e adubação da soja. POTAFOS, Piracicaba

Salisbury, L.Y. and Ross, C.W. (1992), Plant physiology. 4. ed. Wadsworth Publishing Company, Belmont

Scora, R.W. and Chang, A.C. (1997), Essential oil quality and heavy metal concentrations of peppermint grown on a municipal sludge-amended soil. *J. Environ. Qual.*, **26**(4), 975-979.

Shukla, A. and Farooqi, A.H.A. (1990), Utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. *Curr. Res. Med. Aromat. Plants*, **12**, 152-157

Silva, F. and Casali, V.W.D. (2000), Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais. Arte Livros, Viçosa

Simões, C.M.O. and Spitzer, V. (2000), Óleos voláteis. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2. ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre

Singh, P. and Misra, A. (2001), Influence of giberellin and ethrel on growth, chlorophyll content, protein, enzyme activities and essential monoterpene oil in a efficient genotype of *Mentha spicata* var. MSS5. *J. Med. Aromat. Plant Sci.*, **22-23**, 283-286

Singh, P.; Srivastava, N.K.; Misra, A. and Sharma, S. (1999), Influence of ethrel and gibberellic acid on carbon metabolism, growth, and essential oil accumulation in spearmint (*Mentha spicata*). *Photosynthetica*, **36**, 509-517

Taiz, L. and Zeiger, E. (2004), Fisiologia Vegetal. 3.ed. Artmed, Porto Alegre

Tamari, G.; Pappa, L.; Zered, T. and Borochoy, A. (1998), Effects of ethrel and gibberellin on impatiens plants. *Sci. Hortic.*, **76**, 29-35

Trewavas, A. (1999), Le Calcium C'est la vie. Calcim makes waves. *Plant Physiol.*, **118**, 1-6

Valmorbida, J. (2003), Níveis de potássio em solução nutritiva, desenvolvimento de plantas e a produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L. Dissertação, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu

Valmorbida, J.; Boaro, C.S.F.; Marques, M.O.M. and Ferri, A.F. (2006) Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva em diferentes concentrações de potássio. *Rev. Bras. Plantas Med.*, **8**, 56-61

Vieira, E.L. and Monteiro, C.A. (2002), Hormônios vegetais. In: Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal. Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), Maringá

Yang, Z. (1996), Signal transducing proteins in plants: an overview. In: Signal transduction in plant growth and development. Springer Verlag, New Nork, pp. 1-37.

Zhou, X.M.; Mackenzie, A.F.; Madramootoo, C.A. and Smith, D. L. (1999), Effects on stem-injected plant growth regulators, with or without sucrose, on grain production, biomass and photosynthetic activity of field-grown corn plants. *J. Agron. Crop Sci.*, **183**, 103-110.

## **CAPÍTULO II**

### **ANÁLISE DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L. EM SOLUÇÃO NUTRITIVA COM VARIAÇÃO DE CÁLCIO E ETHEPHON**

Artigo elaborado nas normas da Revista Bragantia

# ANÁLISE DE CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* L. EM SOLUÇÃO NUTRITIVA COM VARIAÇÃO DE CÁLCIO E ETHEPHON <sup>(1)</sup>

Juliana Leticia De Fazio<sup>(2,3\*)</sup>, Elizabeth Orika Ono<sup>2</sup>, João Domingos Rodrigues<sup>2</sup>, Carmen Silvia Fernandes Boaro<sup>2</sup>

O estudo objetivou avaliar a influência da variação do nível de cálcio em solução nutritiva, associada à aplicação de ethephon, no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L.. As plantas foram cultivadas em solução contendo 160 mg L<sup>-1</sup>, 80 e 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e submetidas à pulverização foliar com 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, até as datas de colheitas, realizadas aos 46, 76, 106 e 136 dias após o transplante das mudas para a solução nutritiva. Para a estimativa dos índices fisiológicos da análise de crescimento, taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa assimilatória líquida (TAL), razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE), as variáveis, área foliar, matéria seca de lâminas foliares e total das plantas foram ajustadas em relação ao tempo, pelo programa computacional ANACRES, utilizando-se a equação exponencial quadrática. O óleo essencial foi extraído e seu rendimento avaliado. Os índices avaliados indicaram melhor crescimento quando as plantas foram cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, inferindo-se, portanto, nível excessivo do nutriente na solução completa. No entanto, nessas condições houve redução de produção de óleo, cuja qualidade pode não ter sido comprometida. A pulverização de 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, associada a todos os níveis de cálcio e, em especial, ao menor e igual a 16 mg L<sup>-1</sup>, reduziu o crescimento das plantas e o rendimento de óleo essencial.

**Palavras-chave:** Lamiaceae, desenvolvimento, reguladores vegetais, nutrição mineral, macronutrientes.

**Growth analysis and essential oil yield of *Mentha piperita* L. in nutritive solution with calcium and ethephon variation:** The research aimed to evaluate the influence of calcium level variation in nutritive solution associated to ethephon application on the development and essential oil yield of *Mentha piperita* L. Plants were grown in solution containing 160 mg L<sup>-1</sup>, 80 and 16 mg L<sup>-1</sup> of Ca<sup>2+</sup> and submitted to leaf pulverization with 100, 200 and 400 mg L<sup>-1</sup> of ethephon, until the dates of harvests, which were performed at 46, 76, 106 and 136 days after the transplantation to nutritive solution. In order to estimate the growth analysis physiological indexes, absolute growth rate (AGR), relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR), leaf area ratio (LAR) and specific leaf area (SLA), variables correspondent to leaf area, dry matter of leaf blades and total of the plants were adjusted in relation to the time through ANACRES computational program with use of square exponential equation. The essential oil was extracted and its yield was evaluated. The measured indexes indicated better growth when the plants were grown with 80 mg L<sup>-1</sup> of Ca<sup>2+</sup>. Therefore, an excessive level of this nutrient in complete solution can be suggested. However, in these conditions there was reduction of oil yield, whose quality has not been damaged. Ethephon pulverization at 200 and 400 mg L<sup>-1</sup> associated to every calcium levels and specially to the lowest and equal to 16 mg L<sup>-1</sup>, decreased the plant growth and essential oil yield.

**Key-words:** Lamiaceae, development, plant regulators, mineral nutrition, macronutrients.

<sup>1</sup> Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora.

<sup>2</sup> UNESP, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Caixa Postal 510, 18618-000, Botucatu (SP). \*Autora correspondente. E-mail: [judefazio@yahoo.com.br](mailto:judefazio@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Bolsista CAPES.

## Introdução

As plantas da família Lamiaceae, pela riqueza em óleos essenciais, tem sido amplamente investigadas sob o ponto de vista agrônomico e químico, não somente com o intuito de maximizar o conteúdo de seu óleo essencial, mas também buscando avaliar a variação dos constituintes importantes destes óleos (Martins, 1998). Suas espécies são amplamente utilizadas como medicinais, condimentos, aromáticas e ornamentais (Judd, 1999).

A *Mentha piperita* L., conhecida como hortelã, hortelã pimenta, menta, menta inglesa, hortelã-apimentada ou sândalo, é uma erva aromática anual ou perene, de mais ou menos 30 cm de altura, semi-ereta. A planta apresenta grande interesse econômico na obtenção de óleos essenciais, que tem ação antimicrobiana e espasmolítica. Na forma de chá abafado de suas folhas, a menta pode ser usada para facilitar a digestão e a eliminação de gases do aparelho digestivo (Goutham, 1980; Simões & Spitzer, 2000; Lorenzi & Matos, 2002).

O cultivo de plantas na ausência de solo, em sistema completamente ou parcialmente controlado pode aumentar a produtividade vegetal e essa técnica pode permitir o desenvolvimento de todas as potencialidades das plantas. Plantas aromáticas desenvolvidas em hidroponia apresentaram maior produtividade em relação àquelas cultivadas de modo tradicional, acumulando de 3 a 6 vezes mais óleo essencial por área (Mairapetyan, 1999).

Entre os elementos essenciais, o cálcio é um macronutriente necessário para o desenvolvimento das plantas. Participa de vários processos fisiológicos nos seus diferentes estádios de desenvolvimento, sendo a atividade do elemento dependente de sua concentração e localização na célula (Trewavas, 1999). Ao contrário dos outros nutrientes, a maior proporção encontra-se localizada no apoplasto, estabilizando ligações entre as substâncias pecticas da parede celular ou, como reserva no vacúolo (Taiz & Zeiger, 2004). Estudos demonstram que as plantas possuem um rico e multifacetado mecanismo de regulação do cálcio citoplasmático (Hepler, 2005).

Um dos papéis mais importantes do cálcio é o de mensageiro secundário em vias de transdução de sinal em células vegetais (Bush, 1995; Yang, 1996). Este íon está envolvido em várias respostas de plantas a estímulos ambientais e hormonais em processos celulares e de desenvolvimento. No entanto, o cálcio não atua como elemento efetuator no metabolismo. Segundo Bethke et al. (1995), para se tornar um potente elemento efetuator, o cálcio deve ligar-se a proteínas que, assim, alteram sua conformação, possibilitando a modulação de respostas bioquímicas e fisiológicas. Entre as proteínas mais comuns que se ligam ao cálcio encontra-se a calmodulina.

Espécies pertencentes à família Lamiaceae, entre elas *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris* e *Mentha crispa*, foram estudadas visando avaliar a influência da nutrição sobre os índices fisiológicos da análise de crescimento. Leal (2001) ao cultivar *Mentha piperita* L., em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio e iguais a 210, 263 e 315 mg L<sup>-1</sup>, determinou a razão de área foliar, a área foliar específica, a taxa assimilatória líquida e a taxa de crescimento relativo e observou que o maior nível de nitrogênio diminuiu esses índices fisiológicos, o rendimento de óleo das plantas e o teor de mentol. David (2003) cultivando *Mentha piperita* L., em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo e iguais a 15,5, 31,0 e 46,5 mg L<sup>-1</sup>, constatou que o maior nível de fósforo diminuiu a razão de área foliar, a razão de massa foliar e as plantas tenderam a apresentar maior produção de óleo e dos teores de mentona. Valmorbidia (2003), cultivando *Mentha piperita* L., em solução nutritiva com diferentes níveis de potássio e iguais a 234, 117 e 58,5 mg L<sup>-1</sup>, observou que a razão de área foliar, a área foliar específica, a taxa assimilatória líquida e a taxa de crescimento relativo não foram influenciadas pelos níveis de potássio utilizados. Bueno (2004) trabalhando com *Thymus vulgaris* L., em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) com diferentes níveis de fósforo, concluiu que o nível de fósforo igual a 46,5 mg L<sup>-1</sup> e acima daquele recomendado na solução completa e igual a 31 mg L<sup>-1</sup>, interferiu no desenvolvimento das plantas, aumentando o comprimento, a matéria fresca e seca de parte aérea, a matéria seca de raiz e total, o rendimento e o conteúdo do óleo essencial, com aumento do teor de carvacrol. De Fazio et al. (2005) cultivando plantas de hortelã (*Mentha crispa* L.), em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950), com redução do nível de cálcio de 200 mg L<sup>-1</sup> para 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e para 30 mg L<sup>-1</sup>, observaram que as plantas cultivadas com 60/20 e 30 mg L<sup>-1</sup> adaptaram-se a essa condição, apresentando produtividade semelhante àquelas tratadas com 200 mg L<sup>-1</sup>, com discreta diminuição da taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR), razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE), o que sugere nível de cálcio super estimado na solução nutritiva completa de Hoagland & Arnon (1950).

Espécies não pertencentes à família Lamiaceae também foram estudadas visando observar a influência da nutrição sobre os índices fisiológicos avaliados na análise de crescimento, entre elas *Stylosanthes guyanensis*, *Vigna mungo* e *Coffea arabica*. Rodrigues et al. (1993) relataram que plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. CV “COOK”), quando cultivadas em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950) com redução dos níveis de cálcio de 200 para 133, 66 e 0 mg L<sup>-1</sup> apresentaram redução da área foliar. Jain et al. (1997) estudando a influência do cálcio em *Vigna mungo* L., verificaram

redução da área foliar nas plantas submetidas à deficiência desse íon. Diminuição da área foliar e da biomassa de raízes e parte aérea também foi observada em plantas de *Coffea arabica* submetidas à deficiência de cálcio (Ramalho et al., 1995).

Apesar da importância do cálcio no metabolismo vegetal e de várias espécies terem sido estudadas ao serem cultivadas com variação desse nutriente, não foram identificados na literatura consultada trabalhos que avaliem o elemento no desenvolvimento da *Mentha piperita* L..

Segundo Taiz & Zeiger (2004), os hormônios vegetais são moléculas orgânicas freqüentemente sintetizadas em um local do organismo e transportadas para outros, onde em baixas concentrações influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais.

Shukla & Farooqi (1990) referem que os reguladores vegetais influenciam o crescimento de plantas medicinais e aromáticas, possibilitando o aumento de produção e qualidade de óleos essenciais.

O etileno, mais simples de todos os reguladores vegetais, é um hidrocarboneto insaturado (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>). Está envolvido nos processos fisiológicos desde a germinação das sementes até a senescência e morte das plantas, coordenando vários eventos durante seu desenvolvimento, como amadurecimento dos frutos, dormência, abscisão, florescimento, senescência, crescimento apical e radicular e dominância apical (Castro et al., 2002).

É possível adicionar etileno exógeno às plantas pelo uso de etileno ou de compostos que liberem etileno, tais como o ácido 2-cloroetil-fosfônico (ethephon) (Yang & Hoffman, 1984).

Alguns estudos foram realizados em *Mentha piperita*, *M. crispera*, *Salvia officinalis* e *M. spicata*, espécies da família Lamiaceae visando avaliar a influência do ethephon sobre os índices fisiológicos da análise de crescimento. El-Keltawi & Croteau (1986) observaram que plantas de *Mentha piperita*, *Mentha crispera* e *Salvia officinalis*, pulverizadas com ethephon na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup>, apresentaram redução no tamanho das folhas. Singh & Misra (2001) ao aplicarem o regulador na mesma dosagem em *Mentha spicata* L., observaram aumento da razão de área foliar.

O cálcio que não participa da transdução de sinal do etileno (Bethke et al., 1995) influencia sua biossíntese por atuar na atividade da enzima ACC sintase (Yang & Poovaiah, 2000) e na transcrição (Kwak & Lee, 1997) e atividade (Gallardo et al., 1999; Yang & Poovaiah, 2000) da ACC oxidase. Gallardo et al. (1999) estudando sementes de ervilha, aplicaram substâncias bloqueadoras de canais de cálcio e um antagonista do cálcio intracelular e observaram que estes tratamentos inibiram a atividade da ACC oxidase e a

produção de etileno. Segundo os autores, estes resultados sugerem o envolvimento do cálcio na última etapa da biossíntese de etileno. No entanto, nenhum estudo foi encontrado na literatura consultada que avaliasse a relação entre cálcio e ethephon no desenvolvimento de espécies vegetais.

A composição química dos óleos essenciais é influenciada pelo ambiente no qual o vegetal se desenvolve e pelo tipo de cultivo realizado. A intensidade da biossíntese de óleo essencial, composto de valor comercial, de modo freqüente, correlaciona-se com a otimização da nutrição mineral (Mairapetyan, 1999; Simões & Spitzer, 2000), onde alguns elementos minerais são considerados nutrientes indispensáveis.

Alguns estudos demonstram que além da nutrição mineral, a época de cultivo e de colheita das plantas pode alterar a quantidade e a qualidade do óleo obtido, o que está de acordo com as observações de Castro et al. (2001) que referiu variação durante as fases de crescimento, tornando-se importante a realização da colheita na época apropriada. Rabak (1917) trabalhando com *Mentha piperita* L., nos EUA, obteve o maior rendimento de óleo quando as plantas atingiram o máximo florescimento, afetado pelas condições de solo e clima. Leal (2001), David (2003) e Valmorbida (2003) estudaram *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) com variação respectivamente de nitrogênio, fósforo e potássio, em relação aos níveis preconizados na solução completa. Leal (2001) realizou o cultivo entre dezembro e março, David (2003) entre janeiro e maio e Valmorbida (2003) entre outubro e fevereiro. Apenas no estudo de Leal (2001) as plantas submetidas ao tratamento com nível completo de nitrogênio e igual a 210 mg L<sup>-1</sup> floresceram. Nos outros dois estudos mesmo as plantas submetidas ao tratamento com solução nutritiva completa não floresceram. Estes resultados dificultam ainda mais a decisão sobre o melhor momento para a colheita das plantas com possibilidade de obtenção de maior rendimento e melhor qualidade do óleo. Na literatura alguns estudos referem que a melhor época de colheita da *Mentha piperita* para obtenção de maior rendimento de óleo coincide com a fase de florescimento da espécie, o que se torna difícil precisar quando as plantas são cultivadas em casa de vegetação, uma vez que nem sempre florescem.

Apesar disso, os procedimentos que levam a incrementos no conteúdo de óleo essencial, muitas vezes não requerem custos adicionais à produção. A determinação do melhor momento para a colheita, em que as plantas apresentam maior conteúdo de óleo essencial e maior teor dos seus constituintes mais importantes, tem sido objetivo de muitos estudos. As técnicas e equipamentos modernos, atualmente à disposição para tais avaliações,

não só aumentaram a precisão dos resultados, como também as tornaram mais rápidas e menos complicadas (Martins, 1998).

Mairapetyan (1999) estudou a otimização das relações N:P:K em menta (*Mentha piperita* L.), em cultivo hidropônico e concluiu que ela requer maior suprimento de fósforo para o máximo acúmulo de óleo essencial. Leal (2001) trabalhando com *Mentha piperita* L., em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon com diferentes níveis de nitrogênio, concluiu que níveis de nitrogênio iguais a 263 e 315 mg L<sup>-1</sup>, acima daquele recomendado na solução completa e igual a 210 mg L<sup>-1</sup> interferiram com o desenvolvimento das plantas, diminuindo a produção e a qualidade do óleo essencial, que apresentou menor teor de mentol. Rodrigues et al. (2002) testaram o efeito da relação NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e concentrações de potássio na solução nutritiva em que *M. piperita* L. foi cultivada. Os resultados revelaram a intolerância da espécie à elevadas concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e seu efeito inibitório na absorção do K<sup>+</sup>. Valmorbidia (2003) e Valmorbidia et al. (2006), ao avaliarem a mesma espécie cultivada em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon, concluíram que a menta pode ser cultivada com redução de 50 a 75% do potássio recomendado na solução nutritiva, e iguais respectivamente a 117,0 e 58,5 mg L<sup>-1</sup>, apresentando rendimento e qualidade do óleo essencial satisfatórios. A diminuição de potássio aumentou o teor de mentol nas plantas e não interferiu com o conteúdo de óleo produzido. David (2003) e David et al. (2006), trabalhando com a *Mentha piperita* L. na mesma solução contendo 31,0 mg L<sup>-1</sup> de fósforo, observaram que a redução de 50% do elemento, 15,5 mg L<sup>-1</sup>, na solução não foi deficiente para as plantas, com resultados satisfatórios para o teor de mentol. No entanto, quando as plantas foram cultivadas com acréscimo de 50% de fósforo na solução, 46,5 mg L<sup>-1</sup>, a produção de matéria seca e de óleo essencial tendeu a ser maior, mas foram observados maiores teores de mentona. A variação do nível de fósforo na solução nutritiva pode, portanto, resultar em plantas com variação do rendimento e composição do óleo essencial.

Quando alterações nas concentrações de nutrientes essenciais são estabelecidas no meio de cultivo das plantas, aplicando-se reguladores via foliar a produtividade vegetal pode ser estudada por meio de análise de crescimento, técnica que independente das dificuldades inerentes ao conhecimento sobre a complexidade que envolve o crescimento vegetal, ainda é a mais acessível e precisa para avaliá-lo e estimar a contribuição de diferentes processos fisiológicos sobre o comportamento vegetal (Causton & Venus, 1981; Magalhães, 1986). A produtividade do vegetal, portanto, pode inferir sua produção, na dependência de fatores internos, ligados à própria planta e externos, ligados ao ambiente.

A importância da *Mentha piperita* nas indústrias brasileiras, do cálcio e do etileno no desenvolvimento vegetal e a inexistência de trabalhos que avaliem a espécie submetida a esse nutriente e ao regulador justificam o presente trabalho.

Com base no exposto, este estudo objetivou avaliar a influência da variação do nível de cálcio em solução nutritiva, associada à aplicação de ethephon, no desenvolvimento e na produção do óleo essencial de *Mentha piperita* L..

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no período compreendido entre novembro de 2005 e abril de 2006, em casa de vegetação do Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, SP, tipo Paddy-Fan, com controle de temperatura, que foi mantida em  $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Estacas de *Mentha piperita* L., obtidas de plantas matrizes e provenientes do canteiro de plantas medicinais do Departamento de Botânica, foram colocadas em bandejas de isopor contendo substrato comercial Plantmax<sup>®</sup> e mantidas em câmara de nebulização intermitente, onde permaneceram até o enraizamento. A seguir, as mudas foram transferidas para vasos plásticos pintados externamente com purpurina prateada e arejados continuamente por meio de soprador rotativo, com solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon (1950) contendo  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio e na mesma solução com sua redução para 50%,  $80 \text{ mg L}^{-1}$  e 90 %,  $16 \text{ mg L}^{-1}$  e submetidas à pulverização foliar com 100, 200 e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon, onde permaneceram até as datas de colheitas, realizadas aos 46, 76, 106 e 136 dias após o transplante das mudas para a solução nutritiva.

O ácido 2-cloroetilfosfônico, ethephon, foi utilizado na forma do produto comercial Ethrel<sup>®</sup> contendo 240 g de ácido 2-cloroetilfosfônico por litro do produto, fabricado pela Bayer Crop Science. As pulverizações, via foliar, foram realizadas aos 31, 61, 91 e 121 dias após transplante, com pulverizador manual de 5 L, bico leque 80 02, pressão de 40 libras/pol<sup>2</sup>, adicionando-se espalhante adesivo não iônico, alquil-fenol-poliglicoleter, Extravon<sup>®</sup>, na concentração de  $0,5 \text{ mL L}^{-1}$  de solução, fabricado pela Syngenta Brasil.

Dessa forma, as plantas foram cultivadas em doze tratamentos designados T1 (testemunha) e composto por  $160 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$  e pulverizações com água destilada + 0,05% de extravon, T2, constituído por  $160 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$  e pulverizações com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon + 0,05% de extravon, T3, com  $160 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$  e pulverizações com  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon +

0,05% de extravon, T4, com 160 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T5, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com água destilada + 0,05% de extravon, T6, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T7, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T8, com 80 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T9, com 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com água destilada + 0,05% de extravon, T10, com 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon, T11, com 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon e T12, constituído por 16 mg L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> e pulverizações com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon + 0,05% de extravon.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 3 x 4 x 4, ou seja, três níveis de cálcio, quatro doses de ethephon e quatro épocas de colheita, de modo a cobrir parte do ciclo do vegetal.

Em cada colheita, as plantas, separadas em lâminas foliares, caules mais pecíolos e raízes, tiveram o comprimento de parte aérea e a área foliar determinados. A seguir, as diferentes partes das plantas foram acondicionadas em sacos de papel etiquetados e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até obtenção de matéria seca constante. A área foliar, em dm<sup>2</sup>, foi determinada em integralizador de área foliar, modelo LI 3100 da Li-Cor. Após a secagem, o material vegetal foi pesado em balança analítica Ohaus tipo Analytical Standard com sensibilidade de até 0,1 mg.

Para se proceder a estimativa dos índices fisiológicos da análise de crescimento, taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa assimilatória líquida (TAL), razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE), as variáveis, área foliar, matéria seca de lâminas foliares e total das plantas foram ajustadas em relação ao tempo, ou seja, idade das plantas, pelo programa computacional ANACRES, de acordo com as especificações de Portes & Castro Júnior (1991), utilizando-se a equação exponencial quadrática, que foi a que melhor se ajustou ao conjunto de dados.

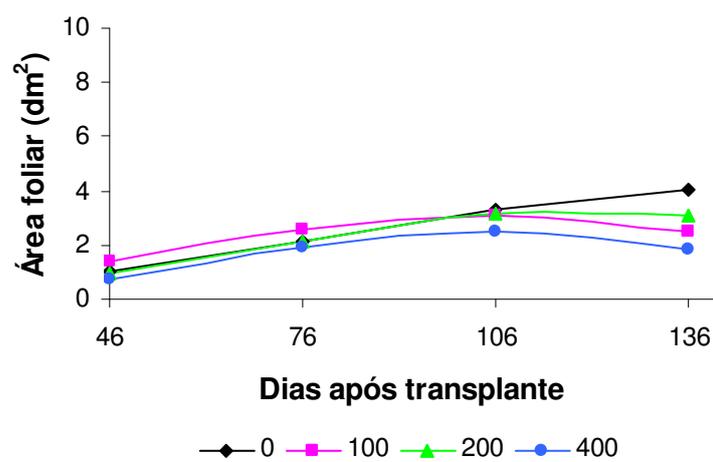
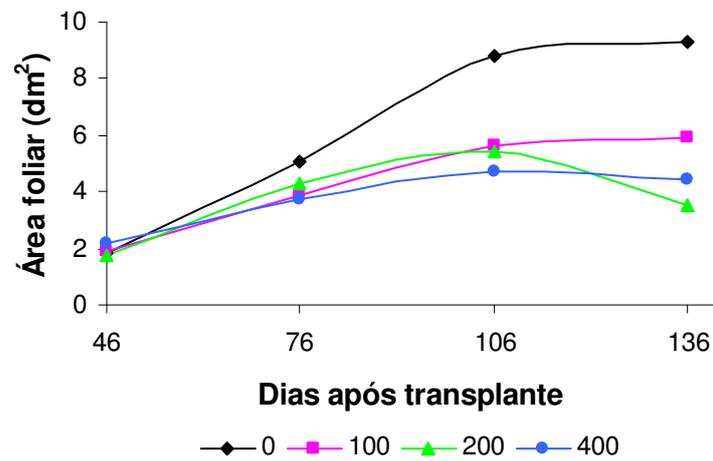
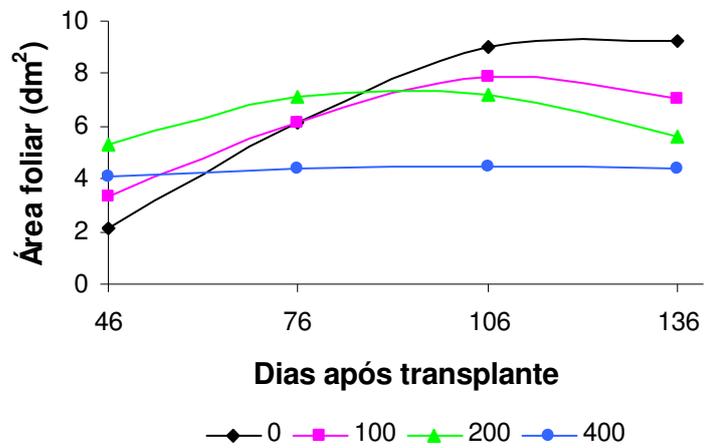
O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. Segundo Simões & Spitzer (2000), os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que o da água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Para tanto, a parte aérea das plantas, constituída pelo caule, pecíolo e lâminas foliares, foi colocada para secar em estufa de circulação forçada de ar a 40°C até obtenção de matéria seca constante. Tal secagem visou impedir a deterioração do material por meio da redução do teor de água uma vez que, a desidratação atua diminuindo a atividade das enzimas, o que permite a conservação da planta

por mais tempo (Silva & Casali, 2000). Além disso, a eliminação de água aumenta o percentual de princípios ativos em relação à massa. A seguir, 100 g de material seco foram colocados em balão de fundo chato de 2000 mL, para hidrodestilação, com água destilada até cobertura total da amostra, que em seguida foi aquecida. Após a destilação, o rendimento do óleo foi medido em g 100 g<sup>-1</sup> de matéria seca.

Os resultados de matéria seca de lâminas foliares e de rendimento de óleo essencial foram submetidos à análise de variância do fatorial e, conforme a significância dos efeitos de tratamentos, foi feita a análise de regressão.

## **Resultados e Discussão**

A avaliação da área foliar em plantas de menta cultivadas em solução nutritiva com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, demonstra que a aplicação de diferentes doses de ethephon, reduziu a área foliar das plantas na medida que a dose do regulador aumentou (Figura 1A). Nessa condição, as plantas não pulverizadas apresentaram máxima área foliar aos 106 dias após transplante (DAT), que se manteve constante a seguir, enquanto as pulverizadas com 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon mantiveram as menores áreas, que se apresentaram constantes ao longo do ciclo. Deve ser destacado o comportamento das plantas pulverizadas com 100 e 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon no início do ciclo, apresentando maiores áreas que as plantas não pulverizadas com ethephon. No entanto, essa vantagem não foi mantida com o tempo. A aplicação de diferentes doses de ethephon em plantas cultivadas com redução de 50% de cálcio, 80 mg L<sup>-1</sup>, também diminuiu a área foliar e os menores valores foram apresentados pelas plantas pulverizadas com 200 mg L<sup>-1</sup> aos 136 dias após transplante (Figura 1B). A redução do cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup> impediu a manifestação do efeito das diferentes doses de ethephon na área foliar, que apresentaram comportamento semelhante até os 106 DAT. Apenas aos 136 DAT discretas diferenças foram observadas e as plantas pulverizadas apresentaram diminuição da área foliar, mais evidente quando 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon foram aplicados (Figura 1C). Nesse caso, a baixa concentração de cálcio, ao inibir o crescimento impediu a manifestação dos efeitos do regulador na área foliar das plantas. A redução do nível de cálcio, portanto, teve influência na atuação do regulador com base no seu efeito na área foliar das plantas. No entanto, 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio na solução foram suficientes para pleno desenvolvimento da área foliar das plantas.



**Figura 1.** Área foliar, em  $\text{dm}^2$ , de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetida à solução nutritiva com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (A),  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (B) e  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

Os resultados obtidos neste estudo quanto à influência do cálcio na área foliar concordam com os verificados por Rodrigues et al. (1993) que ao cultivarem plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. CV “COOK”) em solução nutritiva nº 1 de Hoagland & Arnon (1950) com redução do nível de cálcio de 200 para 133, 66 e 0 mg L<sup>-1</sup>, observaram redução da área foliar. Jain et al. (1997) estudando a influência do cálcio em *Vigna mungo* L., também verificaram redução da área foliar nas plantas submetidas à deficiência desse íon. Diminuição da área foliar também foi observada em plantas de *Coffea arabica* submetidas à deficiência de cálcio (Ramalho et al., 1995).

Por outro lado, os resultados obtidos com aplicação de diferentes doses de ethephon e redução da área foliar concordam com os de El-Keltawi & Croteau (1986), que avaliaram plantas de *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* e *Mentha crispa*, tratadas com 1000 mg L<sup>-1</sup> de ethephon e observaram redução no tamanho das folhas. Barreiro (2006), estudando plantas de *Ocimum basilicum* L., pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, também verificou diminuição da área foliar. Apesar dos estudos mencionados terem avaliado doses diferentes de ethephon, apresentaram resultados concordantes. No entanto, deve ser ressaltada a inexistência de estudos que avaliem a interação entre cálcio e ethephon no desenvolvimento de espécies vegetais.

Os dados existentes na literatura sobre a ação do cálcio na área foliar, mais especificamente na parte aérea, são em grande número, com destaque para a importância do mineral na obtenção de plantas com grande área foliar, e, portanto, com condições para a realização de elevada atividade fotossintética e adequada produção de matéria foliar. Assim, na omissão de cálcio, a sintomatologia de deformação, diminuição de número e clorose de folhas, redução de seu tamanho e necrose do limbo (Malavolta et al., 1976; Rodriguez et al., 1977; Rosolem, 1980) sugere, na instalação da carência de cálcio, redução da área foliar. No presente estudo, embora não tenha sido avaliada omissão de cálcio, sua redução para 16 mg L<sup>-1</sup> já foi suficiente na restrição do crescimento das plantas.

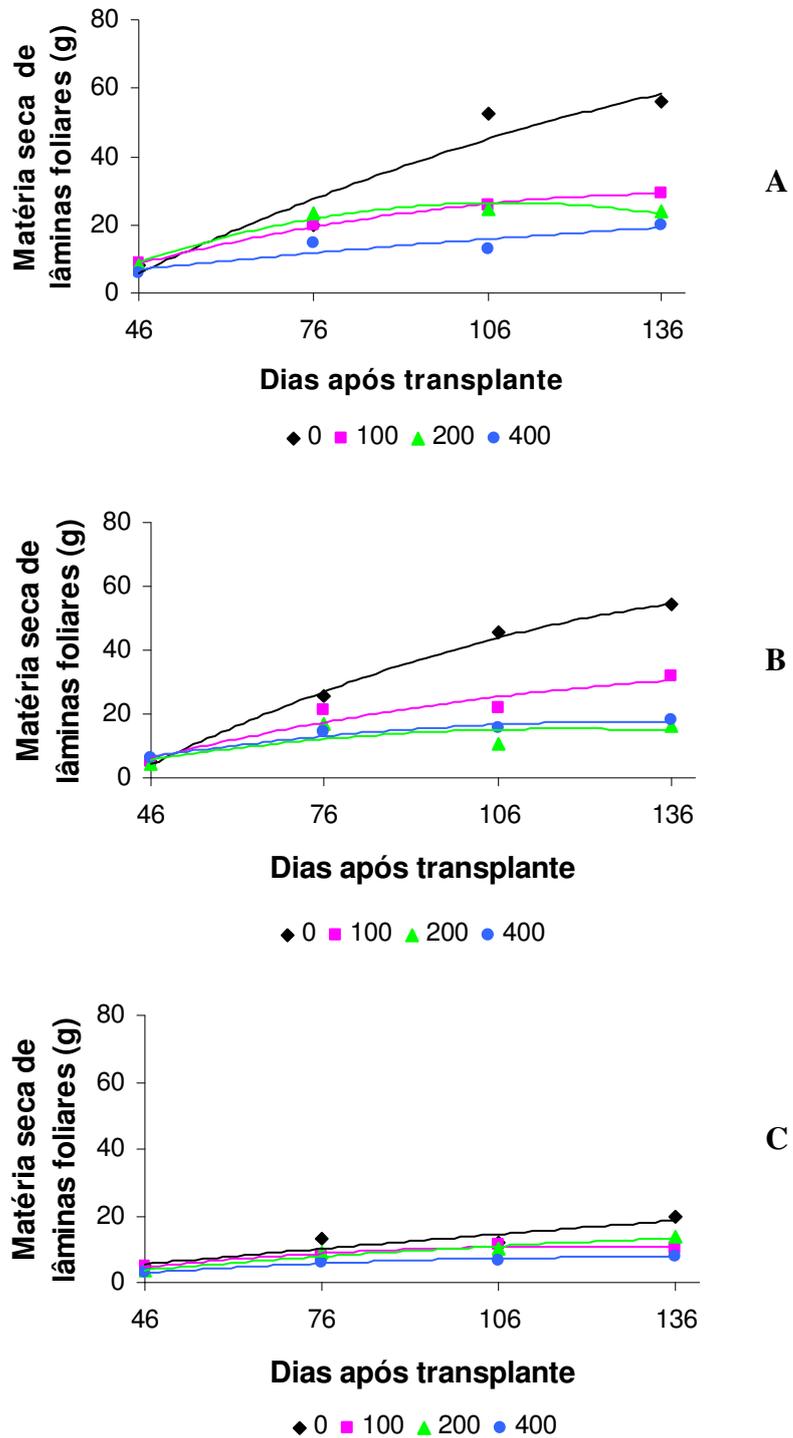
A redução da área foliar, verificada com aplicação de ethephon pode estar relacionada com a ação do etileno nos processos de senescência e abscisão foliar (Vieira & Monteiro, 2002). Nesse caso, a pulverização de etileno acelera o processo de senescência por degradação da clorofila, RNA e proteínas. Além disso, o etileno está relacionado com o processo de abscisão normal de folhas, agindo sobre a atividade das enzimas celulasas e pectinases que atuam na zona de abscisão e aplicações exógenas de etileno, aceleram ou causam a abscisão prematura das folhas.

O efeito do cálcio e das diferentes doses de ethephon na matéria seca de lâminas foliares foi semelhante ao verificado em sua área foliar.

Assim, o efeito das diferentes doses de ethephon foi bem evidente quando as plantas foram nutridas com 160 e 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio. Nesses casos, a aplicação do regulador vegetal diminuiu a matéria seca de lâminas foliares. No entanto, 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio foram suficientes para a produção de matéria seca nesses órgãos. A redução do nível de cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup>, diminuiu a matéria seca de lâminas foliares (MSLF) de plantas de menta. As diferentes doses de ethephon aplicadas nas plantas apresentaram resultados diferentes, de acordo com o nível de cálcio presente na solução (figuras 2A, 2B e 2C). As plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, apresentaram redução da MSLF proporcional à dose de ethephon (Figura 2A). As plantas cultivadas com 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio apresentaram, de maneira geral, o mesmo comportamento daquelas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> do elemento, com exceção das pulverizadas com 200 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, que apresentaram menor MSLF ao longo do ciclo (Figura 2B). A aplicação de diferentes doses de ethephon nas plantas cultivadas com 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, de maneira geral, não influenciou a produção de matéria seca das lâminas foliares, cujo crescimento já havia sido limitado pela deficiência de cálcio (Figura 2C). De maneira geral, observou-se que a redução do nível de cálcio diminuiu a matéria seca de lâminas foliares. Essa redução interferiu ainda na ação do ethephon, que na medida em que foi aplicado, em várias doses, resultou em plantas com redução mais acentuada da MSLF.

Resultados semelhantes foram relatados por Ferrari et al. (2005) que, observaram redução da matéria seca de lâminas foliares de *Mentha crispera* L., cultivadas em solução nutritiva contendo 30 mg L<sup>-1</sup> de cálcio, nível abaixo daquele preconizado na solução nutritiva completa e igual a 200 mg L<sup>-1</sup>. Barreiro (2006) estudando plantas de *Ocimum basilicum* pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon, também observou redução da matéria seca de lâminas foliares.

A redução da matéria seca de lâminas foliares, provocada pela redução do nível de cálcio pode estar relacionada à diminuição da área foliar nesta mesma condição, enquanto a aplicação de ethephon pode ter influenciado a redução da matéria seca de lâminas foliares devido à participação deste regulador nos processos de senescência e abscisão foliar, como mencionados por Vieira & Monteiro (2002).



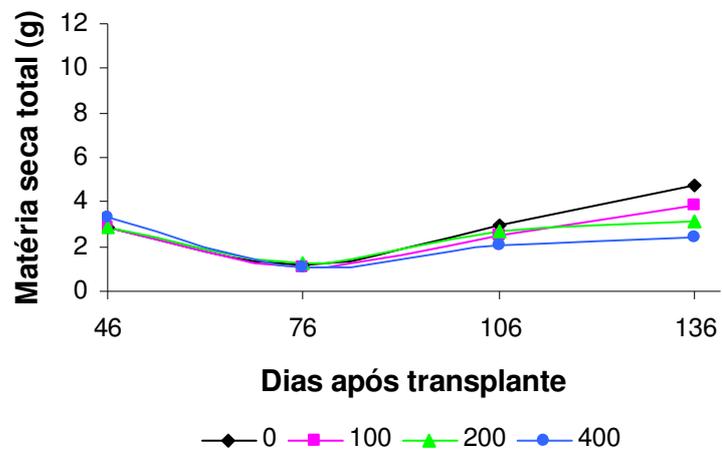
**Figura 2.** Matéria seca de lâminas foliares, em g, de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em mg L<sup>-1</sup> e submetida à solução nutritiva com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (A), 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (B) e 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

Plantas cultivadas em solução nutritiva com nível completo de cálcio e submetidas à aplicação de diferentes doses de ethephon apresentaram, com o tempo, redução da matéria seca total (MST) na medida em que houve aumento da dose de ethephon (Figura 3A). A redução do cálcio para  $80 \text{ mg L}^{-1}$ , promoveu, no início do ciclo, aumento da MST das plantas, que decaiu aos 76 dias após transplante, sendo os maiores valores observados nas plantas não pulverizadas (Figura 3B). As plantas cultivadas com  $16 \text{ mg L}^{-1}$  apresentaram aumento da MST no início do ciclo, que decaiu, de maneira menos acentuada que as cultivadas com  $80 \text{ mg L}^{-1}$ , ao longo do ciclo, observando-se aos 136 DAT comportamento semelhante das plantas não pulverizadas e as pulverizadas com diferentes doses de ethephon (Figura 3C). Deve ser ressaltado que o aumento inicial referido para as plantas cultivadas com  $16 \text{ mg L}^{-1}$  foi bem menor que o verificado naquelas cultivadas com  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio. Sugere-se, portanto, que o nível de cálcio igual a  $80 \text{ mg L}^{-1}$  na solução nutritiva seja suficiente para o desenvolvimento da menta, uma vez que esse nível permitiu desenvolvimento máximo da matéria seca total, resultados concordantes com os observados por Ruiz (1997) que refere concentrações de macronutrientes superestimadas nas soluções nutritivas.

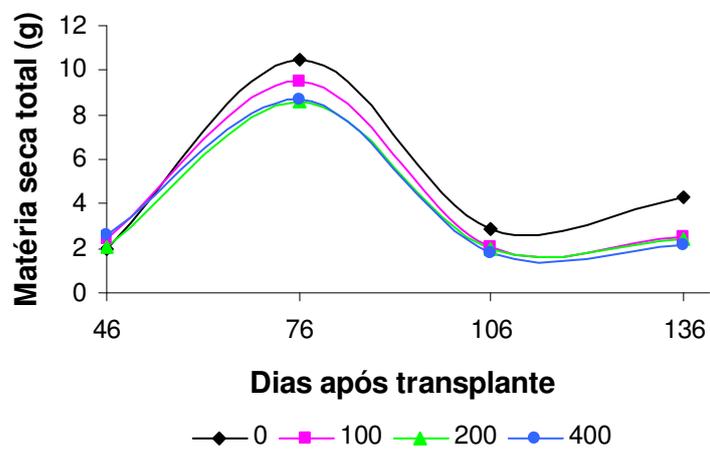
Uma vez mais o nível de cálcio na solução nutritiva influenciou a resposta da planta, em matéria seca total, às diferentes doses de ethephon utilizadas.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os de Ferrari et al. (2005) que, cultivando plantas de *Mentha crispa* L., em solução nutritiva com  $60 \text{ mg L}^{-1}$  até 46 dias após o transplante das plantas para a solução e  $20 \text{ mg L}^{-1}$  a seguir (60/20) e com  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , observaram redução da matéria seca total das plantas quando comparadas com as submetidas ao nível de  $200 \text{ mg L}^{-1}$  do íon.

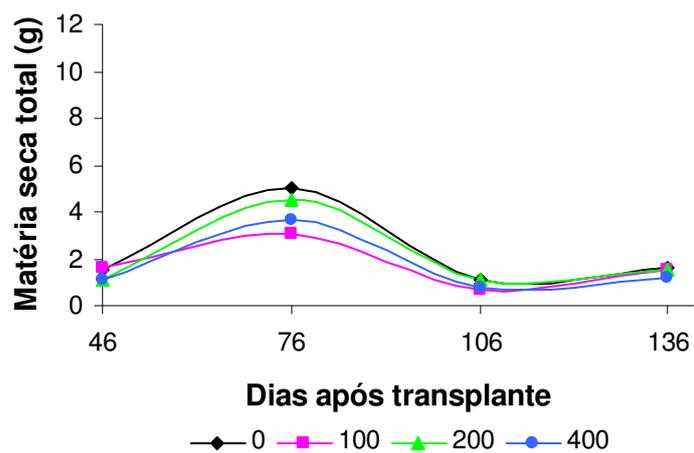
Resultados concordantes aos do presente estudo também foram relatados por El-Keltawi & Croteau (1986) que, ao estudarem plantas de *Mentha piperita* e *Salvia officinalis*, submetidas a 250, 500 e  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon, observaram redução da matéria seca total. Zhou et al. (1999) e Barreiro (2006) verificaram diminuição da matéria seca total respectivamente de plantas de *Zea mays* L. submetidas a  $15 \mu\text{M}:\text{M}$  de ethephon e de *Ocimum basilicum* pulverizadas com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon.



A



B

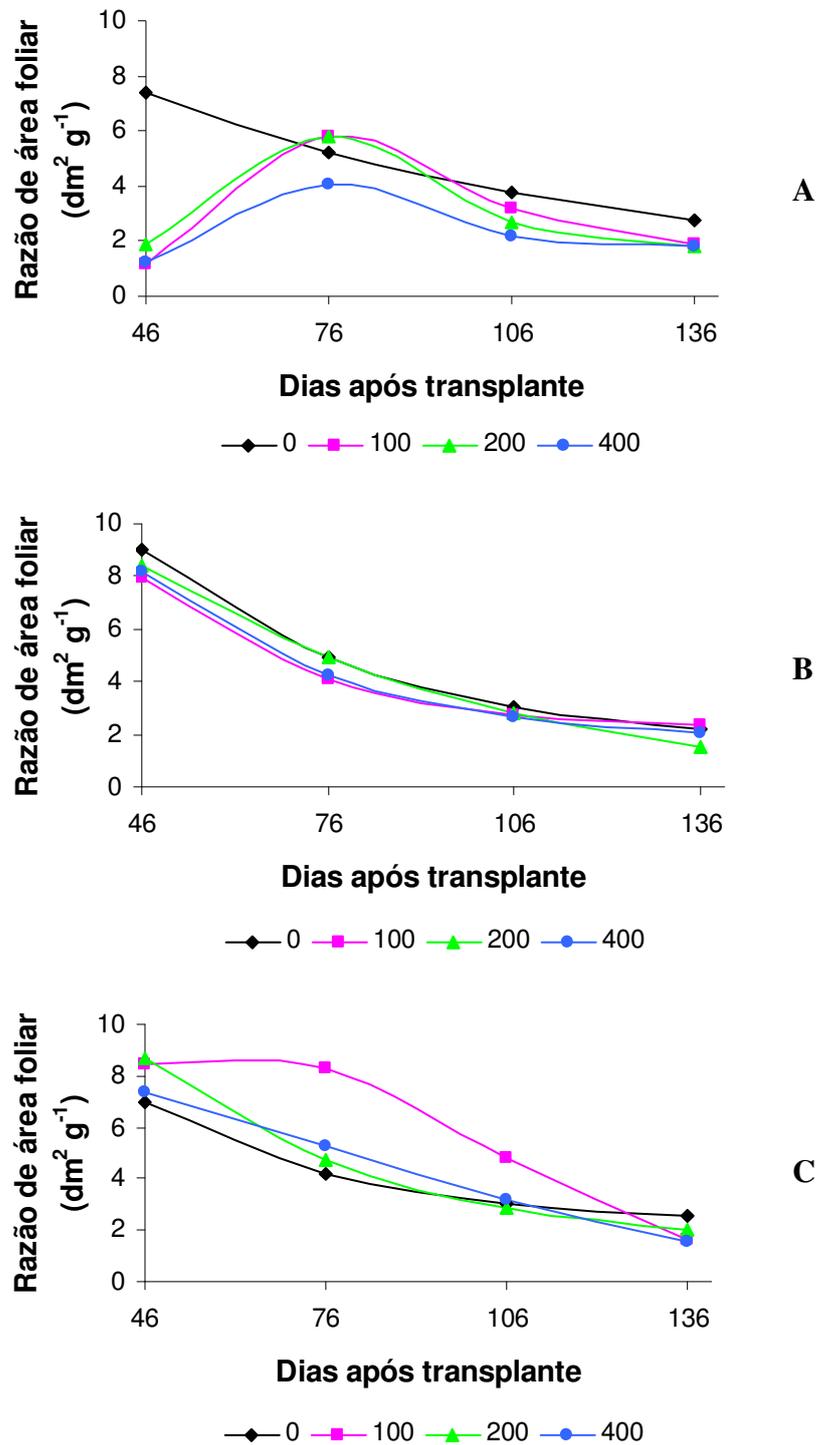


C

**Figura 3.** Matéria seca total, em g, de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em mg L<sup>-1</sup> e submetida à solução nutritiva com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (A), 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (B) e 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

Segundo Benincasa (2003), a RAF expressa a área foliar útil para a fotossíntese, sendo a relação entre a área foliar responsável pela interceptação da energia luminosa e CO<sub>2</sub>, e a matéria seca total, resultado da fotossíntese. Desse modo, com o crescimento da planta, aumenta a interferência das folhas superiores sobre as inferiores, com tendência de diminuir a área foliar útil. No presente estudo, de maneira geral, a variação do nível de cálcio resultou em diferentes respostas das plantas às concentrações do regulador utilizadas. As plantas cultivadas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio apresentaram efeito das doses de ethephon sobre a área foliar útil para a fotossíntese (Figura 4A). As plantas pulverizadas aumentaram a RAF até 76 DAT para diminuí-la a seguir, comportamento diferente daquele apresentado pelas plantas não pulverizadas com ethephon. No entanto, esse aumento da RAF provocada pelo uso do regulador não resultou em diferenças de comportamento dessas plantas no final do período de observação. A redução do cálcio para 80 mg L<sup>-1</sup> impediu respostas das plantas às diferentes doses do regulador e quando houve sua redução para 16 mg L<sup>-1</sup> maior efeito do ethephon no início do ciclo, em especial nas plantas pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> foi observado (Figuras 4B e 4C). No entanto, esta diferença desapareceu no final do período de observação.

A diminuição da RAF observada, de modo geral, ao longo do ciclo, é concordante com os relatos de Stefanini et al. (1998) que, estudando o efeito de reguladores vegetais no desenvolvimento de *Lippia alba*, observaram máxima RAF, na primeira colheita, inclusive nas plantas testemunhas, decrescendo nos períodos seguintes. Esse decréscimo coincide com os resultados de literatura que referem RAF elevada no início do ciclo vegetativo, época em que as plantas investem em área foliar para a captação de luz e CO<sub>2</sub>, decrescendo com a maturação da planta (Ferreira, 1996; Povh, 2004). O comportamento observado neste estudo foi também verificado por Valmorbidia (2003), que ao estudar o desenvolvimento de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação dos níveis de potássio, observou acentuada diminuição da RAF a partir dos 21 dias após o transplante, fase inicial do ciclo em que a RAF apresentou maior valor.

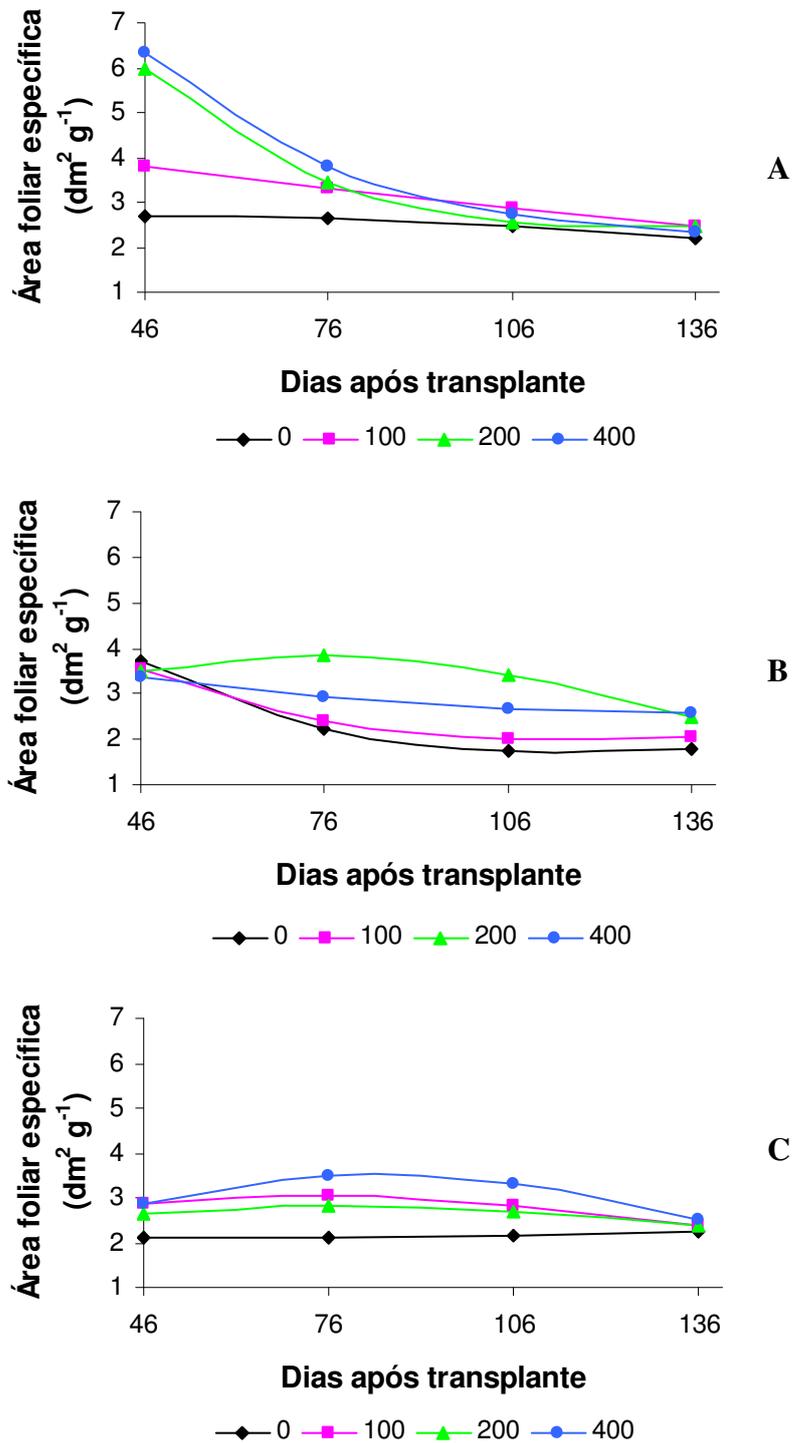


**Figura 4.** Razão de área foliar, em  $\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$ , de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetida à solução nutritiva com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (A),  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (B) e  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

A área foliar específica (AFE) diminuiu ao longo do ciclo nas plantas cultivadas em solução nutritiva com nível completo de cálcio e pulverizadas com 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon. Por outro lado, as plantas não pulverizadas e as pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> do regulador apresentaram discreta variação desse índice (Figura 5A). A redução do cálcio para 80 mg L<sup>-1</sup> na solução e a pulverização com o regulador manteve a AFE mais elevada com discreta redução posterior. Essas plantas, que não apresentaram maiores áreas foliares, resultaram em menores matérias secas de lâminas foliares (Figura 5B). Quando houve redução do cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup>, as plantas pulverizadas com as diferentes doses de ethephon apresentaram AFE mais elevada. Tais plantas além de terem apresentado em parte do ciclo aumento da área foliar, também diminuíram as matérias secas de lâminas foliares. Assim, a utilização do regulador atuou mais provocando expansão da área foliar (Figura 5C). Segundo Benincasa (2003), no início do desenvolvimento, os valores da AFE podem ser maiores, revelando folhas pouco espessas, com pouca matéria seca e área foliar. Com o desenvolvimento das plantas, aumentam-se a área foliar e a matéria seca de lâminas foliares, com a queda dos valores da AFE. A diminuição da AFE ao longo do ciclo promovida pela pulverização de 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon também foi observada por Povh (2004), que aplicou essa mesma dosagem em plantas de *Salvia officinalis*. No entanto, Boaro et al. (1996) observou que este índice no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca) em cultivo hidropônico, com variação do nível de magnésio na solução nº 2 de Hoagland & Arnon (1950), usada no presente estudo, manteve-se praticamente constante ao longo do ciclo de desenvolvimento, o que coincide com o comportamento da menta cultivada com 160 e 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio e não pulverizada com ethephon.

A AFE é expressa pela razão entre a área foliar e a matéria seca de lâminas foliares. A área foliar é um componente morfológico e a massa um componente anatômico de uma espécie vegetal, pois está relacionado à composição interna, ou seja, número e tamanho das células do mesofilo. Infere-se daí, que o inverso da AFE reflete a espessura das folhas (Benincasa, 2003). Ferreira (1996) relata que decréscimo na AFE indica aumento na espessura da folha resultante do aumento e do tamanho do número de células nas plantas.

Resultados semelhantes aos observados nesse estudo, quando as plantas foram cultivadas com redução de cálcio e pulverizadas com ethephon foram verificados por Barreiro et al. (2006) que referiu aumento da AFE quando plantas de *Ocimum basilicum* foram pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon.

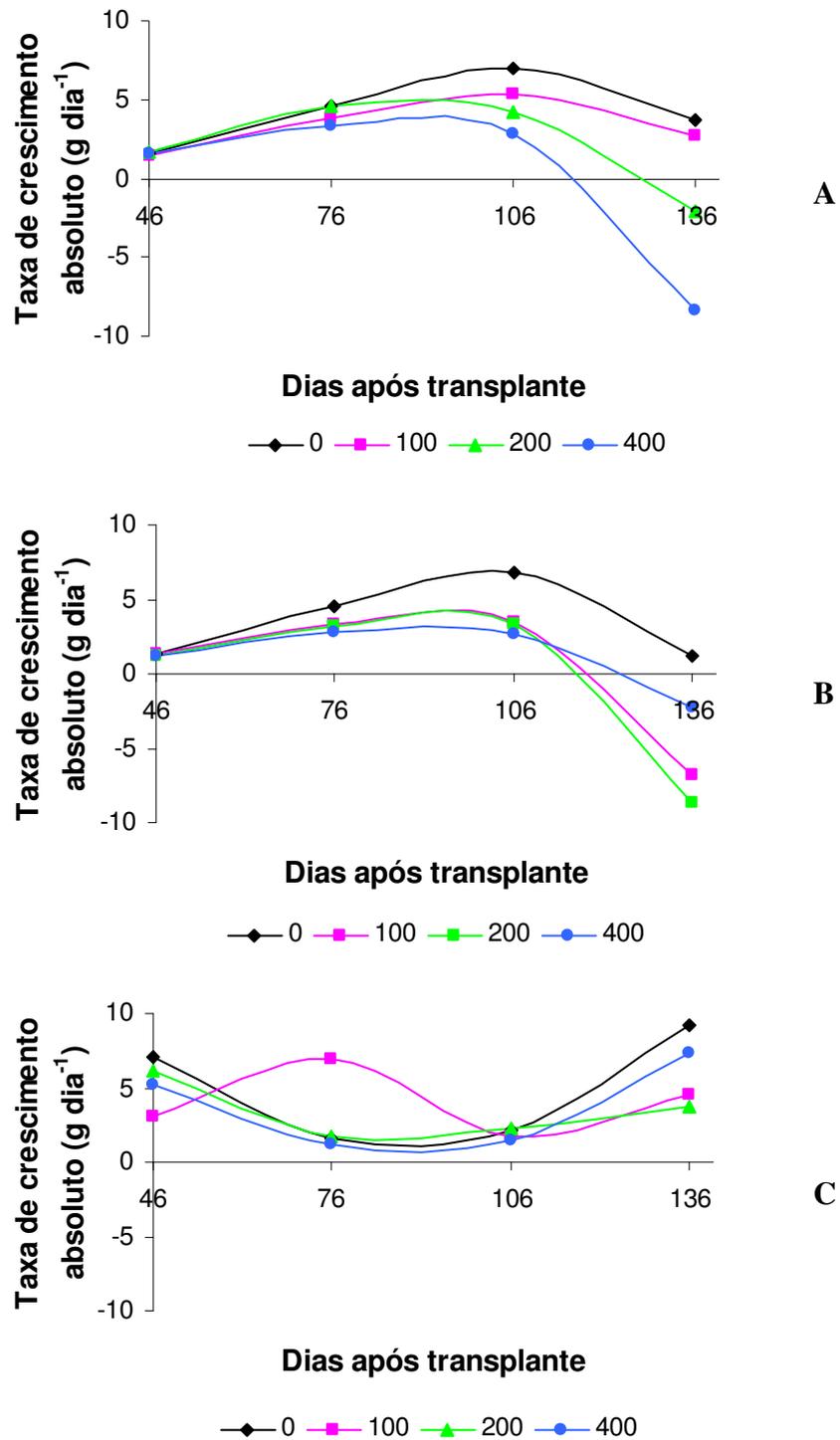


**Figura 5.** Área foliar específica, em  $\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$ , de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetida à solução nutritiva com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (A),  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (B) e  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

A redução do nível de cálcio para  $80 \text{ mg L}^{-1}$  interferiu pouco na velocidade de crescimento (TCA) das plantas, enquanto a redução para  $16 \text{ mg L}^{-1}$ , interferiu com essa taxa. A aplicação de ethephon quando o cálcio foi reduzido a 10% interferiu pouco com a TCA, pois o comportamento das plantas pulverizadas e não pulverizadas foi semelhante, exceto as pulverizadas com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 6C). Nessas plantas, o comportamento foi modificado pela redução do cálcio, já que apresentaram aumento na velocidade de crescimento até 76 DAT e após 106 DAT, o que pode ser explicado por sua rebrota, que deve ter ocorrido devido à morte de ramos mais velhos e secamento apical, nessas condições de deficiência de cálcio. As plantas cultivadas com  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio, apresentaram redução no número de folhas, que se apresentaram menores, cloróticas e com bordas queimadas. Ethephon na dosagem de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  estimulou o crescimento no início do ciclo, que não foi sustentado devido à deficiência de cálcio. A partir dos 106 DAT essas e as demais plantas apresentaram rebrota e aumento da TCA.

Quando as plantas foram cultivadas com  $160$  e  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio, verificou-se que a pulverização do regulador reduziu a velocidade de crescimento, sendo que as plantas cultivadas com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio apresentaram maior redução da velocidade de crescimento na medida em que houve aumento da dose do regulador (Figuras 6A e 6B). A TCA pode ser usada para se ter idéia da velocidade média de crescimento ao longo do período de observação (Benincasa, 2003).

Resultados concordantes com os obtidos neste estudo foram relatados por De Fazio et al. (2005) que, cultivando plantas de hortelã (*Mentha crispa* L.), em solução nutritiva com redução do nível de cálcio de  $200$  para  $60 \text{ mg L}^{-1}$ , até 46 dias após o transplante e para  $20 \text{ mg L}^{-1}$  a seguir (60/20) e para  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , observaram discreta diminuição da TCA.

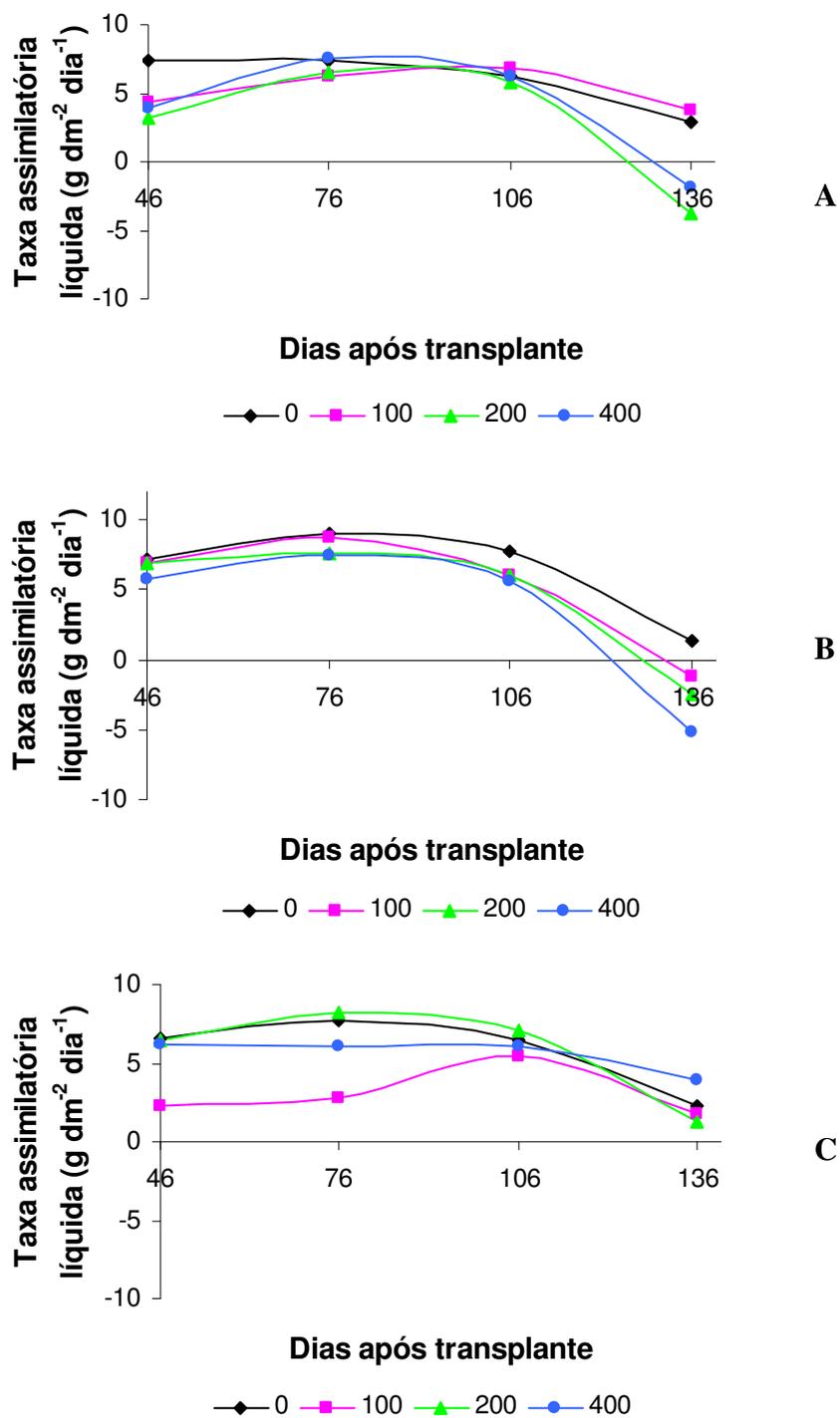


**Figura 6.** Taxa de crescimento absoluto, em g dia<sup>-1</sup>, de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em mg L<sup>-1</sup> e submetida à solução nutritiva com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (A), 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (B) e 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

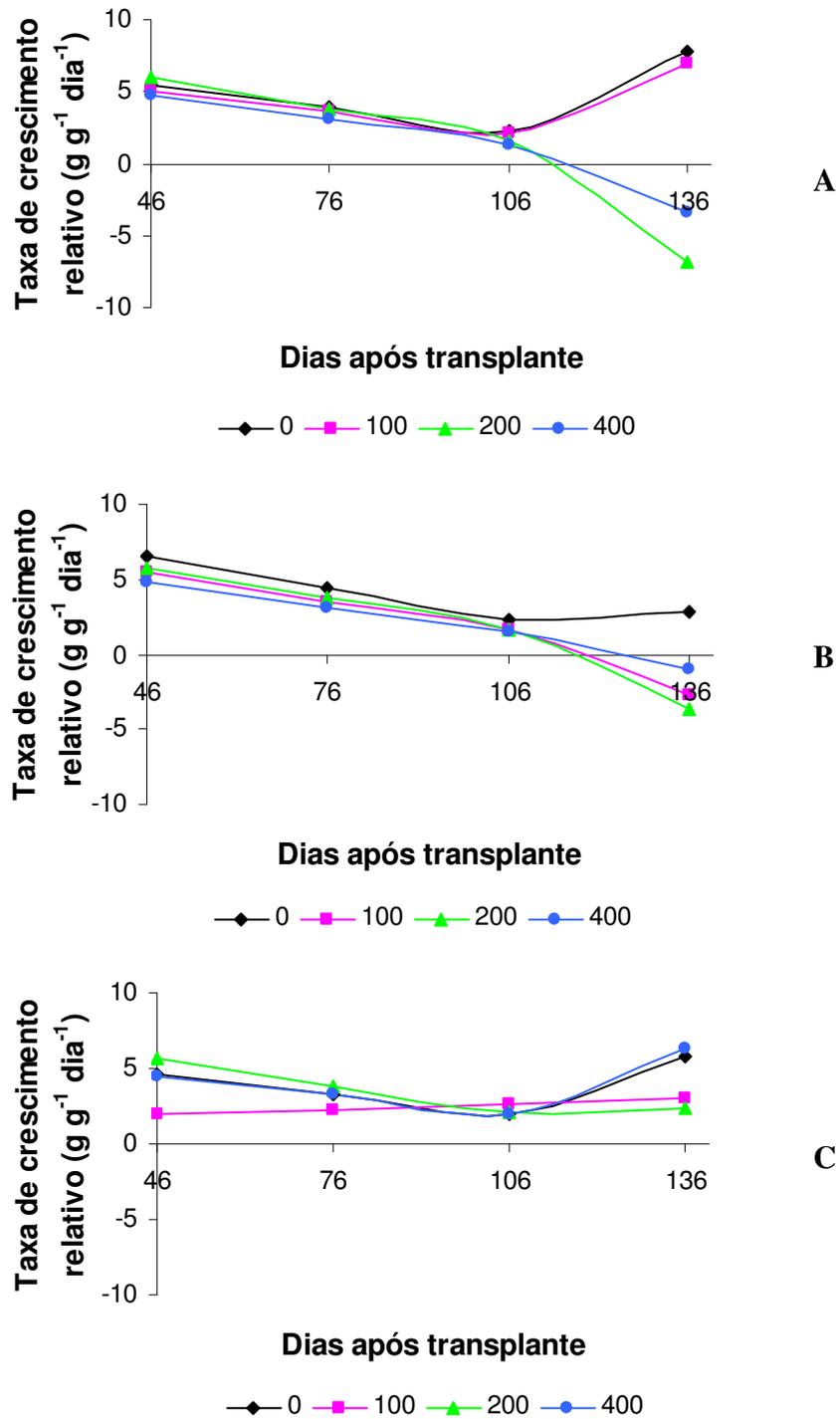
A taxa assimilatória líquida (TAL) foi influenciada pela redução do nível de cálcio na solução nutritiva. Quando o nível de cálcio foi reduzido para 16 mg L<sup>-1</sup>, a atuação do ethephon foi menor, exceção feita às plantas pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup>. Essas plantas, que na redução de cálcio para 16 mg L<sup>-1</sup> apresentaram maior RAF durante o ciclo e maior TCA, ao contrário tiveram a menor eficiência fotossintética (Figura 7C). As plantas cultivadas com 160 e 80 mg L<sup>-1</sup> de cálcio apresentaram maior eficiência fotossintética quando pulverizadas com 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de ethephon (Figuras 7A e 7B). Segundo Milthorpe & Moorby (1974), a TAL comumente diminui com a idade das plantas devido ao sombreamento das folhas inferiores. Assim, sua diminuição sugere crescimento. Essa afirmativa encontra apoio nos registros de Valmorbidia et al. (2006) que atribuiu a diminuição da TAL em *Mentha piperita* L., cultivada com diferentes níveis de potássio, ao aumento da área foliar, responsável pelo maior sombreamento das folhas inferiores. Scavroni (2003), estudando *M. piperita* L. cultivada sob diferentes níveis de biossólido, também observou diminuição da TAL com a idade das plantas. No presente estudo o nível de cálcio igual a 80 mg L<sup>-1</sup> proporcionou maior eficiência fotossintética para as plantas pulverizadas ou não com ethephon (Figura 7B).

Como consequência, a variação do nível de cálcio na solução nutritiva interferiu com a TCR das plantas de menta. Quando as plantas foram nutridas com 160 mg L<sup>-1</sup> de cálcio as plantas não pulverizadas e, as pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon cresceram menos (Figura 8A), apresentando rebrota a partir dos 106 DAT. A redução do cálcio para 80 mg L<sup>-1</sup> resultou em crescimento mais lento das plantas sem pulverização (Figura 8B). Nesse caso, o regulador em suas diferentes doses acelerou o crescimento das plantas, em especial nas pulverizadas com 200 mg L<sup>-1</sup>. As plantas cultivadas com 16 mg L<sup>-1</sup> de cálcio apresentaram menor crescimento e rebrota e as pulverizadas com 100 mg L<sup>-1</sup> de ethephon apesar de terem apresentado maior RAF e maior TCA, tiveram menor TAL e a TCR manteve-se praticamente constante (Figura 8C). Deve ser registrado que a TCR é resultado do produto entre a RAF e a TAL. Assim, essas plantas que aumentaram a área foliar útil para fotossíntese não melhoraram sua eficiência fotossintética, que resultou em TCR constante. Os resultados indicam que o nível de cálcio interferiu menos nessa variável que o regulador em suas várias concentrações. Além disso, o regulador foi mais eficiente nas plantas cultivadas com o maior nível de cálcio, o que pode ser observado pelo decréscimo mais acentuado das curvas correspondentes às maiores doses aplicadas (Figura 8A).

De Fazio et al. (2005) observaram diminuição da TCR ao cultivar plantas de hortelã (*Mentha crispata* L.), em solução nutritiva com redução do nível de cálcio de 200, para 60 mg L<sup>-1</sup>, até 46 dias após o transplante e para 20 mg L<sup>-1</sup> a seguir (60/20) e para 30 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 7.** Taxa assimilatória líquida, em  $\text{g dm}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ , de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetida à solução nutritiva com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (A),  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (B) e  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (C). Médias de quatro repetições.



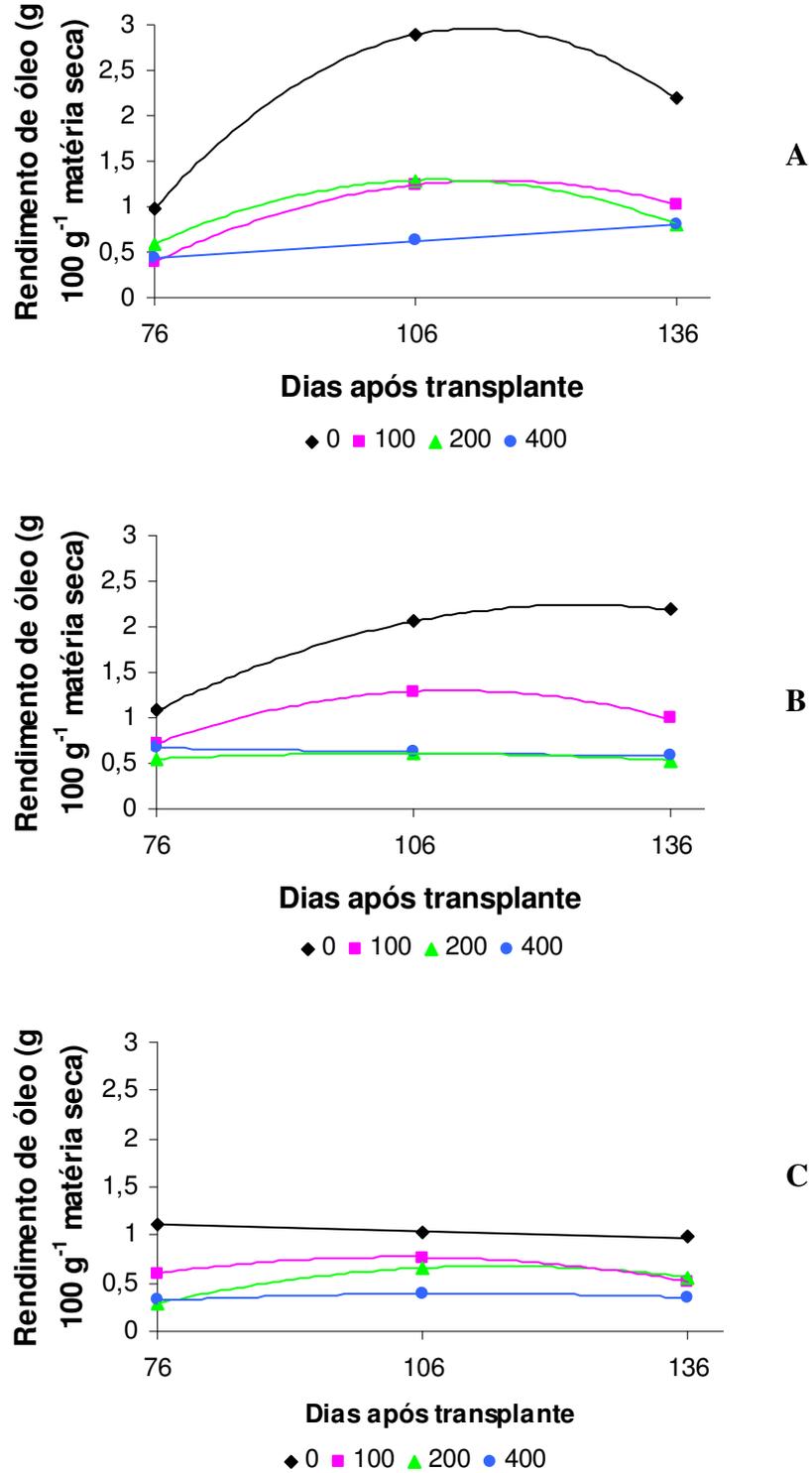
**Figura 8.** Taxa de crescimento relativo, em  $\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$ , de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetida à solução nutritiva com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (A),  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (B) e  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

A redução do nível de cálcio na solução nutritiva também diminuiu o rendimento de óleo essencial nas plantas de menta, de maneira geral, em proporção semelhante àquela que reduziu a matéria seca de lâminas foliares. Nas plantas cultivadas com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio observou-se também que, enquanto a colheita realizada aos 106 dias após o transplante favoreceu o rendimento de óleo essencial, a realizada aos 136 dias, o reduziu. Ainda no que se refere a essas plantas cultivadas com nível completo de cálcio, e com sua redução pode-se observar que o aumento da dose de ethephon, de maneira geral, diminuiu o rendimento de óleo essencial (figuras 9A, 9B e 9C). A diminuição no rendimento de óleo essencial ocorreu, de maneira geral, em consequência da diminuição da matéria seca de lâminas foliares, provocada pela redução do nível de cálcio em associação com o aumento das doses de ethephon. Este estudo, no entanto, avaliou somente o rendimento do óleo essencial, sendo necessário analisar sua composição, para assim, constatar se a redução do cálcio, associada à pulverização de diferentes doses de ethephon, alterou sua qualidade nas plantas de menta. Já quando o cálcio foi reduzido para  $80 \text{ mg L}^{-1}$ , o melhor rendimento de óleo foi observado na última colheita (figura 9B). A redução do cálcio para  $16 \text{ mg L}^{-1}$  manteve em nível praticamente constante o rendimento de óleo (figura 9C).

Os resultados do presente estudo concordam com aqueles verificados por El-Keltawi & Croteau (1986), que verificaram em plantas de *Mentha piperita*, a influência da aplicação de 250, 500 e  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon, concluindo que todas as concentrações resultaram em diminuição na produção de óleo essencial. Povh (2004), estudando plantas de *Salvia officinalis*, observou redução na produção de óleo essencial quando as plantas foram tratadas com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon. No entanto, os resultados obtidos neste estudo discordam dos observados por Srivastava et al. (1998), que estudando o efeito do ethephon no crescimento e rendimento de óleo em *Cymbopogon martinii*, observaram aumento do rendimento de óleo essencial. Esses autores relataram que, o aumento do rendimento de óleo essencial foi devido ao aumento da atividade fotossintética das plantas pulverizadas com ethephon, que resultou em seu maior crescimento e maior rendimento de óleo essencial. Singh et al. (1999), também relataram que plantas de *Mentha spicata* pulverizadas tratadas com  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon apresentaram aumento no teor do óleo essencial. Barreiro (2006) estudando o efeito de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon em plantas de *Ocimum basilicum*, observou, nas inflorescências, aumento na produção do óleo essencial.

No presente estudo, as plantas cultivadas com 80 e  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio e pulverizadas com 200 e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de ethephon, apesar de terem sido as mais eficientes fotossinteticamente e apresentado as maiores TCR, não foram as que apresentaram maior

rendimento de óleo essencial, resultados discordantes daqueles observados por Srivastava et al. (1998), quando avaliaram plantas pulverizadas com ethephon.



**Figura 9.** Rendimento de óleo essencial, em  $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  de matéria seca, de *Mentha piperita* L. pulverizada com diferentes doses de ethephon, em  $\text{mg L}^{-1}$  e submetida à solução nutritiva com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (A),  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (B) e  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio (C). Médias de quatro repetições.

A área foliar, a matéria seca de lâminas foliares e total, assim como os índices fisiológicos, RAF, AFE, TCA, TAL e TCR e o rendimento de óleo essencial de plantas de menta foram influenciados pela redução do nível de cálcio na solução nutritiva. Com exceção da AFE e do rendimento de óleo essencial, que apresentou maiores valores nas plantas cultivadas com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio, as demais variáveis apresentaram melhor comportamento quando as plantas foram cultivadas com  $80 \text{ mg L}^{-1}$ . A maior parte desses índices foi prejudicada quando as plantas foram submetidas a  $16 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio. Assim, pode-se sugerir nível excessivo de cálcio na solução completa. No entanto, sugere-se a avaliação da composição química do óleo essencial para aferir a qualidade quando as plantas foram cultivadas com  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio, uma vez que embora aos 136 DAT essas plantas tenham apresentado adequado rendimento de óleo, ele não atingiu os teores apresentados pelas plantas cultivadas com  $160 \text{ mg L}^{-1}$  de cálcio. As diferentes doses de ethephon aplicadas também influenciaram o desenvolvimento das plantas de menta. A pulverização com 200 e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  do regulador, associada a todos os níveis de cálcio e, em especial, ao menor e igual a  $16 \text{ mg L}^{-1}$ , reduziu o crescimento das plantas e seu rendimento de óleo essencial. Com base nos resultados obtidos, sugere-se que a influência da associação do nível de cálcio com diferentes doses de ethephon, no desenvolvimento e produção de óleo essencial das plantas de menta, possa ter ocorrido devido à relação existente entre a concentração celular deste íon e a biossíntese de etileno, considerando a participação do cálcio na atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, que apresentam importante papel na referida biossíntese (Gallardo et al., 1999; Yang & Poovaiah, 2000). No entanto, estudos futuros deverão ser realizados para a confirmação dessa hipótese.

## **Conclusões**

A redução do cálcio para  $16 \text{ mg L}^{-1}$  interferiu com todos os índices fisiológicos avaliados, prejudicando o desenvolvimento e o rendimento de óleo essencial das plantas.

O nível de cálcio igual a  $80 \text{ mg L}^{-1}$  foi suficiente para o desenvolvimento, mas não garantiu a máxima produção de óleo essencial.

O ethephon prejudicou o desenvolvimento e o rendimento de óleo da menta, em especial quando 200 e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  foram utilizados.

As diferentes doses de ethephon apresentaram maior efeito quando as plantas foram nutridas com os dois maiores níveis de cálcio e iguais a 80 e  $160 \text{ mg L}^{-1}$ .

## Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e ao Prof. Dr. Lin Chau Ming, por disponibilizar o Laboratório de Plantas Medicinais para a extração do óleo essencial.

## Referências

BARREIRO, A.P. Produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função de reguladores vegetais. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BARREIRO, A.P.; SOUZA, F.S.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Análise de crescimento de plantas de manjeriço tratadas com reguladores vegetais. *Bragantia*, Campinas, v.65, n. 4, p. 563-567, 2006.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

BETHKE, P.C.; GILROY, S.; JONES, R.L. Calcium and plant hormone action. In: DAVIES, P.J. **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. 2. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. chap. D5, p. 298-317.

BOARO, C.S.F.; RODRIGUES, F.D.; PEDRAS, J.F.; RODRIGUES, S.D.; DELACHIAVE, M.E.A.; ONO, E.O. Avaliação do crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca) sob diferentes níveis de magnésio. *Biotemas*. v. 9, n. 2, p. 15-28, 1996.

BUENO, M.A.S. **Níveis de fósforo no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Thymus vulgaris* L., cultivado em solução nutritiva**. 2004. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) – Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu.

BUSH, D.S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 95-122, 1995.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H.; MOSQUIM, P.R. de et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais**. Viçosa: Suprema, 2001. 103p.

CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), 2002. 255 p.

CAUSTON, D.R.; VENUS, J. C. **The biometry of plant growth**. London: Edward Arnold, 1981. 307p.

DAVID, E.F.S. **Níveis de fósforo no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva.** 2003. 160f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

DAVID, E.F.S.; BOARO, C.S.F.; MARQUES, M.O.M. Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.* v.8, p. 183-188, 2006.

DE FAZIO, J.L.; BARREIRO, A.P.; FERRARI, T.B.; BONAMIN, F., BOARO, C.S.F. Análise de crescimento de hortelã (*Mentha crispa* L.) submetida a diferentes níveis de cálcio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., CONGRESSO LATINO AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL, 12., 2005, Recife. Anais. Recife, 2005. 1CD-ROM.

EL-KELTAWI, N.E.; CROTEAU, R. Influence of ethephon and daminozid on growth and essential oil content of peppermint and sage. *Phytochemistry, New York,* v. 25, n. 6, p. 1285-1288, 1986.

FERRARI, T.B.; DE FAZIO, J.L.; BARREIRO, A.P.; CAMILLI, L.; BOARO, C.S.F. Desenvolvimento de hortelã (*Mentha crispa* L.) submetida a diferentes níveis de cálcio em solução nutritiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., CONGRESSO LATINO AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL, 12., 2005, Recife. Anais. Recife, 2005. 1CD-ROM.

FERREIRA, E. Ajustamento osmótico e análise de crescimento de plantas de milho (*Zea mays* L.), em função do nível de potássio e estresse hídrico. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

GALLARDO, M.; GÓMEZ-JIMÉNEZ, M.C.; MATILLA, A. Involvement of calcium in ACC-oxidase from *Cicer arietinum* seed embryonic axes. *Phytochemistry, Oxford,* v. 50, p. 373-376, 1999.

GOUTHAM, M.P. 1980. Activity of some essential oils against dermatophytes. In: LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

HEPLER, P.K. Calcium: a central regulator of plant growth and development. *The Plant Cell, Rockville,* v. 17, p. 2142-2155, 2005.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water: culture method for growing plants without soil.** Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32p.

JAIN, R.; CHOWDHRY, L.; CHATTERJEE, C. Influence of calcium on growth, composition and yield of black gram (*Vigna mungo* L.). *Indian Journal of Plant Physiology,* New Delhi, v. 2, n. 3, p. 221-224. 1997.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant systematics: a phylogenetic approach.** Sunderland: Sinauer Associates, 1999. 464p.

KWAK, S.H.; LEE, S.H. The Requirements for Ca<sup>2+</sup>, Protein Phosphorylation, and Dephosphorylation for Ethylene Signal Transduction in *Pisum sativum* L. *Plant Cell Physiology*, v.38, p. 1142-1149, 1997.

LEAL, F.P. **Desenvolvimento, produção e composição de óleo essencial da *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio.** 2001. 148 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa de crescimento. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal.** São Paulo: EDUSP, 1986. v. 1, p. 331-350.

MAIRAPETYAN, S.K. Aromatic plant culture in open – air hidroponics. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n. 502, p.33-36, 1999.

MALAVOLTA, E.; CHAVES, I.; TONIN, G.S.; SOUZA, A.F. Deficiências de macronutrientes na soja (*Glycine max* L. Merrill, var IAC-2). *Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”*, Piracicaba, v.33, p. 471-477, 1976.

MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth.: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C.; SCHEFFER, M.C.; CORREA JUNIOR, C., BARROS, I.B.I.; MATTOS, J.K.A. (Cords.). **Plantas Mediciniais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica.** Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 2, p. 97-125.

MILTHORPE, F.L.; MOORBY, J. Some aspects of overall growth and its modification. In: MILTHORPE, F.L.; MOORBY, J. **An introduction to crop physiology.** Cambridge University Press, London, 1974. 152p.

PORTES, T.A.; CASTRO JÚNIOR, L.G. Análise de crescimento de plantas: Um programa computacional auxiliar. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, v. 3, p. 53-60, 1991.

POVH, J.A. Efeitos de reguladores vegetais no desenvolvimento de plantas de *Salvia officinalis* L. e na produção de óleo essencial. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RABAK, F. The effect of cultural and climatic conditione on the yield and quality of peppermint oil. *Bulletin Plant Industry*, Washington, n. 80, p. 450-454, 1917.

RAMALHO, J. C., REBELO, M. C., SANTOS, M. E., ANTUNES, M. L. & NUNES, M. A. Effects of calcium deficiency on *Coffea arabica*. Nutrient changes and correlation of calcium levels with some photosynthetic parameters. *Plant and Soil*, The Hague, v. 172, n. 1, p. 87-96, 1995.

RODRIGUES, J.D.; RODRIGUES, S.D.; PEDRAS, J.F.; DELACHIAVE, M.E.A.; BOARO, C.S.F.; ONO, E.O. Diferentes níveis de cálcio e o desenvolvimento de plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. CV “COOK”). *Scienci Agriculturae*, Piracicaba, v.50, n.2, p. 166-175, 1993.

RODRIGUEZ, S.J.; CIBES, H.R.; GONZALEZ-IBANES, J. Some nutrient deficiency symptoms displayed by *Dracaena deremensis* “Warneckii” under greenhouse conditions and their subsequent effects on leaf nutrient content. *Journal of Agriculture*. University of Puerto Rico, Puerto Rico, v. 61, p. 406-464, 1977.

ROSOLEM, C.A. Nutrição mineral e adubação da soja. Piracicaba: **POTAFOS**, 1980. p. 80 (POTAFOS. Boletim Técnico, 6).

RUIZ, H.A. Relações molares de macronutrientes em tecidos vegetais como base para a formulação de soluções nutritivas. *Revista Ceres*, v. 44, n. 255, p. 533-546, 1998.

SCAVRONI, J. Desenvolvimento de *Mentha piperita* L. cultivada com diferentes níveis de biossólido: avaliações fisiológicas, bioquímicas e fitoquímicas. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

SHUKLA, A.; FAROOQI, A.H.A. Utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. *Current Research on Medicinal and Aromatic Plants*, Locknow, v. 12, n. 3, p. 152-157, 1990.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa: Arte Livros, 2000. 135p.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G. (Eds). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. p. 394-412.

SINGH, P.; MISRA, A. Influence of giberellin and ethrel on growth, chlorophyll content, protein, enzyme activities and essential monoterpene oil in na efficient genotype of *Mentha spicata* var. MSS5. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, Lucknow, v. 22-23, n. 4A-1A, p. 283-286, 2001.

SINGH, S. Mecanism of action of antiinflammatory effect of fixed oil of *Ocimum basilicum* Linn. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 37, n. 3, p. 248-252, 1999.

SRIVASTAVA, H.K.; MISRA, A.; SATPUTE, G.K. Effects of ethephon on growth and oil yield of palmarosa (*Cymbopogon martinii* Wats.). *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, v. 6, n. 2, p. 1-8, 1998.

STEFANINI, M.B.; RODRIGUES, S.D.; MING. L.C. Efeito do ácido giberélico, ethephon e CCC nos índices da análise de crescimento (AFE, RAF e RMF) em erva-cidreira brasileira (*Lippia alba*). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, v. 1, p. 15-22, 1998.

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

TREWAVAS, A. Le Calcium C'est la vie. Calcim makes waves. *Plant Phisiology*, Oxford, v.118, p.1-6, 1999.

VALMORBIDA, J. **Níveis de potássio em solução nutritiva, desenvolvimento de plantas e a produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L.** 2003. 128 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

VALMORBIDA, J.; BOARO, C.S.F.; MARQUES, M.O.M.; FERRI, A.F. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva em diferentes concentrações de potássio. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. v.8, p. 56-61, 2006.

VIEIRA, E.L.; MONTEIRO, C.A. Hormônios vegetais. In: CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), 2002. 255 p.

YANG, S.F.; HOFFMAN, N.E. Ethylene Biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.35, p. 155-189, 1984.

YANG, T.; POOVAIAH, B.W. An early ethylene up-regulated gene encoding a calmodulin-binding protein involved in plant senescence and death. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 275, n. 49, p. 38467-38473, 2000.

YANG, Z. Signal transducing proteins in plants: an overview. In: VERMA, D.P.S. (Ed.). **Signal transduction in plant growth and development**. New York: Springer-Verlag, 1996. p. 1-37.

ZHOU, X.M.; MACKENZIE, A.F.; MADRAMOOTOO, C.A.; SMITH, D.L. Effects os stem-injected plant growth regulators, with or without sucrose, on grain production, biomass and photosynthetic activity of field-grown corn plants. *Journal of Agronomy and Crop Science*, Belin, v.183, p.103-110, 1999.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O comprimento de parte aérea, em cm, a área foliar, em  $\text{dm}^2$ , a matéria seca de lâminas foliares, de caules mais pecíolos, de raízes e total, em g, os índices fisiológicos razão de área foliar (RAF), em  $\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$ , área foliar específica (AFE), em  $\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$ , taxa de crescimento absoluto (TCA), em  $\text{g dia}^{-1}$ , taxa assimilatória líquida (TAL), em  $\text{g dm}^{-2} \text{dia}^{-1}$  e taxa de crescimento relativo (TCR), em  $\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$ , além do rendimento do óleo essencial, em  $\text{g } 100 \text{g}^{-1}$  de matéria seca das plantas de menta submetidas à variação do nível de cálcio na solução nutritiva (160, 80 e 16  $\text{mg L}^{-1}$ ) e pulverizadas com diferentes doses de ethephon (100, 200 e 400  $\text{mg L}^{-1}$ ) foram influenciados pela redução de cálcio e pela utilização de ethephon, quando as plantas foram avaliadas em colheitas realizadas aos 46, 76, 106 e 136 dias após seu transplante (DAT) para a solução nutritiva.

Quando os diferentes níveis de cálcio foram utilizados, exceto a AFE e o rendimento de óleo essencial, com maiores teores nas plantas cultivadas com o maior nível de cálcio e igual a 160  $\text{mg L}^{-1}$ , as demais variáveis apresentaram melhor comportamento quando as plantas foram cultivadas com 80  $\text{mg L}^{-1}$  de cálcio. Assim, o nível de cálcio igual a 160  $\text{mg L}^{-1}$  na solução completa foi excessivo para as plantas. No entanto, sugere-se a avaliação da composição do óleo essencial para a verificação de prejuízo de sua qualidade quando as plantas foram cultivadas com 80  $\text{mg L}^{-1}$  de cálcio, uma vez que embora aos 136 DAT essas plantas tenham apresentado adequado rendimento de óleo, ele não atingiu os teores apresentados pelas plantas cultivadas com 160  $\text{mg L}^{-1}$  de cálcio. De maneira geral, a redução do nível de cálcio para 16  $\text{mg L}^{-1}$  prejudicou o desenvolvimento e o rendimento de óleo essencial da menta.

O regulador vegetal ethephon nas dosagens de 200 e 400  $\text{mg L}^{-1}$ , associada a todos os níveis de cálcio e, em especial, ao menor e igual a 16  $\text{mg L}^{-1}$ , reduziu todas as variáveis avaliadas, prejudicando o desenvolvimento da menta e o rendimento de seu óleo essencial, principalmente a partir dos 106 DAT.

Com base nos resultados obtidos, sugere-se que a influência da associação do nível de cálcio com diferentes doses de ethephon no desenvolvimento e produção de óleo essencial das plantas de menta, possa ter ocorrido devido à relação existente entre a concentração celular deste íon e a biossíntese de etileno, considerando a participação do cálcio na atividade das enzimas ACC sintase e ACC oxidase, que apresentam importante papel na referida biossíntese (Gallardo et al., 1999; Yang & Poovaiah, 2000). No entanto, estudos futuros deverão ser realizados para a confirmação dessa hipótese.

# **CONCLUSÕES**

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas condições deste estudo, em que plantas de *Mentha piperita* L. foram cultivadas com redução do nível de cálcio e pulverizadas com diferentes doses de ethephon pode-se concluir que:

- ✓ A redução do cálcio para  $16 \text{ mg L}^{-1}$  interferiu com todas as variáveis avaliadas, prejudicando o desenvolvimento e o rendimento de óleo essencial das plantas.
- ✓ O nível de cálcio igual a  $80 \text{ mg L}^{-1}$  foi suficiente para o desenvolvimento, mas não garantiu a máxima produção de óleo essencial.
- ✓ O ethephon prejudicou o desenvolvimento e o rendimento de óleo da menta, em especial quando  $200$  e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  foram utilizados.
- ✓ As diferentes doses de ethephon apresentaram maior efeito quando as plantas foram nutridas com os dois maiores níveis de cálcio e iguais a  $80$  e  $160 \text{ mg L}^{-1}$ .
- ✓ O efeito do cálcio e do ethephon foi melhor observado a partir dos 106 dias após transplante para a solução nutritiva.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M.P. **Contribuição ao estudo das propriedades físico-químicas do óleo da *Mentha arvensis* cultivada no Paraná.** 1966. 98f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ARTECA, R.N. **Plant growth substances: principles and applications.** New York: Chapman & Hall, 1995. 332p.

BARREIRO, A.P. Produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função de reguladores vegetais. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BARREIRO, A.P.; SOUZA, F.S.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Análise de crescimento de plantas de manjeriço tratadas com reguladores vegetais. **Bragantia**, v.65, n. 4, p. 563-567, 2006.

BARROSO, G. **Sistemática de angiospermas do Brasil.** Viçosa: Imprensa da Universidade Federal de Viçosa, 1986. 326p.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas).** Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

BETHKE, P.C.; GILROY, S.; JONES, R.L. Calcium and plant hormone action. In: DAVIES, P.J. **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology.** 2.ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. Chap. D5, p. 298-317.

BHATTACHARJEE, S.K.; DIVAKAR, N.G. Growth, flowering and essential oil content of different species of *Jasminum* as affected by ethrel. **Indian J. Hortic.**, v. 41, n. 1-2, p. 131-136, 1989.

BOARO, C.S.F.; RODRIGUES, F.D.; PEDRAS, J.F.; RODRIGUES, S.D.; DELACHIAVE, M.E.A.; ONO, E.O. Avaliação do crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca) sob diferentes níveis de magnésio. **Biotemas**. v. 9, n. 2, p. 15-28, 1996.

BRADFIELD, E.G.; GUTTRIDGE, C.G. Effects of night-time humidity and nutrient solution concentration on the calcium content of tomato fruit. **Sci. Hortic.**, v. 22, p. 207-217, 1984.

BUENO, M.A.S. **Níveis de fósforo no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Thymus vulgaris* L., cultivado em solução nutritiva.** 2004. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BUSH, D.S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v. 46, p. 95-122, 1995.

BUSH, D.S.; BISWAS, A.K.; JONES, R.L. Hormonal regulation of Ca<sup>2+</sup> transport in the endomembrane system of the barley aleurone. **Planta**, v. 189, p. 507-515, 1993.

CASTRO, H.G.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H.; MOSQUIM, P.R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais**. Viçosa: Suprema, 2001. 103p.

CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), 2002. 255 p.

CAUSTON, D.R.; VENUS, J. C. **The biometry of plant growth**. London: Edward Arnold, 1981. 307p.

CHARLES, D.J.; JOLY, R.J.; SIMON, J.E. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. **Phytochemistry**, v. 29, n.9, p. 2837-2840, 1990.

CLELAND, R.E.; VIRK, S.S.; TAYLOR, D.; BJORKMAN, T. Calcium, cell walls and growth. **Am. Soc. Plant Physiol. Symp. Ser.**, v. 4, p. 9-16, 1990.

COLLIER, G.F.; HUNTINGTON, V.C. The relationship between leaf growth, calcium accumulation and distribution, and tipburn development in field-grown butterhead lettuce. **Sci. Hortic.**, v. 21, p. 123-128, 1983.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981, p. 924-927.

DAVID, E.F.S. **Níveis de fósforo no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva**. 2003. 160f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

DAVID, E.F.S.; BOARO, C.S.F.; MARQUES, M.O.M. Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Rev. Bras. Plantas Med.** v.8, p. 183-188, 2006.

DAVIES, P.J. **Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!**. 3.ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004. 750 p.

DE FAZIO, J.L.; BARREIRO, A.P.; FERRARI, T.B.; BONAMIN, F., BOARO, C.S.F. Análise de crescimento de hortelã (*Mentha crispata* L.) submetida a diferentes níveis de cálcio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., CONGRESSO LATINO AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL, 12., 2005, Recife. **Anais...** Recife, 2005. 1CD-ROM.

EL-KELTAWI, N.E.; CROTEAU, R. Influence of ethephon and daminozid on growth and essential oil content of peppermint and sage. **Phytochemistry**, v. 25, n. 6, p. 1285-1288, 1986.

ELLIS, N.K. Relation of yield of oil from peppermint (*Mentha piperita*) and free menthol content of the oil. **J. Am. Soc. Hortic.**, v. 54, p. 451-454, 1944.

EVANS, D.E.; BRIARS, S.A.; WILLIAMS, L.E. Active calcium transport by plant cell membranes. **J. Exp. Bot.**, v. 42, p.285-303, 1991.

FERRARI, T.B.; DE FAZIO, J.L.; BARREIRO, A.P.; CAMILLI, L.; BOARO, C.S.F. Desenvolvimento de hortelã (*Mentha crispa* L.) submetida a diferentes níveis de cálcio em solução nutritiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., CONGRESSO LATINO AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL, 12., 2005, Recife. **Anais...** Recife, 2005. 1CD-ROM.

FERREIRA, E. Ajustamento osmótico e análise de crescimento de plantas de milho (*Zea mays* L.), em função do nível de potássio e estresse hídrico. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

FURLANI, P.R. **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, v. 168, p. 1-30, 1998.

GALLARDO, M.; GÓMEZ-JIMÉNEZ, M.C.; MATILLA, A. Involvement of calcium in ACC-oxidase from *Cicer arietinum* seed embryonic axes. **Phytochemistry**, v. 50, p. 373-376, 1999.

GERSHENZON, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. **Phytochemistry**, v.18, p. 273-319, 1984.

GOTTLIEB, O.R. Evolução e função de óleos essenciais. In: SIMPÓSIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 1., 1985, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade de São Paulo, 1985. p.175-191.

GOUTHAM, M.P. 1980. Activity of some essential oils against dermatophytes. In: LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

GRATTAN, S.R.; GRIEVES, C.M. Mineral nutrient acquisition and response by plants grown in saline environments. In: PESSADRAKLI, M. (Ed.). **Handbook of plant and crop stress**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 203-206.

HAWKINS, H.J.; LEWIS, O.A. Effect of NaCl salinity, nitrogen form, calcium and potassium concentration on nitrogen uptake and kinetics in *Triticum aestivum* L. cv. Gamtoos. **New Phytol.**, v. 124, p.171-177, 1993.

HEPLER, P.K. Calcium: a central regulator of plant growth and development. **Plant Cell**, v. 17, p. 2142-2155, 2005.

HEYWOOD, V.H. **Flowering plants of the world**. New York: Oxford University Press, 1993. 620p.

HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A.; GOUVÊA, C.F.; BASSO, L.H.M. Ação fisiológica de hormônios vegetais na condição hídrica, metabolismo e nutrição mineral. In: CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), 2002. 255 p.

HILLE, B. **Ionic channels of excitable membranes**. Sunderland: Sinauer Assoc., 1992. 607p.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water:** culture method for growing plants without soil. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32p.

HOWE, H.F.; WESTLEY, L.C. **Ecological relationship of plants and animals.** Oxford: University, 1988. p.29-87.

INSTITUTO CAMPINEIRO DE ENSINO AGRÍCOLA. **Principais culturas – II.** Campinas, 1981. 400p.

JAIN, R.; CHOWDHRY, L.; CHATTERJEE, C. Influence of calcium on growth, composition and yield of black gram (*Vigna mungo* L.). **Indian J. Plant Physiol.**, v. 2, n. 3, p. 221-224. 1997.

JOLY, A.B. **Botânica:** introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993. 777p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant systematics:** a phylogenetic approach. Sunderland: Sinauer Associates, 1999. 464p.

KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v.44, p. 283-307, 1993.

KHAN, N.A.; LONE, N.A. Response of mustard (*Brassica juncea* L.) to applied nitrogen with or without ethrel spray under non-irrigated conditions. **J. Agron. Crop Sci.**, v.184, n.1, p.63-66, 2000.

KRETSINGER, R.H. Why cells must export calcium. In: BRONNER, F. **Intracellular calcium regulation.** New York: Wiley-Liss, 1990. p. 439-457.

KWAK, S.H.; LEE, S.H. The Requirements for Ca<sup>2+</sup>, Protein Phosphorylation, and Dephosphorylation for Ethylene Signal Transduction in *Pisum sativum* L. **Plant Cell Physiol.**, v.38, p. 1142-1149, 1997.

LEAL, F.P. **Desenvolvimento, produção e composição de óleo essencial da *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio.** 2001. 148 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

LOEWENFELD, C.; BACK, F. **Guia de las hierbas y especias.** Barcelona: Ediciones Omega, Casanova, 1980. p. 213-215.

LOPES, A.S. **Manual internacional de fertilidade do solo.** 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1998. 177p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil:** nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa de crescimento. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal.** São Paulo: EDUSP, 1986. v. 1, p. 331-350.

MAIRAPETYAN, S.K. Aromatic plant culture in open – air hidroponics. **Acta Hortic.**, Wageningen, n. 502, p.33-36, 1999.

MALAVOLTA, G. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251p.

MALAVOLTA, E.; CHAVES, I.; TONIN, G.S.; SOUZA, A.F. Deficiências de macronutrientes na soja (*Glycine max* L. Merrill, var IAC-2) **An. Esc. Sup. Agric. “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v.33, p. 471-477, 1976.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed.London: Academic Press, 1995. 902 p.

MARTINS, E.R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth.: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L.C.; SCHEFFER, M.C.; CORREA JUNIOR, C.; BARROS, I.B.I.; MATTOS, J.K.A (Coords.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, 1998. v. 2, p. 97-125.

MATOO, A.K.; SUTTLE, J.C. **The plant hormone ethylene**. Boca Raton: CRC Press, 1991. 337p.

MILLAWAY, R.M.; WIERSHOLM, L. Calcium and metabolic disorders. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v. 10, n. 1-2, p. 1-28, 1979.

MILTHORPE, F.L.; MOORBY, J. Some aspects of overall growth and its modification. In: MILTHORPE, F.L.; MOORBY, J. **An introduction to crop physiology**. Cambridge University Press, London, 1974. 152p.

MISRA, A. Ultrastructural changes in mesophyll chloroplast of japonese mint (*Mentha arvensis* L.) under the disorder of iron nutrition. **Photosynthetica (Prague)**, v. 24, n. 1, p. 163-167, 1990.

MOLLER, I.M.; JOHNSTON, S.P.; PALMER, J.M. A specific role for Ca<sup>2+</sup> in the oxidation of exogenous NADH by Jerusalem-artichoke (*Helianthus tuberosus*) mitochondria. **Biochemistry**, v. 194, p. 487-495, 1981.

NICKELL, L.G. **Plant growth regulators agricultural uses**. Berlin: Springer, 1982. 173p.

ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 423p.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura. Departamento de Economia Rural. **Aspectos da cultura da menta no Paraná**. Curitiba, 1976. 39p.

PATRA, D.D.; ANWAR, M. Integrated nutrient management and waste recycling for restoring soil fertility and productivity in Japanese mint and mustard sequence in Uttar Pradesh, India. **Agric. Ecosys. Environ.**, v. 80, n.3, 267-275, 2000.

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

PICCHI, D.G.; SACRAMENTO, L.V.S.; ALMEIDA, A.C.S. Cultivo hidropônico de hortelã: morfologia radicular em função de níveis de cálcio na solução nutritiva. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 5., 2002, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. 2002. p.5.

PORTES, T.A.; CASTRO JÚNIOR, L.G. Análise de crescimento de plantas: Um programa computacional auxiliar. **Rev. Bras. Fisiol.**, v. 3, p. 53-60, 1991.

POVH, J.A. Efeitos de reguladores vegetais no desenvolvimento de plantas de *Salvia officinalis* L. e na produção de óleo essencial. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RABAK, F. The effect of cultural and climatic conditione on the yield and quality of peppermint oil. **Bull. Plant Ind.**, Washington, n. 80, p. 450-454, 1917.

RAMALHO, J.C.; REBELO, M.C.; SANTOS, M.E.; ANTUNES, M.L.; NUNES, M.A. Effects of calcium deficiency on *Coffea arabica*. Nutrient changes and correlation of calcium levels with some photosynthetic parameters. **Plant Soil**, v. 172, n. 1, p. 87-96, 1995.

RENGEL, Z. Role of calcium in aluminium toxicity. **New Phytol.**, v. 121, p.499-513, 1992.

RODRIGUES. J.D. Efeito da relação  $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$  e concentrações de K na solução nutritiva sobre o crescimento de menta (*Mentha piperita* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42., 2002, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Sociedade de Olericultura do Brasil, 2002. 1 CD-ROM.

RODRIGUES, J.D.; RODRIGUES, S.D.; PEDRAS, J.F.; DELACHIAVE, M.E.A.; BOARO, C.S.F.; ONO, E.O. Diferentes níveis de cálcio e o desenvolvimento de plantas de estilosantes (*Stylosanthes guyanensis* (AUBL.) SW. CV “COOK”). **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.50, n.2, p. 166-175, 1993.

RODRIGUEZ, S.J.; CIBES, H.R.; GONZALEZ-IBANES, J. Some nutrient deficiency symptomes displayed by *Dracaena deremensis* “Warneckii” under greenhouse conditions and their subsequent effects on leaf nutrient content. **J. Agric. Univ. Puerto Rico**, Puerto Rico, v. 61, p. 406-464, 1977.

ROSOLEM, C.A. Nutrição mineral e adubação da soja. Piracicaba: **POTAFOS**, 1980. p. 80 (POTAFOS. Boletim Técnico, 6).

RUIZ, H.A. Relações molares de macronutrientes em tecidos vegetais como base para a formulação de soluções nutritivas. **Revista Ceres**, v. 44, n. 255, p. 533-546, 1998.

SALISBURY, L.Y.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. 4.ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682p.

SANTOS *et al.* Diferentes concentrações de solução nutritiva para a cultura de alfavaca (*Ocimum basilicum*) em sistema de cultivo hidropônico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42., 2002, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Sociedade de Olericultura do Brasil, 2002. 1 CD-ROM.

SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathol.**, v.1, n.3, p. 231-233, 1975.

SCORA, R.W.; CHANG, A.C. Essential oil quality and heavy metal concentrations of peppermint grown on a municipal sludge-amended soil. **J. Environ. Qual.**, v.26, n.4, 975-979, 1997.

SCAVRONI, J. Desenvolvimento de *Mentha piperita* L. cultivada com diferentes níveis de biossólido: avaliações fisiológicas, bioquímicas e fitoquímicas. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

SHUKLA, A.; FAROOQI, A.H.A. Utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. **Curr. Res. Med. Aromat. Plants**, v. 12, n. 3, p. 152-157, 1990.

SILVA, F., CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais.** Viçosa: Arte Livros, 2000. 135p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre: Ed. da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Ed. da Universidade Federal de Santa Catarina, 1999. 821 p.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. p. 394-412.

SINGH, P.; MISRA, A. Influence of giberellin and ethrel on growth, chlorophyll content, protein, enzyme activities and essential monoterpene oil in a efficient genotype of *Mentha spicata* var. MSS5. **J. Med. Aromat. Plant Sci.**, v. 22-23, n. 4A-1A, p. 283-286, 2001.

SINGH, P.; SRIVASTAVA, N.K.; MISRA, A.; SHARMA, S. Influence of ethrel and gibberellic acid on carbon metabolism, growth, and essential oil accumulation in spearmint (*Mentha spicata*). **Photosynthetica**, v. 36, n. 4, p. 509-517, 1999.

SINGH, S. Mecanism of action of antiinflammatory effect of fixed oil of *Ocimum basilicum* Linn. **Indian J. Exp. Biol.**, v. 37, n. 3, p. 248-252, 1999.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

SRIVASTAVA, H.K.; MISRA, A.; SATPUTE, G.K. Effects of ethephon on growth and oil yield of palmarosa (*Cymbopogon martinii* Wats.). **J. Herbs, Spices Med. Plants**, v. 6, n. 2, p. 1-8, 1998.

STEFANINI, M.B.; RODRIGUES, S.D.; MING, L.C. Efeito do ácido giberélico, ethephon e CCC nos índices da análise de crescimento (AFE, RAF e RMF) em erva-cidreira brasileira (*Lippia alba*). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 1, p. 15-22, 1998.

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

TAMARI, G.; PAPPAS, L.; ZERED, T.; BOROCHOV, A. Effects of ethrel and gibberellin on impatiens plants. **Sci. Hortic.**, v. 76, n.1-2, p.29-35, 1998.

TEIXEIRA, N.T. **Hidroponia**: uma alternativa para pequenas áreas. Porto Alegre: Livraria e Editora Agropecuária, 1996. 86p.

TOPALOV, V.; ZHELYAZKOV, V. Effect of harvesting on the yield of fresh material, essential oil, and planting material from *Mentha piperita* L. and *Mentha arvensis* L.. **Herba Hung.**, v. 50, p. 60-67, 1991.

TREWAVAS, A. Le calcium c'est la vie. Calcium makes waves. **Plant Physiol.**, v.118, p.1-6, 1999.

TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBERTS, J.E. **Pharmacognosy**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988, 519p.

VALMORBIDA, J. **Níveis de potássio em solução nutritiva, desenvolvimento de plantas e a produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L.**. 2003. 128 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

VALMORBIDA, J.; BOARO, C.S.F.; MARQUES, M.O.M.; FERRI, A.F. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva em diferentes concentrações de potássio. **Rev. Bras. Plantas Med.** v.8, p. 56-61, 2006.

VIEIRA, E.L.; MONTEIRO, C.A. Hormônios vegetais. In: CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá (Eduem), 2002. 255 p.

YANG, S.F.; HOFFMAN, N.E. Ethylene Biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annu. Rev. Plant. Physiol.**, v.35, p. 155-189, 1984.

YANG, T.; POOVAIAH, B.W. An early ethylene up-regulated gene encoding a calmodulin-binding protein involved in plant senescence and death. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 49, p. 38467-38473, 2000.

YANG, Z. Signal transducing proteins in plants: an overview. In: VERMA, D.P.S. (Ed.). **Signal transduction in plant growth and development**. New York: Springer-Verlag, 1996. p. 1-37.

ZHOU, X.M.; MACKENZIE, A.F.; MADRAMOOTOO, C.A.; SMITH, D.L. Effects on stem-injected plant growth regulators, with or without sucrose, on grain production, biomass and photosynthetic activity of field-grown corn plants. **J. Agron. Crop Sci.**, Belin, v.183, p.103-110, 1999.

# APÊNDICES

**Tabela 1.** Comprimento de parte aérea (cm) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de Ca <sup>2+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Dose de ethephon (mg L <sup>-1</sup> )	Colheitas (dias após o transplante)			
		1 <sup>a</sup> (46)	2 <sup>a</sup> (76)	3 <sup>a</sup> (106)	4 <sup>a</sup> (136)
160	0	89,0	153,0	183,3	183,0
	100	103,0	158,0	178,0	191,0
	200	78,9	170,3	178,3	196,0
	400	95,4	147,6	167,0	173,3
80	0	82,6	150,0	172,6	193,3
	100	96,3	142,3	161,0	205,6
	200	81,0	162,5	159,0	173,3
	400	99,0	151,0	163,3	174,3
16	0	62,8	103,6	119,6	131,0
	100	77,5	126,0	107,3	145,6
	200	62,0	107,0	115,0	140,6
	400	66,0	110,6	106,0	124,0

**Tabela 2.** Área foliar ( $\text{dm}^2$ ) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de $\text{Ca}^{2+}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Dose de ethephon ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Colheitas (dias após o transplante)			
		1ª (46)	2ª (76)	3ª (106)	4ª (136)
160	0	21,0	64,3	106,1	132,5
	100	31,1	72,9	65,9	74,9
	200	51,5	75,8	67,6	57,2
	400	39,6	48,6	40,5	45,2
80	0	16,9	61,6	72,3	99,0
	100	18,1	47,2	46,2	63,3
	200	16,5	49,1	47,0	37,2
	400	20,3	45,1	38,6	47,4
16	0	10,6	21,1	32,7	40,2
	100	14,1	23,7	33,0	24,1
	200	9,2	23,6	28,7	31,8
	400	8,1	21,4	22,6	19,0

**Tabela 3.** Matéria seca de lâminas foliares (g) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de Ca <sup>2+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Dose de ethephon (mg L <sup>-1</sup> )	Colheitas (dias após o transplante)			
		1 <sup>a</sup> (46)	2 <sup>a</sup> (76)	3 <sup>a</sup> (106)	4 <sup>a</sup> (136)
160	0	8,3	20,1	52,5	55,9
	100	8,5	19,9	25,6	29,4
	200	8,4	23,6	24,7	23,7
	400	6,0	14,5	13,1	20,1
80	0	4,7	25,6	45,4	54,2
	100	5,0	21,3	21,6	31,8
	200	4,3	16,7	10,6	16,4
	400	6,2	14,5	15,4	18,0
16	0	4,6	13,0	11,8	19,5
	100	4,9	7,8	11,7	10,2
	200	3,4	8,9	10,0	13,7
	400	2,8	6,2	6,8	7,6

**Tabela 4.** Matéria seca de caules mais pecíolos (g) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de Ca <sup>2+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Dose de ethephon (mg L <sup>-1</sup> )	Colheitas (dias após o transplante)			
		1 <sup>a</sup> (46)	2 <sup>a</sup> (76)	3 <sup>a</sup> (106)	4 <sup>a</sup> (136)
160	0	15,3	62,0	173,6	303,5
	100	13,5	81,5	158,8	301,8
	200	15,9	82,6	158,1	234,1
	400	13,0	91,3	131,7	199,4
80	0	9,9	71,5	122,7	266,4
	100	11,1	69,1	112,0	198,1
	200	11,3	62,8	115,8	174,0
	400	13,4	54,7	115,4	168,8
16	0	6,2	32,2	45,1	94,2
	100	7,1	20,7	35,2	90,9
	200	6,3	34,3	50,8	108,0
	400	6,0	23,9	50,9	76,0

**Tabela 5.** Matéria seca de raízes (g) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de Ca <sup>2+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Dose de ethephon (mg L <sup>-1</sup> )	Colheitas (dias após o transplante)			
		1 <sup>a</sup> (46)	2 <sup>a</sup> (76)	3 <sup>a</sup> (106)	4 <sup>a</sup> (136)
160	0	5,1	30,2	61,8	111,1
	100	8,0	26,6	39,0	72,0
	200	9,8	33,3	32,9	62,5
	400	10,1	17,3	32,7	56,6
80	0	4,6	16,7	53,7	113,6
	100	6,8	30,3	44,3	56,2
	200	4,8	22,6	24,7	50,4
	400	6,0	21,8	39,3	44,9
16	0	4,2	16,1	29,7	57,9
	100	4,6	7,3	15,5	45,5
	200	3,0	14,1	26,8	40,9
	400	3,5	11,6	19,0	28,5

**Tabela 6.** Matéria seca total (g) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de Ca <sup>2+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Dose de ethephon (mg L <sup>-1</sup> )	Colheitas (dias após o transplante)			
		1 <sup>a</sup> (46)	2 <sup>a</sup> (76)	3 <sup>a</sup> (106)	4 <sup>a</sup> (136)
160	0	28,7	121,2	288,0	479,7
	100	27,2	124,2	210,8	403,2
	200	27,0	143,4	234,0	326,9
	400	31,0	132,4	168,7	259,8
80	0	18,7	127,4	232,8	456,5
	100	22,9	113,1	172,9	270,0
	200	19,4	102,1	164,1	251,3
	400	25,7	93,9	162,0	222,5
16	0	14,1	62,8	86,6	171,6
	100	16,6	28,8	68,1	146,6
	200	10,1	57,3	87,6	168,0
	400	11,3	37,7	76,7	117,4

**Tabela 7.** Rendimento de óleo essencial ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  de massa seca) de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com variação do nível de cálcio, associada à aplicação de diferentes doses de ethephon, nas várias colheitas realizadas entre novembro de 2005 e abril de 2006.

Nível de $\text{Ca}^{2+}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Dose de ethephon ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Colheitas (dias após o transplante)		
		2 <sup>a</sup> (76)	3 <sup>a</sup> (106)	4 <sup>a</sup> (136)
160	0	0,98	2,89	2,19
	100	0,39	1,25	1,04
	200	0,59	1,29	0,81
	400	0,44	0,63	0,80
80	0	1,08	2,06	2,19
	100	0,73	1,30	1,00
	200	0,55	0,61	0,53
	400	0,67	0,62	0,59
16	0	1,12	1,03	0,99
	100	0,60	0,77	0,52
	200	0,29	0,66	0,56
	400	0,32	0,39	0,35