

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATO DE *Leonurus sibiricus* L. EM
Mentha piperita L.. DESENVOLVIMENTO, TROCAS GASOSAS E
METABÓLITOS DO ÓLEO ESSENCIAL**

JENNIFER BÚFALO

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP-Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU – SP
FEVEREIRO – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATO DE *Leonurus sibiricus* L. EM
Mentha piperita L.. DESENVOLVIMENTO, TROCAS GASOSAS E
METABÓLITOS DO ÓLEO ESSENCIAL**

JENNIFER BÚFALO

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Sílvia Fernandes Boaro

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP-Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU – SP
FEVEREIRO – 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B929e Búfalo, Jennifer, 1983-
Efeito alelopático de extrato de *Leonurus sibiricus* L. em *Mentha piperita* L.. Desenvolvimento, trocas gasosas e metabólitos do óleo essencial. / Jennifer Búfalo. - Botucatu : [s.n.], 2011

xiii, 105 f. : gráfs., tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011
Orientador: Carmen Sílvia Fernandes Boaro
Inclui bibliografia

1. Plantas medicinais. 2. Alelopatia. 3. Fotossíntese. 4. Análise de crescimento. I. Boaro, Carmen Sílvia Fernandes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

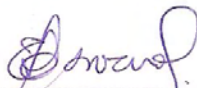
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: "EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATO DE Leonurus sibiricus L.
EM Mentha piperita L.. DESENVOLVIMENTO, TROCAS GASO-
SAS E METABÓLITOS DO ÓLEO ESSENCIAL".**

ALUNA: JENNIFER BÚFALO

ORIENTADORA: PROFª DRª CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

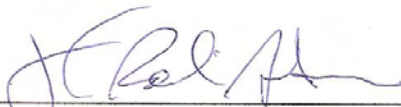
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROFª DRª CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO



PROFª DRª MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES



PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA

Data da Realização: 21 de fevereiro de 2011.

A Deus,

Por se fazer presente em minha vida em todos os momentos, de modo especial naqueles em que as dificuldades surgiram em meu caminho, permitindo-me superá-las.

As pessoas fundamentais em minha vida, que sempre acreditaram em mim, sonharam comigo e me ajudaram a transformar meus objetivos em realidade...

Dedico

Meus pais, Vital e Maria de Lourdes

Meus maiores exemplo de vida,

As minhas tias Lilian e Maria Eliza e

As minhas irmãs, Michelle e Graziela.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agronômicas e ao Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista – Júlio de Mesquita Filho.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Carmen Sílvia Fernandes Boaro que sempre acreditou em minha capacidade de aprendizagem, por me ensinar o que é ser pesquisadora, pela integridade de caráter científico e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Rolim de Almeida, pela co-orientação e compreensão, por seu tempo dispendido que desde o início deste trabalho esteve junto contribuindo com seus ensinamentos.

À Profa. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques, pelos ensinamentos e por permitir o uso do laboratório e de materiais para a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ari Fernandes Júnior, por permitir o uso do laboratório para o preparo do extrato de *Leonurus sibiricus*.

Ao Prof. Dr. Wagner Vilegas pelo apoio durante a realização do preparo do extrato de *Leonurus sibiricus*.

A Profa. Dra. Martha Maria Mischán, pela orientação durante as análises estatísticas.

As minhas queridas irmãs Michelle e Graziela por me encorajar em mais uma etapa da minha vida, em especial à Mi, por conviver mais essa etapa ao meu lado e compartilhar todos os momentos comigo.

A todos os meus amigos do curso de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Agronômicas, em especial a Almecina Balbino, Amanda Amaro, Ana Claudia Macedo, Ana Maria Ramos, Camila Abrahão, Débora Rodrigues Buso, Douglas Kohatsu, Elisa Adriano, Humberto Sampaio, Felipe Campaner Palangana, Gabriela Gonçalves, João Paulo Tadeu Dias, Maria Augusta Tremocoldi, Maria Izabela Ferreira, Milena Galhardo Borguini, Rosangela Ferreira, Taíce Gonçalves de Oliveira, William Takata.

Aos amigos da Botânica: Daniel Baron, Jaqueline Corsato, Juliana De Fazio, Juliana Gimenez, Leonardo César Ferreira, Valdir Zucarelli, William Brambilla.

As amigas do Laboratório de Produtos Naturais do Centro P&D de Recursos Genéticos Vegetais, Lenita Haber, Maria Aparecida, Mônica Tiho, Roselaine Facanali, Talita Lima, pela disponibilidade, pelo apoio e amizade, e pelo auxílio na realização das análises fitoquímicas.

À todos os docentes e funcionários do departamento de Produção Vegetal – Horticultura, Departamento de Botânica, Seção de Pós- Graduação e Biblioteca pela atenção e disponibilidade em ajudar.

Agradeço a todas as pessoas que me apoiaram, incentivaram e me ajudaram na concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	X
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS.....	8
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
7. CONCLUSÃO.....	89
8. REFERÊNCIAS.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Análise de variância e comparação entre médias de comprimento de parte aérea, em cm, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.....	33
2	Análise de variância e comparação entre médias de área foliar, em dm ² , de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.....	35
3	Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de lâminas foliares, em g, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.....	37
4	Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de caule mais pecíolos, em g, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.....	38
5	Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de raízes, em g, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.....	41
6	Análise de variância e comparação entre médias de massa seca total, em g, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.....	43
7	Temperatura, nível de CO ₂ e umidade relativa do ar durante avaliações das trocas gasosas, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante....	55
8	Análise de variância e comparação entre médias da assimilação de CO ₂ (A), de <i>Mentha piperita</i> L., cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	60
9	Análise de variância e comparação entre médias da transpiração (E), de <i>Mentha piperita</i> L., cultivada em solução nutritiva na ausência e presença	

	de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	62
10	Análise de variância e comparação entre médias da concentração interna de CO ₂ (Ci), de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	64
11	Análise de variância e comparação entre médias da condutância estomática (g _s) de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	66
12	Composição do óleo essencial (%), de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações. Médias das colheitas realizadas aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	69
13	Análise de variância e comparação entre médias de mentol (%) no óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	74
14	Análise de variância e comparação entre médias de mentona (%) no óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	76
15	Análise de variância e comparação entre médias de mentofurano (%) no óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	78
16	Análise de variância e comparação entre médias de acetato de mentila (%) no óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	80
17	Compostos (%) presentes no óleo essencial de <i>M. piperita</i> cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de <i>L. sibiricus</i> , em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Vias metabólicas de síntese de fenilpropanóides e terpenos a partir da glicose.....	10
2	Vista geral de plantas de <i>Leonurus sibiricus</i> . Botucatu - SP, 2010.....	21
3	Plantas de <i>M. piperita</i> cultivadas em canteiros no Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu SP. Botucatu - SP, 2010.....	22
4	Estacas de <i>M. piperita</i> para enraizamento em badeiras de poliestireno expandido. Botucatu - SP, 2010.....	23
5	Cultivo de <i>Mentha piperita</i> L. em solução nutritiva com presença e ausência de extrato metanólico de <i>L. sibiricus</i> . Plantas aos 15 dias após transplante DAT (A); aos 30 DAT (B); aos 53 DAT (C) e 91 DAT (D). Botucatu - SP, 2010.....	25
6	Comprimento de parte aérea de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	34
7	Área foliar de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	36
8	Massa seca de lâminas foliares de <i>Mentha piperita</i> L. em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	37
9	Massa seca de caule mais pecíolos de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	39
10	Massa seca de raízes de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	41
11	Massa seca total de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na	

	ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	44
12	Razão de área foliar de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	45
13	Razão de massa foliar de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	46
14	Área foliar específica de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	48
15	Taxa assimilatória líquida de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	49
16	Taxa de crescimento relativo de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	51
17	Distribuição de massa seca para lâminas foliares de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	52
18	Distribuição de massa seca para caule mais pecíolos de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	53
19	Distribuição de massa seca para raízes de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.....	54

20	Temperatura do ar (°C) durante avaliação de trocas gasosas de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, no período das 8:00 às 16:00 horas, aos 103 DAT.....	55
21	Umidade relativa do ar (UR %) durante avaliação de trocas gasosas de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, no período das 8:00 às 16:00 horas, aos 103 DAT.....	56
22	Trocas gasosas de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , aos 103 DAT. A: Taxa de assimilação de CO ₂ (A, µmol m ⁻² s ⁻¹); B: Condutância estomática (g _s , mol m ⁻² s ⁻¹); C: Taxa de transpiração (E, mmol m ⁻² s ⁻¹); D: Eficiência do uso da água (EUA, µmol CO ₂ (mmol H ₂ O) ⁻¹); E: Concentração interna de CO ₂ na folha (C _i , µmol mol ⁻¹).....	58
23	Assimilação de CO ₂ (A), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	60
24	Transpiração (E), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	63
25	Concentração interna de CO ₂ (C _i), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	64
26	Condutância estomática (g _s), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.....	66
27	Cromatograma de Íons Totais (CG-EM) e composição das substâncias majoritárias presente no óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva com 50 mg L ⁻¹ de metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., aos 94 DAT.....	70
28	Biossíntese dos constituintes do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> . Enzimas da rota: 1- limoneno sintase; 2- limoneno-3-hidroxilase; 3- <i>trans</i> -	

	isopiperitenol desidrogenase; 4- <i>trans</i> -isopiperitona redutase; 5- <i>cis</i> -isopulegona isomerase; 6- pulegona redutase; 7- <i>neo</i> -mentol redutase; 8- mentona redutase; 9- mentofurano sintase; 10- pulegona redutase; 11- <i>neo</i> -mentol redutase; 12- mentona redutase. O local onde as enzimas metabólicas agem está indicado entre parênteses. Adaptado de Croteau et al. (2005); Rios-Esteva et al. (2008).....	72
29	Teor de mentol de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	74
30	Teor de mentona de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	76
31	Teor de mentofurano de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	79
32	Teor de acetato de mentila de <i>Mentha piperita</i> L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de <i>Leonurus sibiricus</i> L., em diferentes concentrações, em mg L ⁻¹ , aos 77, 94, 108 e 120 DAT.....	81
33	Dendrograma das substâncias limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial de <i>M. piperita</i> cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de <i>L. sibiricus</i> , em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT, definido pelo agrupamento UPGMA, a partir das distâncias Euclidianas. Correlação cofenética igual a 0,93 (normalized Mantel statistic z).....	83
34	Análise dos Componentes Principais (PCA) das substâncias limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial de <i>M. piperita</i> cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de <i>L. sibiricus</i> , em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT. Controle: 0 mg L ⁻¹ do extrato metanólico <i>L. sibiricus</i> , 25, 50 e 100 mg L ⁻¹ do extrato metanólico de <i>L. sibiricus</i>	84

EFEITO ALELOPÁTICO DE EXTRATO DE *Leonurus sibiricus* L. EM *Mentha piperita* L.. DESENVOLVIMENTO, TROCAS GASOSAS E METABÓLITOS DO ÓLEO ESSENCIAL. Botucatu, 2011. 118 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas. Universidade Estadual Paulista.

Autora: Jennifer Búfalo

Orientadora: Carmen Sílvia Fernandes Boaro

RESUMO - A família Lamiaceae se destaca pela utilização de muitas de suas espécies como medicinais, condimentares, aromáticas e ornamentais. Entre elas, a *Mentha piperita* L., produz óleo essencial amplamente utilizado nas indústrias farmacêuticas, de bebidas alcoólicas, alimentícias e de cosméticos. *Leonurus sibiricus* L., além de medicinal, é conhecida pela produção de terpenóides e substâncias fenólicas com efeitos alelopáticos, apresentando-se também como planta invasora. O presente estudo objetivou avaliar a atividade do extrato metanólico de folhas de *L. sibiricus*, no desenvolvimento, trocas gasosas e metabólitos do óleo essencial de *M. piperita*, cultivada em solução nutritiva. Para tanto, foram utilizadas concentrações iguais a 25, 50 e 100 mg L⁻¹ de extrato metanólico das folhas de *L. sibiricus* no cultivo hidropônico da *M. piperita* durante parte de seu ciclo de desenvolvimento. As variáveis, comprimento de parte aérea, área foliar, massa seca dos diferentes órgãos, razão de área foliar, razão de massa foliar, área foliar específica, taxa assimilatória líquida, taxa de crescimento relativo, distribuição de massa seca para os diferentes órgãos, trocas gasosas, e composição química dos óleos essenciais foram avaliadas em diferentes épocas. Os resultados obtidos permitiram concluir que as menores concentrações do extrato metanólico de *L. sibiricus*, 25 e 50 mg L⁻¹, estimularam o desenvolvimento da *M. piperita*, estimulando a translocação de matéria orgânica nas plantas, enquanto esse processo prejudicado nas plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹, pode ter sido responsável por seu menor desenvolvimento. As trocas gasosas da *M. piperita* foram influenciadas pela presença do extrato metanólico e estimuladas pelas concentrações iguais a 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato. O extrato metanólico de *L. sibiricus* influenciou os teores dos componentes do óleo do essencial da *M. piperita*, na dependência da concentração utilizada, uma vez que, nas menores concentrações, as plantas

apresentaram maiores teores de mentona e mentol, garantindo a qualidade do óleo essencial e na maior concentração as plantas apresentaram maiores teores de acetato de mentila e mentofurano, comprometendo a sua qualidade. Por fim, nas condições em que o experimento foi realizado, pode-se sugerir que as substâncias presentes no extrato metanólico de *L. sibiricus* tenham exercido atividade alelopática, estimulando ou inibindo o desenvolvimento da *M. piperita*, de acordo com a concentração em que foram aplicadas às plantas. Deve ser considerado também que a espécie *L. sibiricus*, amplamente distribuída no território brasileiro e de fácil crescimento pode ser considerada como modelo para o estudo da influência de substâncias produzidas por uma espécie vegetal em outra.

Palavras-chave: plantas medicinais, alelopatia, fotossíntese, análise de crescimento.

ALLELOPATHIC EFFECT OF *Leonurus sibiricus* L. EXTRACT IN *Mentha piperita* L.. DEVELOPMENT, GAS EXCHANGE AND METABOLITES OF THE ESSENTIAL OIL. Botucatu, 2011. 118 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas. Universidade Estadual Paulista.

Author: Jennifer Búfalo

Adviser: Carmen Sílvia Fernandes Boaro

SUMMARY - The family Lamiaceae is known for the use of many species as medicinal, condiments, aromatic and ornamental. Among them, *Mentha piperita* L. essential oil produces widely used in industries pharmaceutical, beverages, food and cosmetics. *Leonurus sibiricus* L., besides medicinal, produces terpenoids and phenolic substances with allelopathic effects, what explains its invasive behaviour. The present study aimed to evaluate the activity of methanolic extract of leaves of *L. sibiricus* in the development, gas exchange and metabolites of essential oil of *M. piperita*, cultivated in nutritive solution. Thus, were used concentrations of 25, 50 and 100 mg L⁻¹ of methanolic extract of leaves of *L. sibiricus* in the hydroponic cultivation of *M. piperita* during part of its development cycle. The variables, shoot length, leaf area, dry matter of different organs, leaf area ratio, leaf weight ratio, specific leaf area, net assimilation rate, relative growth rate, dry matter distribution in several organs, gas exchange and composition of essential oils were evaluates at different times. The results showed that low concentrations of methanolic extract of *L. sibiricus*, 25 and 50 mg L⁻¹, stimulated the development of *M. piperita*, stimulating the translocation of organic matter in plants, while this process affected in plants grown with 100 mg L⁻¹, may have been responsible for yours less development. The gas exchange of *M. piperita* were influenced by the presence of methanolic extract and stimulated by concentrations 25 and 50 mg L⁻¹. The methanolic extract of *L. sibiricus* influenced the levels of the essential oil components of *M. piperita*, depending on the concentration used, since, at lower concentrations, the plants showed higher levels of menthone and menthol, thus rendering an oil of quality and plants cultivated in the highest concentration showed higher levels of menthyl acetate and menthofuran, compromising your quality. Finally, in the conditions of this experiment, may suggest that substances present in

the methanolic extract of *L. sibiricus* exerted allelopathic activity, stimulating or inhibiting the development of *M. piperita*, according to the concentration at which were applied to plants. Should also be considered that the species *L. sibiricus*, widely distributed in brazilian territory and easy to grow can be considered as a model for studying the influence of substances produced by one plant species into another.

Keywords: medicinal plants, allelopathy, photosynthesis, growth analysis.

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais na arte de curar é uma forma de tratamento de origens antigas, relacionada aos primórdios da medicina e fundamentada no acúmulo de informações por sucessivas gerações. Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diferentes doenças. A Organização Mundial da Saúde (OMS) valoriza o uso de plantas medicinais no âmbito sanitário e estima que aproximadamente 80% da população mundial utilizam essas plantas ou seus extratos vegetais ou princípios ativos para atendimento primário à saúde. A organização também destaca a participação dos países em desenvolvimento, nesse contexto, uma vez que possuem 67% das espécies vegetais do mundo (BRASIL, 2010).

A utilização dos produtos naturais de forma segura e eficaz depende da padronização dos extratos e da elucidação do perfil químico das plantas e de suas atividades biológicas. Atualmente, a riqueza química dos extratos de plantas aromáticas e medicinais são fontes de compostos biologicamente ativos com ampla utilização, em especial nas atividades agrícolas, e no âmbito da medicina popular (MATHELA, 1991; CUTLER; CUTLER, 1999; ALMEIDA et al. 2007).

No entanto, a exploração de recursos genéticos de plantas medicinais no Brasil está relacionada, em grande parte, à coleta extensiva e extrativista das espécies em seus habitats naturais. Além disso, apesar da considerável exportação de várias espécies

medicinais na forma bruta ou de seus subprodutos e de sua ampla utilização pela população, pouquíssimas espécies chegam a ser cultivadas, mesmo em pequena escala (VIEIRA, 1994).

Dessa forma, levando-se em consideração a velocidade da perda de recursos genéticos e a conseqüente perda de substâncias terapêuticas, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégia que promova não só exploração racional, como estudos alternativos de cultivo, objetivando a produção de plantas medicinais e o aumento da quantidade de princípios ativos nelas existentes (ORELLANA et al. 1994; MONTANARI, 2010).

Dentre as espécies com propriedades medicinais, devem ser destacadas as da família Lamiaceae, utilizadas como medicinais, condimentos, aromáticas e ornamentais. Uma delas, a *Mentha piperita* L., produz óleo essencial amplamente utilizado nas indústrias farmacêuticas, de bebidas alcoólicas, alimentícias e de cosméticos (LAWRENCE, 1985; GUPTA, 1991). *Leonurus sibiricus* L., além de medicinal, é conhecida pela produção de terpenóides e substâncias fenólicas com efeitos alelopáticos, apresentando-se também como planta invasora (LORENZI; MATOS, 2002; LARCHER, 2006).

Espécies da família Lamiaceae, entre outras, produzem grande diversidade de compostos orgânicos que parecem não ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento, resultantes das interações das plantas com o ambiente.

Essas substâncias são conhecidas como metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais (TAIZ; ZEIGER, 2006). Tais produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para a sua sobrevivência e para a perpetuação da espécie, em seu ecossistema (SANTOS, 2007).

O metabolismo secundário dá origem a diversas substâncias químicas com importância nas interações ecológicas e na sobrevivência das plantas. Assim, para adquirir recursos como luz, água e nutrientes, algumas plantas se defendem produzindo substâncias com efeitos alelopáticos. Neste sentido, a alelopatia pode ser definida como a ciência que estuda os processos envolvendo metabólitos secundários produzidos por alguns organismos que têm influência sobre o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos incluindo efeitos de inibição ou estimulação.

As substâncias alelopáticas sintetizadas pelas rotas do metabolismo secundário e liberadas para o ambiente são denominadas aleloquímicos (RICE, 1984) e

influenciam o desenvolvimento e estabelecimento das culturas agrícolas e comunidades vegetais (TORRES et al. 1996).

Considerando a concentração e a estrutura de suas moléculas, a utilização de extratos alelopáticos no cultivo de plantas medicinais pode propiciar respostas diferentes e vantajosas no desenvolvimento da espécie e na produção e composição de seu óleo essencial. A interação dessas moléculas com as rotas do metabolismo secundário pode explicar os efeitos dos aleloquímicos não só no desenvolvimento de diferentes espécies, como também elucidar os mecanismos químico-ecológicos da interação planta-planta.

Por outro lado, condições nutritivas aliadas aos efeitos alelopáticos podem moldar o perfil químico das substâncias do metabolismo secundário, alterando a concentração das substâncias ou direcionando as rotas metabólicas, com conseqüente modificação do produto final naturalmente sintetizado nessas vias.

Deve ser destacado ainda que o estudo das plantas medicinais e de suas substâncias com atividade alelopática pode representar potencial na busca de produtos naturais com atividade herbicida ou de regulação do crescimento. Portanto, o conhecimento dessas substâncias ativas produzidas pelas rotas do metabolismo secundário é importante para diferentes áreas do conhecimento científico, principalmente quando as atividades biológicas estiverem correlacionadas.

Considerando a riqueza química de extratos de *L. sibiricus*, pode-se inferir possível interação de suas substâncias com as rotas do metabolismo secundário de outras plantas medicinais e aromáticas, como por exemplo, de síntese do óleo essencial em *M. piperita*. A *M. piperita*, espécie que apresenta modificações no teor e no perfil químico de seu óleo essencial quando submetida a diferentes condições de solo (ZHELJAZKOV; NIELSEN, 1996; SCAVRONI, et al. 2005), temperatura, umidade, luz e nutrição (LEAL, 2001; DAVID et al. 2006; DAVID et al. 2007; DE FAZIO et al. 2007; VALMORBIDA et al. 2006; VALMORBIDA; BOARO, 2007) da mesma maneira, poderá apresentar modificação de suas rotas metabólicas, pela presença de substâncias aleloquímicas provavelmente envolvidas nos mecanismos de interação planta-planta.

Com base no acima exposto, a utilização de extrato de folhas de *L. sibiricus*, no cultivo hidropônico de *M. piperita*, poderá evidenciar importantes relações entre essas duas espécies com atividades medicinais diversas.

2. OBJETIVOS

Geral

Avaliar a atividade do extrato metanólico de folhas de *Leonurus sibiricus* em diferentes concentrações no desenvolvimento e metabólitos do óleo essencial da *Mentha piperita*, cultivada em solução nutritiva.

Específicos

Avaliar a atividade do extrato metanólico de *L. sibiricus* em diferentes concentrações nos índices fisiológicos da *M. piperita* que refletem seu metabolismo primário;

Avaliar a atividade do extrato metanólico de *L. sibiricus* em diferentes concentrações nas trocas gasosas de *M. piperita*;

Avaliar a atividade do extrato metanólico de *L. sibiricus* em diferentes concentrações na composição química do óleo essencial da *M. piperita*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

A família Lamiaceae destaca-se pela utilização de suas espécies como medicinais, condimentares, aromáticas e ornamentais. Uma delas, a *Mentha piperita* L., planta medicinal e aromática, conhecida como hortelã pimenta, menta, e hortelã-apimentada é amplamente cultivada nos Estados Unidos e na Europa. Seu óleo essencial, considerado industrialmente importante (LAWRENCE, 1985), é usado nas indústrias farmacêuticas, de bebidas alcoólicas, alimentícias e de cosméticos (GUPTA, 1991). As folhas de menta são utilizadas na forma de chá do tipo abafado, ou seja, infusão, para os casos de má digestão, náuseas e sensação de empachamento, causado por acúmulo de gases no aparelho digestivo (LORENZI; MATOS, 2002).

Espécies da família Lamiaceae, entre outras, produzem grande diversidade de compostos orgânicos que, parecem não ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento, resultantes das interações das plantas com o ambiente. Essas substâncias são conhecidas como metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais (TAIZ; ZEIGER, 2006). Tais produtos correspondem a um grupo de compostos químicos formados a partir da biossíntese de compostos provenientes do metabolismo primário e apresentam baixo peso molecular e marcantes atividades biológicas, sendo encontrados em concentrações relativamente baixas e em determinados grupos de plantas (SANTOS, 2007). Estes metabólitos que atuam na defesa do vegetal, na proteção contra raios UV, na atração de

polinizadores ou animais dispersores de sementes, apresentam efeito alelopático (MANN, 1994).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em terpenóides, alcalóides, fenilpropanóides, flavonóides, fenóis e taninos. Os óleos essenciais, também chamados óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências são constituídos por fenilpropanóides, terpenos, mono e sesquiterpenos, dentre outros (SANTOS, 2007).

Os fenilpropanóides são substâncias sintetizadas a partir do ácido chiquímico enquanto os terpenos são derivados do mevalonato e da deoxilulose (DXP), como pode ser observado na Figura 1.

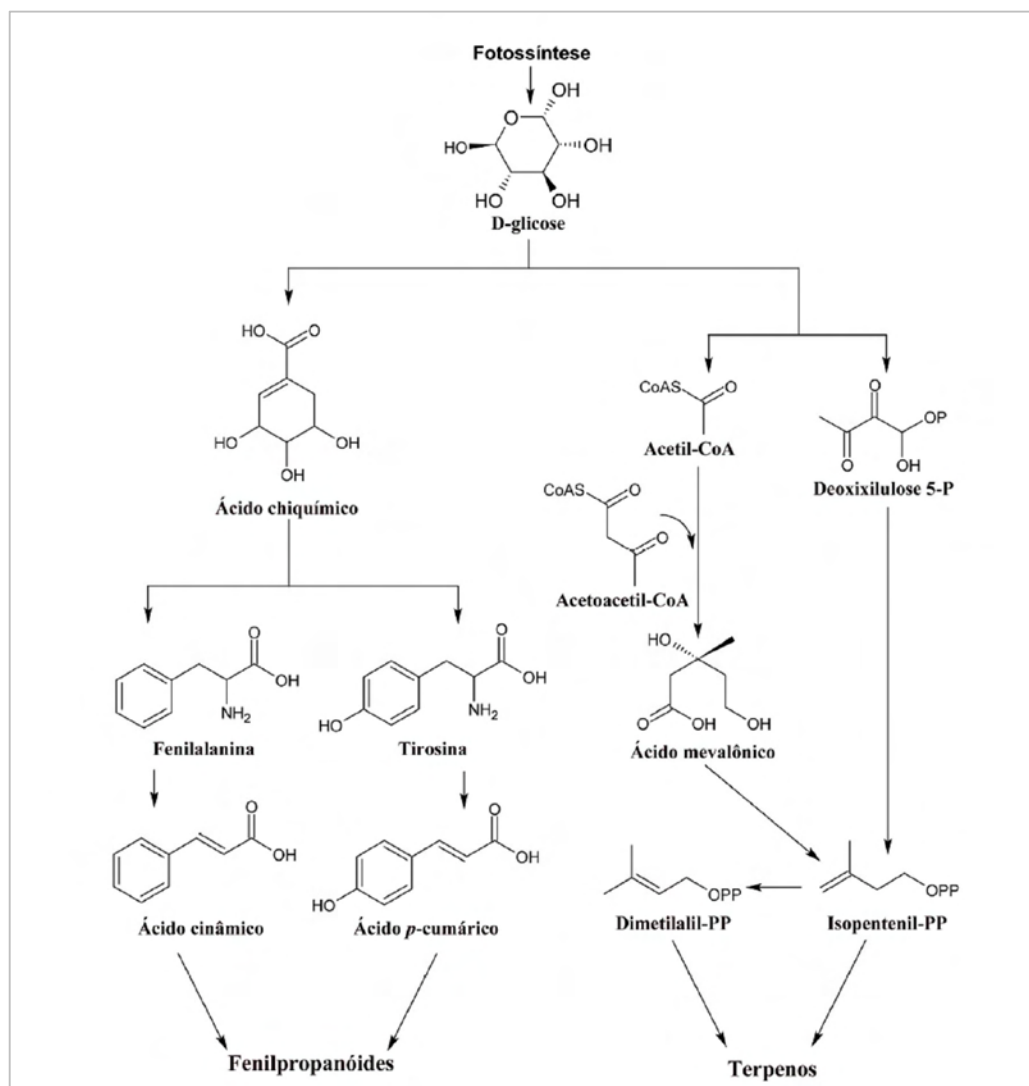


Figura 1. Vias metabólicas de síntese de fenilpropanóides e terpenos a partir da glicose (Dewick, 2002).

Entre os produtos secundários, os terpenos constituem o maior grupo. As diversas substâncias dessa classe são, em geral, insolúveis em água, sensíveis às condições bióticas e abióticas, e sintetizadas a partir de intermediários do processo respiratório, Acetil-CoA (TAIZ; ZEIGER, 2006). Segundo Lichtenthaler (1999) e Dewick (2002), a formação dos isoprenóides procede a partir de duas vias independentes. A biossíntese dos esteróides, dos triterpenos e dos sesquiterpenos se dá a partir da via acetato/mevalonato e, a via alternativa do 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato origina os carotenóides, os mono e diterpenos. Ambas as vias utilizam a junção do isopentenil-PP e dimetilalil-PP como precursores dos compostos formados (Figura 1).

Durante a síntese do óleo essencial na *M. piperita* a rota do isoprenóide conduz a formação do geranyl difosfato, a partir do qual limoneno é originado, formando a seguir piperitenona e então pulegona, que pode formar mentona e/ou mentofurano (DEY; HARBONE, 1997; CROTEAU et al. 2000). Mentona forma neomentol e mentol, que pode sofrer esterificação e dessa maneira ser convertido a acetato de mentila (MURRAY, 1972). Enzimas como limoneno sintase, limoneno-3-hidroxilase, trans-isopiperitenol desidrogenase, isopiperitenona redutase, cis-isopulegona isomerase, mentofurano sintase, pulegona redutase e mentona redutase estão envolvidas nessa rota (BUCHANAN et al. 2000).

Os óleos essenciais desempenham importantes funções ecológicas, agem como sinais químicos para a comunicação entre espécies, na proteção contra microorganismos patogênicos, herbívoros e insetos fitófagos, na atração de animais polinizadores e dispersores de sementes, promovendo a reprodução das espécies e contribuindo com a coloração, aroma e odor de folhas, flores e frutos (ROBERTS et al. 1996; MARASCHIM; VEPOORTE, 1999; TAIZ; ZEIGER, 2006).

Além disso, agem no organismo humano, como carminativos, antiespasmódicos, estimulante do sistema digestivo, cardiovascular, secretolítico, antiinflamatório e anti-séptico. No sistema nervoso central, agem como estimulantes ou depressivos, além de possuírem ação anestésica local (SIMÕES; SPITZER, 2007).

Segundo Gershenzon et al. (1978) a influência de fatores ambientais na variabilidade dos terpenos deve ser estudada por sua importância biossistemática, ecológica, fisiológica, implicações evolutivas e possibilidade do uso em diversos setores das indústrias farmacêutica, química, de cosméticos e alimentícia. No entanto, um ponto chave para sua

produção é a grande variação que essas substâncias apresentam, dependendo das condições de crescimento das plantas. Em muitas espécies, as taxas de síntese desses terpenos são dependentes da luz e da temperatura, bem como de níveis de assimilação de carbono (SCHUH et al. 1997; SHAO et al. 2001).

Dessa forma, durante o cultivo das espécies medicinais e aromáticas, as condições ambientais como estresse hídrico, incidência solar e deficiências nutricionais dos solos, moldam e selecionam os princípios ativos por elas produzidos e utilizados, por exemplo, na medicina natural (QASEM, 2001).

Por outro lado, o acelerado crescimento de uma espécie, induzido por sua adequada nutrição mineral pode causar redução na concentração de fenilpropanóides afetando menos ou não afetando os níveis de outras classes de compostos secundários. A resposta dos fenilpropanóides pode estar relacionada com a síntese de proteínas e com o crescimento das plantas, em função de um precursor comum, a fenilalanina. Assim, qualquer fator ambiental que afete o crescimento da planta e a síntese de proteína também afeta a disponibilidade de fenilalanina para a síntese de fenilpropanóides (KORICHEVA et al. 1998).

No entanto, estudos demonstram a importância da nutrição mineral no desenvolvimento de espécies da família Lamiaceae e no conteúdo e composição de seu óleo essencial. Alguns deles avaliaram a *M. piperita* em cultivo hidropônico com variação de N, P, K, Ca e Mg (DAVID et al. 2006; DAVID et al. 2007; DE FAZIO et al. 2007; MAIRAPETYAN et al. 1999; VALMORBIDA et al. 2006; VALMORBIDA; BOARO, 2007; VALMORBIDA et al. 2007; VASQUES, 2007). Esses autores observaram que, independente do nutriente estudado, a sua variação na solução nutritiva, de modo freqüente, interfere com o desenvolvimento e produção de óleo, diminuindo ou aumentando, seu conteúdo e variando sua composição. Uma vez que o metabolismo secundário, nesse caso síntese de óleo, depende de compostos sintetizados no primário, esses resultados estão de acordo com a afirmativa de que a produtividade das plantas é determinada pela quantidade de folhas, de sua capacidade fotossintética e da disponibilidade de nutrientes, sendo esses, fatores chaves, que determinam o ganho de biomassa. Milthorpe e Moorby (1974) observaram que a ausência, ou mesmo a insuficiência, de um nutriente interfere na produção final, embora não se conheçam quais das variáveis fisiológicas intermediárias ficam comprometidas, interferindo na produtividade.

Fageria et al. (1997) afirmam que o suprimento adequado de nutrientes minerais para as culturas é um dos fatores mais importantes para aumento de sua produtividade.

Por outro lado, quando a *M. piperita* foi cultivada em substrato alternativo, representado por lodo de esgoto, no estudo de Scavroni et al. (2005), embora a produção de óleo essencial tenha aumentado quando as plantas foram cultivadas com 28 t ha⁻¹ do bio sólido a rota metabólica favoreceu a formação de monoterpenos aumentando a síntese de mentofurano e acetato de mentila.

Dessa forma, o cultivo de uma espécie medicinal pode ser considerado como uma das etapas que mais interfere na produção e qualidade de seu fitoterápico. Nessas espécies, além da quantidade de massa fresca produzida, os teores de seus princípios ativos são de grande importância (MADUEÑO BOX, 1973).

Apesar de sua relevância, as plantas medicinais e aromáticas ainda são pouco avaliadas em pesquisas científicas, no tocante à fisiologia e bioquímica. Várias espécies não têm recebido suficiente atenção sobre formas adequadas de sua propagação, espaçamentos, exigências nutricionais e melhor época de colheita, com possibilidade de obtenção de óleo com composição adequada, que justifique também a sua importância medicinal e aromática para o homem.

O metabolismo secundário dá origem a diversas substâncias químicas com importância nas interações ecológicas e na sobrevivência das plantas. Assim, para adquirir recursos como luz, água e nutrientes, algumas plantas se defendem produzindo substâncias com efeitos alelopáticos. Neste sentido, a alelopatia pode ser definida como a ciência que estuda os processos envolvendo metabólitos secundários produzidos por alguns organismos que têm influência sobre o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos incluindo efeitos de inibição ou estimulação.

O termo alelopatia foi criado pelo pesquisador Hans Molisch em 1937, a partir das palavras gregas *allélon* (mútuo) e *pathos* (prejuízo), para se fazer referência a todas as interações entre plantas, provocadas pela liberação de substâncias químicas por elas elaboradas, a partir de tecidos vivos ou mortos. Embora esta definição englobe interações prejudiciais e benéficas, o uso da palavra alelopatia passou a ser restrito aos efeitos prejudiciais, diretos ou indiretos de uma planta sobre outra, pela produção de compostos químicos liberados no ambiente (RICE, 1984).

A definição recente aceita pela *International Allelopathy Society* (IAS) define a alelopatia como “a ciência que estuda processos envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam o crescimento e o desenvolvimento de sistemas agrícolas e biológicos” (MACÍAS et al. 2007). Atualmente a alelopatia é caracterizada como uma nova ciência e vem tornando-se cada dia mais importante na maioria dos países desenvolvidos (MACÍAS et al. 2006).

Portanto, as substâncias alelopáticas sintetizadas pelas rotas do metabolismo secundário e liberadas para o ambiente são denominadas aleloquímicos (RICE, 1984) e influenciam o desenvolvimento e estabelecimento das culturas agrícolas e comunidades vegetais (TORRES et al. 1996).

Segundo Inderjit (1996), a atividade alelopática na natureza envolve fatores bióticos, como densidade vegetal, estádios de crescimento e microrganismos, e também fatores abióticos, como solo, disponibilidade de água, temperatura e incidência de raios UV, dentre outros. Tais fatores podem afetar a liberação, disponibilidade, composição química e o modo de ação das substâncias alelopáticas. A liberação dos compostos pode ocorrer por volatilização das substâncias alelopáticas para a atmosfera, ou pelo acúmulo desses aleloquímicos nas fases aquosa e sólida do solo (RIZVI; RIZVI, 1992), que podem ser metabolizados por microorganismos e, portanto, permanecerem presentes na matéria orgânica das camadas de serrapilheira (INDERJIT et al. 2001)

No âmbito da ecologia, o fenômeno da alelopatia pode explicar os mecanismos da sucessão vegetal, onde espécies invasoras podem excluir espécies nativas a partir de resíduos e substâncias liberados para o ambiente (HIERRO; CALLAWAY, 2003). Neste caso, a atividade dos aleloquímicos é apenas inibitória e pouco relacionada com a competição por recursos abióticos (CALLAWAY, 2002). Portanto, a presença dessas espécies numa área de plantio pode apresentar significativa influência no desenvolvimento de culturas (BATISH et al. 2001; QASEM; FOY, 2001; SINGH et al. 2001), como também, no padrão natural de formação e sucessão das populações e comunidades vegetais (FERREIRA; AQUILA, 2000).

Ainda, segundo Gottlieb (1982), os aleloquímicos são sinais químicos transmitidos ao ambiente, geralmente em pequena quantidade, e são responsáveis pelas múltiplas interações químicas entre os diferentes organismos. As interações positivas como,

promoção e atração e negativas como, inibição e repelência, indicam funções ecológicas dessas substâncias, de grande importância para a evolução e co-evolução das espécies vegetais e animais.

A capacidade das plantas produzirem substâncias alelopáticas e a natureza química dessas substâncias difere entre as espécies, assim como a suscetibilidade destas aos aleloquímicos liberados por outras. Como consequência desta variabilidade algumas espécies são favorecidas e outras prejudicadas. Assim, a presença de plantas daninhas nas culturas sempre foi uma preocupação dos agricultores, que costumavam atribuir os prejuízos por elas provocados, principalmente a efeitos de competição. O conhecimento dos efeitos alelopáticos e do mecanismo de ação dos aleloquímicos são de importância fundamental para se entender as interações entre plantas, tanto nos sistemas naturais, como nos sistemas agrícolas (DURIGAN; ALMEIDA, 1993).

A inibição da emergência das espécies, muitas vezes se dá pela interação de vários aleloquímicos, e não pela presença de uma única substância. No solo, os efeitos aditivos ou sinérgicos dos aleloquímicos podem ter influência mesmo em baixas concentrações. Se uma única substância é responsável pelo potencial alelopático de uma planta e é isolada e identificada, ela pode ser útil como modelo para o desenvolvimento de bioherbicidas (INDERJIT; DAKSHINI, 1995; XUAN et al. 2005).

Portanto, pesquisadores e agricultores reconhecem na atualidade os aleloquímicos como alternativa viável para substituir os pesticidas sintéticos, visando redução de poluição ambiental e aumento da produtividade agrícola (QASEM; FOY, 2001; DUKE et al. 2002). Compostos extraídos de vegetais superiores com atividade herbicida, tais como o cineol (Shell), as benzoxazinonas e ácido quinolínico (BASF) e as leptospermonas (Zeneca) são conhecidos e vêm sendo utilizados na agricultura, apresentando resultados promissores (XUAN et al. 2005).

Segundo SOUZA (1988), o número de espécies de plantas daninhas tidas como alelopáticas é relativamente grande, podendo a alelopatia contribuir para justificar a agressividade dessas plantas, por meio da liberação de seus exsudatos, voláteis ou resíduos.

Por outro lado, deve ainda ser considerado que espécies invasoras, seus extratos ou resíduos delas remanescentes no campo, podem ao liberar um aleloquímico, causar redução na absorção de nutrientes, como o fósforo e o zinco, devido a danos provocados na

permeabilidade das células das raízes. Se esses extratos vegetais forem adicionados à solução nutritiva talvez também influenciem a absorção de nutrientes, que Taiz e Zeiger (2006) referem de extrema importância no crescimento e reprodução dos vegetais.

O avanço tecnológico da agricultura, em resposta à crescente demanda de alimentos, levou ao uso indiscriminado de pesticidas, fertilizantes e outros insumos, empregados no combate às plantas invasoras (LANG, 1989). Este autor refere ainda que além de encarecerem a produção agrícola, os pesticidas e outros produtos químicos utilizados contaminam recursos naturais como água, solo, flora e fauna, sendo do ponto de vista ecológico e social, preço elevado para o que se obtém em termos de produção econômica.

O modo de ação dos aleloquímicos pode ser indireto, quando o composto alelopático altera propriedades químicas do solo, suas condições nutricionais e populações ou atividade dos microrganismos ou direto quando o aleloquímico liga-se às membranas da planta receptora ou penetra nas células, interferindo diretamente no seu metabolismo (FERREIRA; AQUILA, 2000). Segundo Rizvi e Rizvi (1992), os compostos alelopáticos podem afetar a estrutura e ultra-estrutura celulares, a concentração e balanço hormonal, a permeabilidade das membranas, afetando a absorção de minerais, o movimento dos estômatos, influenciando a fotossíntese, a síntese de pigmentos e proteínas, a atividade enzimática, as relações hídricas e condução de seiva, como também podem alterar DNA e RNA.

De modo geral, as substâncias alelopáticas não apresentam uma classe química definida variando desde ácidos graxos até compostos mais polares, como alcalóides glicosilados e lactonas sequiterpênicas (MACÍAS et al. 1992; VYVYAN, 2002; BHOWMIK; INDERJIT, 2003). Muitas das substâncias envolvidas na alelopatia são metabólitos secundários que tem origem na via do ácido chiquímico a qual origina os flavonóides, compostos fenólicos e taninos (ELLIOTT; CHENG, 1987; EINHELLIG, 1995) e cujas concentrações podem ser influenciadas pelo estresse biótico e abiótico. Os fenilpropanóides têm mostrado influenciar a absorção de nutrientes (BERGMARK et al. 1992; BOOKER et al. 1992), atividades enzimáticas relacionadas ao metabolismo oxidativo (DEVI; PRASAD, 1992), relações hídricas (BARKOSKY; EINHELLIG, 1993), fotossíntese e a respiração (EINHELLIG; RASMUSSEN, 1993).

A espécie *Leonurus sibiricus* L., conhecida como erva macaé ou rubim, também pertencente a família Lamiaceae é originária da Índia e utilizada pela população na forma de chás, no combate a edemas e sangramentos. A produção de terpenóides e substâncias fenólicas com efeitos alelopáticos (LARCHER, 2006) podem justificar seu comportamento de planta invasora e não desejável, em pomares e cafezais (LORENZI; MATOS, 2002). Entretanto, a liberação de exudatos por suas raízes aumenta a germinação de arroz, trigo e mostarda (MANDAL, 2001). Já o extrato aquoso de suas folhas inibe a germinação de milho e o crescimento de plântulas de tomate (ALMEIDA et al. 2003). O estudo fitoquímico e os bioensaios indicam que extratos e substâncias isoladas de folhas de *L. sibiricus* afetam a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de *Raphanus sativus*, *Lactuca sativa* e *Lepidium sativus*, na dependência da concentração utilizada (ALMEIDA et al. 2008). Esses resultados concordam com os de Putnam e Duke (1978) e Rice (1979). Segundo Putnam e Duke (1978), uma mesma substância pode desempenhar várias funções, mais dependentes de sua concentração, modo de translocação e inativação, do que da própria composição química. Assim, se um composto é tóxico para uma dada espécie, pode ser inócuo para outra. Rice (1979) ressalta que os efeitos benéficos de uma planta sobre outra não devem ser omitidos do conceito de alelopatia, uma vez que determinado composto químico pode ter efeito inibitório ou estimulante, dependendo de sua concentração no ambiente onde é liberado.

Em sua composição química *L. sibiricus* apresenta alcalóides, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos (SAVONA et al. 1982; BOALINO et al. 2004; ALMEIDA et al. 2005) e furano-lactonas (SATO et al. 2003). Os extratos polares apresentam majoritariamente rutina e seus derivados, além de flavonas metoxiladas (ALMEIDA et al. 2006).

Os flavonóides possuem importante papel como compostos de defesa e são moléculas sinalizadoras da reprodução, patogênese e simbiose. São produzidos pelas plantas em grande quantidade e quando liberados no ambiente têm evidente papel na interação planta-planta e planta-microorganismo (RICE, 1984; SHIRLEY, 1996). Estudos demonstram que o arranjo estrutural das moléculas de flavonóides, relacionado com a fitotoxicidade destes compostos, é provavelmente responsável pela atividade alelopática (MACIAS et al. 1997; BAIS et al. 2003; PARVEZ et al. 2004; BENINGER; HALL, 2005).

Os efeitos desses compostos em plantas incluem diminuição da entrada de oxigênio nas mitocôndrias e nos cloroplastos e redução do transporte de elétron e eficiência do fotossistema II (MORELAND; NOVITZKY, 1988). Essas múltiplas atividades resultam em amplo espectro de fitotoxicidade (EINHELLIG, 2004) ou, dependendo da concentração dos flavonóides, estimulam o crescimento de raízes (WEBSTER et al. 1998). De modo geral, os flavonóides protegem as células do estresse oxidativo pela quelação, inativação ou captação de radicais livres, produzidos pelo sistema de transporte de elétrons (HARBONE, 1994). Devido às suas características químicas, capazes de captar elétrons, atuam como catalisadores na fase fotoquímica da fotossíntese e/ou como reguladores de canais iônicos envolvidos na fosforilação oxidativa do processo de obtenção de energia fotossintética (PIETTÁ; SIMONETTI, 1999). Em função dessas características químicas, os flavonóides estão envolvidos com os processos relacionados à absorção iônica, prejudicando o padrão de despolarização das membranas celulares das raízes e levando a disfunção no equilíbrio de íons (GLASS; DUNLOP, 1974). Os danos metabólicos acarretados pelos flavonóides, segundo Macias et al. (1997), dependem da estereoquímica das moléculas e concentração utilizada, que podem promover ou inibir o crescimento de raízes, sendo, no entanto, pouco esclarecidos os mecanismos de ação destes compostos.

Os compostos fenólicos são considerados potentes inibidores de germinação de sementes, crescimento de parte aérea e alongamento das raízes (RICE, 1984). Os ácidos p-hidroximandélico; 3,4-dihidroxifenilacético e mandélico, por exemplo, inibem o crescimento da parte aérea de arroz. Já os fenólicos presentes em extratos de *Pinus laricio* inibiram a glicose-6-fosfato dehidrogenase, glicose-fosfato isomerase e aldolase, enzimas que estão relacionadas com a síntese de açúcares (MUSCOLO et al. 2001). Inderjit e Dakshini (1992) observaram que os compostos fenólicos solúveis em água, oriundos da planta daninha *Pluchea lanceolata*, influenciaram o teor de clorofila e a taxa fotossintética líquida de folhas de aspargo, de plantas cultivadas em casa de vegetação.

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 avaliar o crescimento e inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos sobre o comportamento vegetal (CAUSTON; VENUS, 1981; MAGALHÃES, 1986).

A análise de crescimento descreve as condições morfofisiológicas da planta, em diferentes intervalos de tempo, permitindo acompanhar a dinâmica da produtividade, avaliada por variáveis fisiológicas e bioquímicas. É um método utilizado para avaliar efeitos de fenômenos ecológicos sobre o crescimento, como adaptabilidade das espécies a ecossistemas diversos, efeitos de competição, diferenças genotípicas da capacidade produtiva e influência de práticas agrônômicas sobre o crescimento (MAGALHÃES, 1986).

A produtividade é influenciada por características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fonte e dos órgãos consumidores dos produtos fotossintetizados, conhecidos como dreno (FOYER; GALTIER, 1996). Os fotoassimilados constituem mais de 90% da massa seca da planta. Uma parte desses assimilados é utilizada durante o crescimento da planta, convertendo-se em biomassa e a outra parte é oxidada na respiração, servindo como fonte de energia para o crescimento e funcionamento dos processos biológicos (POPOV et al. 2003). A análise de crescimento é baseada no fato de que aproximadamente 90% da matéria seca acumulada pelas plantas ao longo do seu crescimento é resultante da atividade fotossintética (BENINCASA, 2003).

Quando plantas são expostas a aleloquímicos, seu crescimento e desenvolvimento são afetados (PUTNAM; DUKE, 1978; NIAKAN et al. 2008). Niakan e Saberi (2009) referem que efeitos morfológicos durante a germinação, como sementes escuras e inchadas, raízes ou parte aérea reduzidas, extensão do coleóptile, edema ou necrose na extremidade da raiz, redução da massa seca e baixa capacidade reprodutiva, podem ser manifestações de eventos primários causados por uma variedade de eventos específicos que agem a nível celular ou molecular em plantas expostas a aleloquímicos. Além disso, compostos alelopáticos podem reduzir a absorção de nutrientes (PENG et al. 2004). Khan et al. (2005) observaram que extratos aquosos de *Prosopis juliflora*, *Eucalyptus camaldulensis* e *Acacia nilotica* reduziram a porcentagem de germinação, comprimento de plântulas e produção de biomassa de *Ipomoea* sp.

Embora inúmeros estudos demonstrem propriedades inibitórias de substâncias alelopáticas na germinação ou no crescimento inicial de plântulas, seus efeitos no desenvolvimento, fotossíntese e relações hídricas ainda não são bem conhecidos (PATTERSON, 1981). Aleloquímicos têm sido estudados por influenciar o funcionamento estomatal, alterando as relações hídricas nas plantas (EINHELLING, 1986).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento consistiu no cultivo de plantas de *Mentha piperita* em solução nutritiva na presença e na ausência do extrato metanólico de *Leonurus sibiricus*. Para tanto, plantas de *L. sibiricus* foram coletadas e as folhas foram separadas, secas e moídas para o preparo do extrato metanólico.

***Leonurus sibiricus* L.**

Local de coleta

As plantas de *Leonurus sibiricus* foram coletadas em Botucatu, Estado de São Paulo, na Fazenda Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista. As folhas foram separadas e acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar, a uma temperatura de 40°C até obtenção de massa seca constante para preparo do extrato metanólico.



Figura 2. Vista geral de plantas de *Leonurus sibiricus*. Botucatu - SP, 2010.

Preparo do extrato metanólico

O extrato metanólico foi preparado no laboratório do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu – SP sob supervisão do Prof^o. Dr. Ary Fernandes Junior.

As folhas secas foram trituradas em moinho de facas e o extrato metanólico foi obtido por maceração em Metanol-Água (70:30).

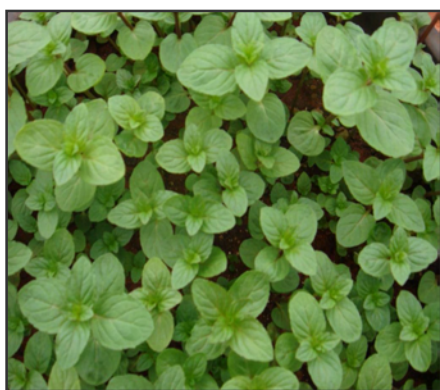
Para obtenção do extrato, 858,10g de material moído foram colocados em metanol (70%) por 48 horas, à temperatura ambiente, e em seguida filtrado a vácuo. O resíduo da planta foi re-extraído, por adição de metanol (70%) e filtrados novamente por 24 horas. A filtração foi repetida três vezes para garantir o esgotamento das substâncias extraídas pelo metanol e, em seguida, os filtrados foram misturados e o total concentrado em um rotaevaporador a 45 °C sob pressão reduzida para a eliminação do metanol, resultando em extratos que foram mantidos em frascos esterilizados, sob refrigeração até o uso. Após a evaporação do solvente, no rotaevaporador, obteve-se 193,80 g de extrato.

A massa seca do extrato em mg mL⁻¹ obtida com a evaporação do solvente (BETONI et al. 2006), foi de 68 mg mL⁻¹, que foi utilizada para determinar as concentrações do extrato adicionado na solução nutritiva para o cultivo da *M. piperita*, constituindo os tratamentos aos quais a espécie foi submetida.

Mentha piperita L.

Preparo das estacas de *Mentha piperita* L.

As estacas de *Mentha piperita* L. foram obtidas de plantas matrizes cultivadas em canteiros no Departamento de Botânica a partir de mudas provenientes do canteiro de plantas medicinais e aromáticas do CPQBA, Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas Biológicas e Agrícolas, Unicamp – Campinas/ SP.



BÚFALO, J. 2010



BÚFALO, J. 2010

Figura 3. Plantas de *M. piperita* cultivadas em canteiros no Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu SP. Botucatu - SP, 2010.

Ramos aéreos das plantas foram selecionados e a partir deles, estacas com 10 cm de comprimento e com os quatros primeiros pares de folhas mantidos foram confeccionadas, desinfetadas posteriormente por imersão rápida em solução de hipoclorito a 2% e em seguida lavadas em água corrente e colocados em bandejas de poliestireno expandido contendo substrato comercial Rendmax[®]. Essas estacas foram mantidas em câmara de nebulização intermitente até o enraizamento.



BÚFALO, J. 2010



BÚFALO, J. 2010

Figura 4. Estacas de *M. piperita* para enraizamento em badeiras de poliestireno expandido. Botucatu - SP, 2010.

Cultivo de *Mentha piperita* em solução nutritiva na ausência ou presença de extrato metanólico de folhas de *Leonurus sibiricus*.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu – SP. As coordenadas geográficas desta localidade são 48° 24' 35" de longitude oeste e 22° 49'10" de latitude sul. A altitude média é de 800 m, referente ao nível do mar.

Após 15 dias, as estacas enraizadas foram transferidas para vasos plásticos pintados externamente com tinta prateada com solução nutritiva nº 2 completa de Hoagland e Arnon (1950). Depois de cinco dias a solução nutritiva foi trocada e junto à nova solução adicionou-se ou não o extrato metanólico de *L. sibiricus* de acordo com os tratamentos a seguir:

Tratamento 1: solução nutritiva completa sem adição do extrato metanólico de *L. sibiricus* (testemunha).

Tratamento 2: solução nutritiva completa com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus*.

Tratamento 3: solução nutritiva completa com 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus*.

Tratamento 4: solução nutritiva completa com 100 mg L^{-1} do extrato metanólico de *L. sibiricus*.

O pH e a condutividade elétrica da solução nutritiva foram avaliados durante todo o experimento. Durante o preparo da solução nutritiva com o extrato metanólico, a avaliação do pH demonstrou que o extrato reduzia seu valor, que foi corrigido com adição de NaOH $1,0 \text{ M}$, segundo recomendações de Huterwall (1986) e mantido entre 5,5 e 6,0. A condutividade elétrica da solução, conforme as recomendações de Carmello (1992), foi mantida entre $1,5$ e $2,5 \text{ mS cm}^{-1}$.

A solução nutritiva, continuamente arejada, foi renovada a cada duas semanas. Sempre que necessário, o volume de solução dos vasos foi completado com água deionizada.

Aos 32 dias após transplante (DAT), as plantas foram transferidas de vasos plásticos com capacidade de $1,5\text{L}$ para vasos com 6L para acomodar todo o sistema radicular presente.

Tratos fitossanitários

Medidas fitossanitárias foram realizadas durante todo o experimento para o controle de doenças e pragas. O controle de pulgão foi realizado com pulverização de água de fumo na concentração de 100 mg L^{-1} .



BÚFALO, J. 2010

Figura 5. Cultivo de *Mentha piperita* L. em solução nutritiva com presença e ausência de extrato metanólico de *L. sibiricus*. Plantas aos 15 dias após transplante DAT (A); aos 30 DAT (B); aos 53 DAT (C) e 91 DAT (D). Botucatu - SP, 2010.

Determinações fisiológicas das plantas de *M. piperita* cultivada em solução nutritiva na presença e ausência de extrato de *L. sibiricus* nas várias colheitas.

Seguindo metodologia utilizada por Boaro (2001), nas colheitas, realizadas aos 25, 45, 65, 85 e 105 DAT, a planta de cada repetição, dos vários tratamentos, após a determinação de seu comprimento foi separada em raízes, caules, pecíolos e lâminas foliares. Todos os órgãos, inclusive as lâminas foliares, após a determinação da área foliar em dm^2 com auxílio de integralizador de área foliar, modelo LI 3100 da LI-COR, foram acondicionados em sacos de papel etiquetados e colocados para secar em estufa com circulação forçada de ar, a uma temperatura entre 60 e 70°C, até obtenção de massa constante.

Após a secagem completa, o material foi pesado em balança analítica Ohaus tipo Analytical Standard com sensibilidade de até 0,1 mg, para determinação de sua massa seca, que junto com a área foliar, foram as variáveis ajustadas e utilizadas para o cálculo dos índices fisiológicos que compõem a análise de crescimento quantitativa (BENINCASA, 2003) e aqueles que refletem a translocação de matéria orgânica.

As seguintes variáveis foram avaliadas:

Comprimento de parte aérea

Definido como a distância, em cm, do colo da planta até o ponto mais alto.

Área foliar

Definida como a somatória das áreas de todas as lâminas foliares da planta.

Massa seca

A massa seca de cada órgão, ou seja, de raízes, caules e pecíolos e lâminas foliares, foi definida como seu peso, expresso em gramas. A massa seca total correspondeu à soma das massas de todos os órgãos existentes, em cada colheita.

Razão de área foliar (RAF)

Esta razão que expressa a área foliar útil para fotossíntese (BENINCASA, 2003) foi obtida a partir de valores instantâneos de área foliar (AF), responsável pela interceptação de energia luminosa, e massa seca total (MST), resultado da fotossíntese, segundo a equação:

$$\text{RAF (dm}^2\text{g}^{-1}\text{)} = \text{AF} / \text{MST}$$

Razão de massa foliar (RMF)

Índice que expressa a fração de matéria seca não exportada das folhas para o resto da planta. A maior ou menor exportação de material da folha pode ser uma

característica genética a qual está sob a influência de variáveis ambientais (BENINCASA, 2003). Esta variável foi calculada pela relação entre massa seca da folha (MSF) e a massa seca total (MST) da planta.

$$RMF = MSF / MST$$

Área foliar específica (AFE)

Reflete o inverso da espessura da folha (BENINCASA, 2003) e foi obtida pela razão entre a área foliar (AF) e a massa seca de folhas (MSF):

$$AFE \text{ (dm}^2\text{g}^{-1}\text{)} = AF / MSF$$

Taxa assimilatória líquida (TAL)

A taxa assimilatória líquida que expressa a taxa de fotossíntese líquida, em termos de massa seca produzida, em gramas, por decímetro quadrado de área foliar, por unidade de tempo (BENINCASA, 2003), foi obtida pela seguinte equação:

$$TAL \text{ (g/dm}^2 \times \text{dia)} = \frac{(b + 2ct).a.e^{(bt + ct^2)}}{a_1.e^{(b_1 + c_1t^2)}}$$

Taxa de crescimento relativo (TCR)

A taxa de crescimento relativo de uma planta ou de qualquer órgão da planta é função de tamanho inicial, isto é, o aumento em gramas, no caso de massa seca, está relacionado ao peso de massa seca no instante em que se inicia o período de observação (BENINCASA, 2003). Essa taxa foi calculada pela equação:

$$TCR \text{ (g/g} \times \text{dia)} = d \ln \frac{a.e^{(bt + ct^2)}}{dt}$$

Distribuição de massa seca

A distribuição de massa seca nos diferentes órgãos ou regiões de interesse foi calculada em porcentagem de massa seca de cada órgão em relação à massa seca total, nas diferentes colheitas. Essa variável permite inferir a translocação orgânica (BENINCASA, 2003).

Trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas utilizando-se equipamento com sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infra-vermelha (*"Infra Red Gas Analyser – IRGA"*, modelo LI-6400, LI-COR).

Tais medidas foram estimadas a partir da diferença entre a concentração de CO₂ e vapor d'água do ar da referência (valor presente na câmara sem a folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), obtendo-se as concentrações de vapor d'água e CO₂ que foram liberados (transpiração – vapor d'água) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas.

As medidas foram realizadas no período das 10:00 às 11:00 horas em dia ensolarado aos 40, 59 e 98 DAT, selecionando-se uma planta de cada repetição, de cada tratamento, nas quais foram escolhidas e padronizadas as 2ª ou 3ª folhas com limbo totalmente expandido.

Aos 103 DAT, realizou-se no período das 8:00 às 16:00 horas, de hora em hora, com dia ensolarado avaliações das trocas gasosas, para a determinação do comportamento das plantas durante o curso do dia.

As características de trocas gasosas analisadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol vapor d'água m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$). A eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) foi determinada por meio da relação entre assimilação de CO₂ e taxa de transpiração (A/E), descrita por Berry e Downton (1983).

Extração e caracterização química dos óleos essenciais

O material vegetal foi coletado e submetido à secagem no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu – SP. A extração e a análise da composição química do óleo essencial desse material vegetal foram conduzidas no Laboratório de Produtos Naturais, do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas – SP, sob supervisão da Profª Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques.

A parte aérea das plantas de *M. piperita* foi coletada aos 77, 94, 108 e 120 DAT, acondicionada em sacos de papel devidamente identificados e colocada para secagem em estufa de circulação forçada de ar, em temperatura controlada a 40°C, realizando-se pesagens diárias, até que se obtivesse massa seca constante. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger (CRAVEIRO et al. 1981) por duas horas, e, posteriormente, armazenado em frascos de vidro transparente devidamente identificados e mantidos em *freezer* a 4°C até a análise da sua composição química. Esta análise foi conduzida em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu, QP-5000), operando a 70 eV, dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste (1,7 mL/min), injetor a 240°C, detector a 230°C e o seguinte programa de temperatura: 60°C - 170°C, 3°C/min; 60°C - 135°C, 5°C/min; 135°C - 240°C, 8°C/min; 170°C - 240°C, 8°C/min e split 1/20.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada por meio da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62. lib), literatura (MCLAFFERTY; STAUFFER, 1989) e índice de retenção (ADAMS, 1995). Os índices de retenção de Kovat's (IR) das substâncias foram obtidos com uma mistura padrão de n-alcanos (C₉H₂₀ - C₂₅H₅₂ Sigma Aldrich, 99%), aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

A composição química do óleo essencial foi apresentada em forma de tabela, com a porcentagem relativa das substâncias obtida por normalização de área.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 4x5, para avaliação do desenvolvimento de *M. piperita* e 4x4, para avaliação de seu óleo essencial. Para as trocas gasosas o esquema fatorial foi 4x3. Foram avaliados quatro tratamentos, nos quais foram cultivadas as plantas de *M. piperita*, caracterizados pela ausência ou presença de extrato metanólico de *L. sibiricus* na solução nutritiva, em diferentes concentrações e diferentes épocas de colheita ou avaliações, de modo a cobrir parte do ciclo do vegetal ou momentos de maior produção de óleo.

Análise estatística

O comprimento de parte área, a área foliar e a massa seca dos diversos órgãos e total das plantas, foram submetidos à análise de variância com transformações logarítmicas e as médias comparadas pelo teste Tukey, segundo especificações de Zar (1999), utilizando-se o nível de 5% de significância. Avaliou-se o fator colheita, ou seja, idade das plantas por meio de análise de regressão e os quatro tratamentos tiveram suas curvas ajustadas. Utilizou-se o programa computacional SAS (The SAS System Release 8.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 1999-2001).

A razão de massa foliar e a distribuição de massa seca para os diferentes órgãos foram avaliados segundo o fator colheita por meio de análise de regressão e os quatro tratamentos tiveram suas curvas ajustadas por exponencial quadrática, utilizando-se o nível de 5% de significância. Utilizou-se o programa computacional SAS.

A área foliar, massa seca de lâminas foliares e massa seca total das plantas foram ajustadas em relação ao tempo, ou seja, idade das plantas, segundo a equação exponencial quadrática, que representa o crescimento da *M. piperita*, conforme demonstram estudos prévios realizados com a espécie, (DAVID et al., 2007; DE FAZIO et al., 2007; VALMORBIDA; BOARO, 2007; VALMORBIDA et al., 2007; VASQUES, 2007) para se proceder à estimativa dos índices fisiológicos razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), taxa assimilatória líquida (TAL) e taxa de crescimento relativo (TCR), pelo programa computacional ANACRES, segundo Portes e Castro Júnior (1991).

Os resultados de trocas gasosas foram avaliados estatisticamente por meio de análise de variância do fatorial utilizando-se o nível de 5% de significância. A comparação entre médias dos tratamentos, constituídos pela ausência e presença, em diferentes concentrações, do extrato metanólico de *L. sibiricus*, foi realizada por meio do teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (ZAR, 1999). Utilizou-se o programa computacional SAS.

As substâncias majoritárias, presentes no óleo essencial da *M. piperita* foram avaliadas por análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (ZAR, 1999), com auxílio do programa computacional SAS.

A Análise dos Componentes Principais (PCA) foi aplicada às substâncias, limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial de *M. piperita* cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de *L. sibiricus*, nas diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT. Para essa análise foi utilizado o *software* XLSTAT - versão 2010 (Addinsoft, França).

O dendrograma foi construído por meio de matriz de dissimilaridade calculada pela distância euclidiana cujo método de aglomeração foi UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages*). O teste de Mantel foi realizado para calcular o índice cofenético. Para essa análise foi utilizado o *software* NTSYSpc, (Numerical Taxonomy System) - Version 2.2.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinações fisiológicas

Comprimento de parte aérea

O comprimento de parte aérea aumentou durante o ciclo de desenvolvimento, até 85 dias após transplante (DAT), não sendo verificadas diferenças nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos (Tabela 1 e Figura 6).

As plantas cultivadas com 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram discreta tendência de maior comprimento ao longo do ciclo e aquelas com 100 mg L⁻¹ discreta tendência de menor comprimento aos 105 DAT (Figura 6). Assim, enquanto a concentração de 50 mg L⁻¹ estimulou o crescimento da parte aérea, em comprimento, a de 100 mg L⁻¹ inibiu.

São poucos os trabalhos que avaliam a influência de substâncias produzidas por outras plantas no crescimento e desenvolvimento das espécies vegetais. A maioria deles avalia a germinação de sementes ou desenvolvimento inicial de plantas.

Os resultados do presente estudo, concordam em parte com os observados por Niakan e Saberi (2009), que verificaram que o extrato aquoso preparado com 5g de folhas em 150 mL de água destilada de eucalipto (*Eucalyptus* sp) aplicado na gramínea (*Phalaris minor*) aumentou o comprimento das raízes e das plântulas, quando as plantas foram

tratadas com 5, 15 e 30% da concentração do extrato. Deve-se destacar, que a presença de 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico no cultivo da *M. piperita* estimulou o comprimento da parte aérea. No entanto, não foram identificados na literatura consultada estudos que avaliassem espécies da família Lamiaceae submetidas a extratos metanólicos de outras espécies da mesma família.

Por outro lado, estudos realizados com *M. piperita* submetida a solução nutritiva completa, discordam, em parte, dos resultados encontrados no presente trabalho. Leal (2001), Valmorbidia et al. (2007) e David et al. (2007) observaram maiores comprimentos de parte aérea quando as plantas de *M. piperita* foram submetidas à solução nutritiva completa, em comparação aos demais tratamentos, enquanto no presente estudo, as plantas cultivadas com solução nutritiva completa e sem extrato o metanólico de *L. sibiricus* apresentaram comprimento igual ou inferior ao das plantas cultivadas com o extrato metanólico. (Figura 6).

Tabela 1. Análise de variância e comparação entre médias de comprimento de parte aérea, em cm, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,11	53,54*	1,60

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)						
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)					Média de tratamentos
	1 ^a (25)	2 ^a (45)	3 ^a (65)	4 ^a (85)	5 ^a (105)	
0 mg L ⁻¹	28,75	62,50	81,25	90,50	102,50	73,10
25 mg L ⁻¹	22,37	59,25	63,75	108,50	98,00	70,37
50 mg L ⁻¹	23,75	55,00	115,00	82,00	116,50	78,45
100 mg L ⁻¹	26,00	64,75	90,50	74,50	99,75	71,10
Média de colheitas	25,22	60,38	87,63	88,88	104,19	

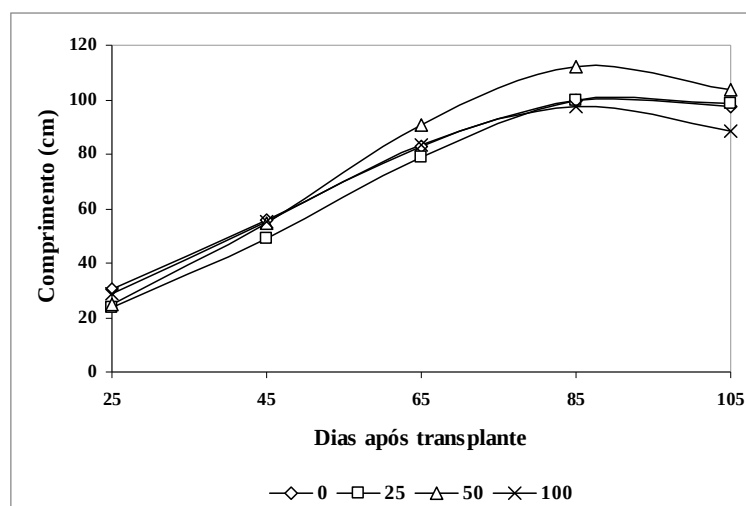


Figura 6. Comprimento de parte aérea de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Área foliar

De maneira geral, a área foliar aumentou durante o ciclo de desenvolvimento e as plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* destacaram-se das demais, apresentando nas últimas colheitas tendência de maiores áreas (Tabela 2 e Figura 7). Assim, a presença do extrato, nessas concentrações, no cultivo da *M. piperita* estimulou o desenvolvimento da área foliar.

Patterson (1981) testou o efeito de dez substâncias fenólicas em concentrações iguais a 10⁻³ e 10⁻⁴M, no crescimento, fotossíntese, relações hídricas e conteúdo de clorofila de soja (*Glycinie max* (L.) Merr.) cultivadas em solução nutritiva durante três semanas. Observaram que das dez substâncias testadas, seis afetaram o crescimento da soja. Os ácidos caféico, *t*-cinâmico, *p*-cumárico, ferúlico, gálico e vanílico na concentração igual a 10⁻³M, reduziram massa seca total, área foliar e altura da planta. Todas as substâncias, exceto o ácido gálico reduziram o número de folhas, enquanto a produção de novas folhas e a expansão das folhas mais velhas apresentaram diminuição na presença dos ácidos *p*-cumárico, ferúlico e vanílico.

O presente estudo está de acordo com os resultados de Patterson (1981) do ponto de vista de que a aplicação de substâncias ativas nos vegetais pode interferir com o seu desenvolvimento, conforme observado no estudo realizado com *M. piperita*.

Leal (2001) e David et al. (2007) ao cultivarem *M. piperita*, em solução nutritiva completa, observaram maior área foliar, em relação a outros tratamentos. No presente estudo, as plantas cultivadas com solução nutritiva completa e ausência de extrato metanólico de *L. sibiricus* não apresentaram maior área.

A determinação da área foliar é importante pois as folhas são responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica por meio da fotossíntese (MAGALHÃES, 1986) e fatores que interferem com seu desenvolvimento podem influenciar o processo fotossintético e o crescimento do vegetal.

Tabela 2. Análise de variância e comparação entre médias de área foliar, em dm^2 , de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,49	36,88*	1,17

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)						
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)					Média de tratamentos
	1 ^a (25)	2 ^a (45)	3 ^a (65)	4 ^a (85)	5 ^a (105)	
0 mg L^{-1}	3,449	8,163	12,223	14,491	19,025	11,470
25 mg L^{-1}	2,634	7,100	15,339	19,284	34,655	15,803
50 mg L^{-1}	2,894	6,732	12,084	16,714	27,544	13,193
100 mg L^{-1}	3,102	10,160	17,360	12,670	21,184	12,896
Média de colheitas	3,020	8,039	14,251	15,790	25,602	

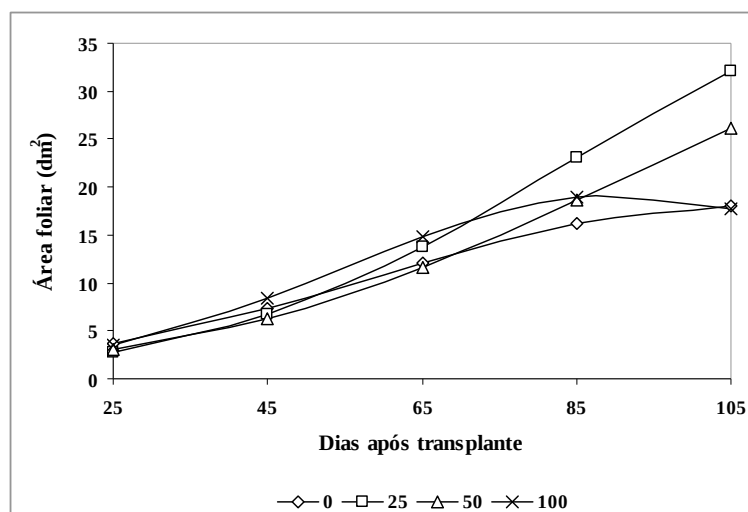


Figura 7. Área foliar de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Massa seca de lâminas foliares

A massa seca de lâminas foliares das plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ aumentou durante o ciclo de desenvolvimento (Tabela 3 e Figura 8). As plantas cultivadas na ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus* e com 100 mg L⁻¹ apresentaram respectivamente, tendência de manter essa variável constante a partir dos 85 DAT e de queda a partir dessa colheita.

A massa seca de lâminas foliares, assim como a área foliar, revelou tendência de maiores diferenças nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos com a idade da *M. piperita* (Figuras 7 e 8). Talvez com o decorrer do tempo a presença do extrato metanólico de *L. sibiricus* no cultivo das plantas de *M. piperita* possa ter provocado acúmulo de substâncias alelopáticas, responsáveis por este comportamento.

Não foram identificados estudos na literatura consultada que permita a comparação dos resultados obtidos no presente estudo.

Tabela 3. Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de lâminas foliares, em g, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,92	81,35*	1,11

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)						
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)					Média de tratamentos
	1 ^a (25)	2 ^a (45)	3 ^a (65)	4 ^a (85)	5 ^a (105)	
0 mg L ⁻¹	1,005	3,386	6,652	7,091	8,241	5,275
25 mg L ⁻¹	0,878	3,117	6,226	7,936	13,610	6,353
50 mg L ⁻¹	0,612	2,797	6,595	7,208	11,670	5,776
100 mg L ⁻¹	0,661	3,231	6,933	8,080	11,357	6,052
Média de colheitas	0,789	3,133	6,602	7,579	11,219	

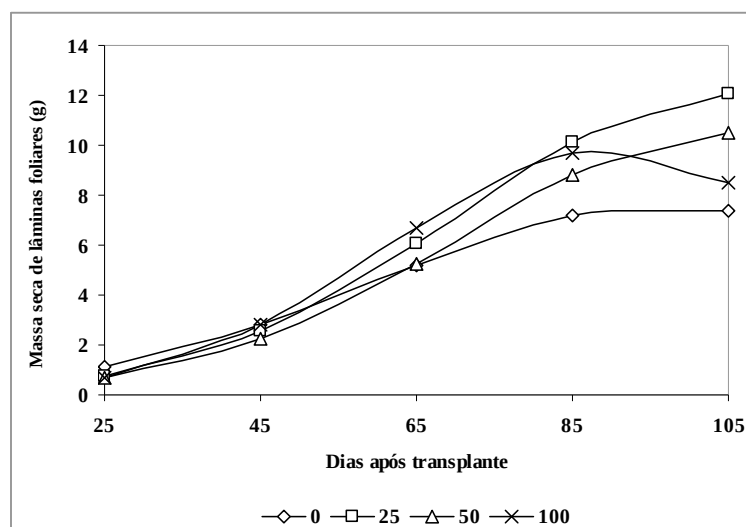


Figura 8. Massa seca de lâminas foliares de *Mentha piperita* L. em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Massa seca de caule mais pecíolos

Embora a massa seca de caule mais pecíolos tenha apresentado, durante o ciclo de desenvolvimento, tendência de manter-se mais elevada nas plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* (Tabela 4 e Figura 9), as diferenças com as plantas submetidas aos diferentes tratamentos foram menores quando esta variável é comparada com as demais avaliadas, o que sugere que as lâminas foliares, por exemplo, foram mais susceptíveis às substâncias presentes no extrato metanólico de *L. sibiricus*, apresentando maior diferença quando se avalia sua matéria seca no final do período de estudo. Os resultados do presente estudo discordam dos trabalhos realizados com *M. piperita* cultivada em solução nutritiva completa. Leal (2001), Valmorbida et al. (2007) e David et al. (2007), obtiveram maior massa seca de caule e pecíolos nas plantas cultivadas na solução nutritiva completa.

Tabela 4. Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de caule mais pecíolos, em g, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,42	128,12*	0,89

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)						
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)					Média de tratamentos
	1 ^a (25)	2 ^a (45)	3 ^a (65)	4 ^a (85)	5 ^a (105)	
0 mg L ⁻¹	0,457	4,314	8,366	8,554	31,084	10,555
25 mg L ⁻¹	0,382	3,336	8,932	12,725	34,217	11,918
50 mg L ⁻¹	0,407	2,901	6,902	11,805	36,987	11,800
100 mg L ⁻¹	0,406	3,484	8,012	11,081	27,307	10,057
Média de colheitas	0,413	3,509	8,053	11,041	32,399	

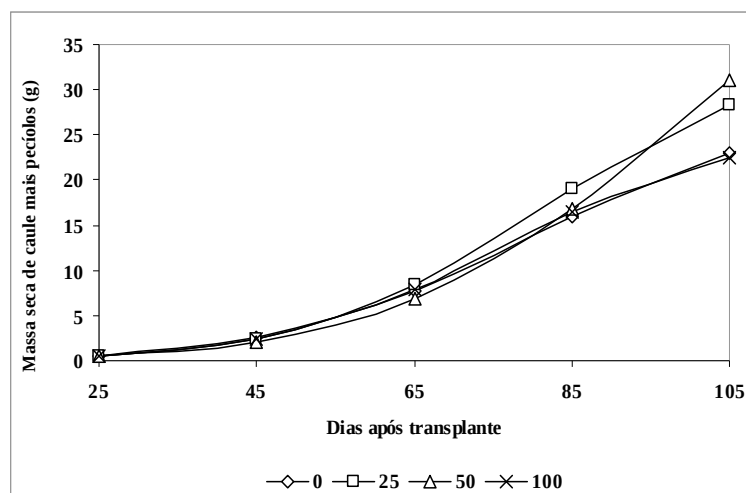


Figura 9. Massa seca de caule mais pecíolos de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Massa seca de raízes

A massa seca de raízes aumentou durante o desenvolvimento, com exceção das plantas cultivadas com solução completa e sem o extrato metanólico de *L. sibiricus*, em que essa variável se manteve praticamente constante após os 85 DAT (Figura 10). Assim, da mesma forma como observado para a massa seca de lâminas foliares e de caule mais pecíolos, as plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ de extrato metanólico também apresentaram os maiores incrementos de massa seca de raízes. Além disso, a massa seca de raízes e a massa seca de lâminas foliares foram às variáveis mais influenciadas pela aplicação do extrato metanólico, quando comparadas a massa seca de caules mais pecíolos.

A aplicação do extrato metanólico de *L. sibiricus* estimulou o desenvolvimento das raízes avaliadas pela massa seca. Os resultados do presente estudo discordam dos observados por Shibu e Andrew (1998) que avaliaram o efeito do composto fenólico juglona (5-hidroxi-1, 4-napthoquinona), produzido pela noqueira preta (*Juglans nigra* L.), no crescimento e fisiologia de plântulas de milho (*Zea mays* L.) e soja (*Glycine max* L. Merr.) cultivadas em solução hidropônica. As concentrações iguais 10⁻⁶, 10⁻⁵, e 10⁻⁴M foram testadas. A substância juglona inibiu o crescimento de raízes e parte aérea. No entanto, o

crescimento da raiz, nas duas espécies, foi mais inibido, e reduções iguais a 86,5 e 99% foram observadas em milho e soja quando a juglona foi utilizada na concentração de 10^{-4} M. Esses resultados discordantes se justificam pela utilização de espécies diferentes, substâncias alelopáticas diferentes e distintos pesos moleculares, além da utilização dessas substâncias em concentrações variáveis entre os estudos.

Outros estudos como os de Funk et al. (1979) e Rietveld (1983) também avaliaram a sensibilidade de diferentes espécies a substância juglona, em cultivos hidropônicos.

Funk et al. (1979) estudaram plântulas de *Larix leptolepis*, *Picea abies*, *Pinus strobus* e *P. sylvestris* cultivadas em solução nutritiva, com concentrações de juglona variando de 10^{-2} a 10^{-10} M. Os autores observaram que concentrações de 10^{-2} e 10^{-3} M de juglona foram letais para as espécies enquanto as concentrações que variaram entre 10^{-4} e 10^{-7} M inibiram o crescimento causando injúrias. No entanto, as soluções contendo as menores concentrações de juglona promoveram o crescimento das plântulas de todas as espécies estudadas e as concentrações que variaram entre 10^{-8} e 10^{-10} M de juglona aumentaram a massa seca total das plantas.

Rietveld (1983) referiu que todas as 11 espécies testadas apresentaram diminuição de altura e acúmulo de massa seca quando concentrações de 10^{-4} e 10^{-5} M foram utilizadas. No entanto, plantas submetidas a menores concentrações não diferiram das submetidas ao tratamento controle.

Embora a juglona, substância fenólica avaliada nos estudos acima referidos não tenha sido testada no presente estudo, os resultados foram apresentados para indicar a influência de uma substância alelopática no desenvolvimento de espécies vegetais. De modo similar, os flavonóides presentes no extrato metanólico de *L. sibiricus*, identificados no estudo de Almeida et al. (2008), podem ter interferido com o desenvolvimento da espécie *M. piperita*.

Tabela 5. Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de raízes, em g, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,91	89,45*	1,32

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)						
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)					Média de tratamentos
	1 ^a (25)	2 ^a (45)	3 ^a (65)	4 ^a (85)	5 ^a (105)	
0 mg L ⁻¹	0,655	5,414	6,570	8,098	18,129	7,773
25 mg L ⁻¹	0,476	4,238	5,338	11,058	36,911	11,604
50 mg L ⁻¹	0,460	4,492	7,401	10,725	33,130	11,242
100 mg L ⁻¹	0,582	3,696	9,227	10,795	26,597	10,179
Média de colheitas	0,543	4,460	7,134	10,169	28,692	

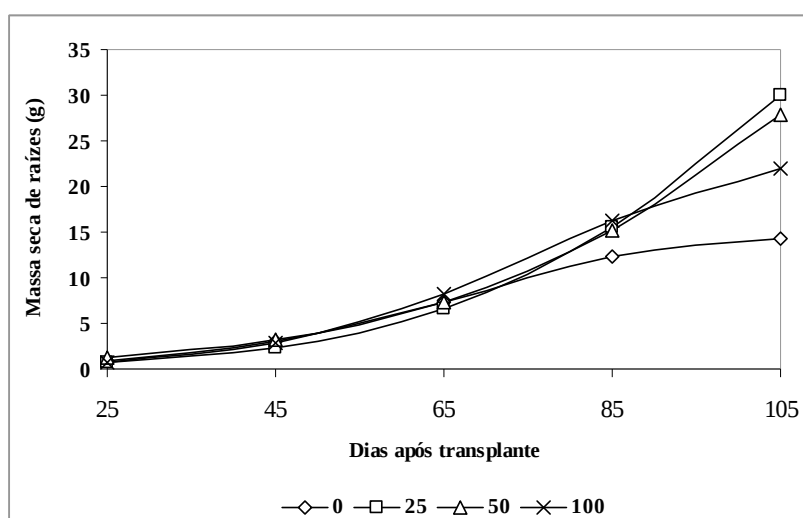


Figura 10. Massa seca de raízes de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Massa seca total

A massa seca total tendeu a aumentar nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos, com destaque para aquelas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹, que apresentaram de maneira geral melhor resposta de massa seca de lâminas foliares, de raízes e de caule mais pecíolos (Tabela 6 e Figura 11).

A utilização do extrato metanólico de *L. sibiricus* na *M. piperita* estimulou de modo geral, seu desenvolvimento, concordando com estudos identificados na literatura como os de Funk et al. (1979) e Rietveld (1983), que utilizaram substâncias alelopáticas no cultivo de várias espécies e demonstraram na maioria dos casos alteração positiva de variáveis que refletem o metabolismo primário das plantas, quando essas substâncias foram empregadas em baixas concentrações da ordem de 10⁻⁸ a 10⁻¹⁰M.

Almeida et al. (2008) estudaram o efeito de extrato metanólico e aquoso em concentrações iguais a 50, 100, 200, 400 e 800 mg L⁻¹ e flavonóides isolados nas concentrações variando entre 10⁻⁴ e 10⁻⁷M de folhas de *L. sibiricus* na germinação das espécies *Lactuca sativa* (Asteraceae), *Raphanus sativus* e *Lepidium sativum* (Brassicaceae). Tanto o extrato metanólico como o aquoso causaram redução na porcentagem de germinação da espécie *Lactuca sativa*. As frações contendo flavonóides inibiram os estágios iniciais de crescimento de raízes de todas as sementes testadas. Os autores observaram ainda que o extrato metanólico, em concentrações baixas, estimulou a germinação de *Raphanus sativus* e *Lepidium sativum*. Além disso, os autores ao apresentarem o perfil cromatográfico dos extratos com a presença de quatro flavonóides majoritários, quercetina-3-O-β-D-galactopiranosil (1-6)-O-α-L-rhamnopiranosideo, quercetina-3-O-β-D-glucopiranosil (1-6)-O-α-L-rhamnopiranosideo (Rutina), quercetina-3-O-β-D-galactopiranosideo (Hiperina) e quercetina-3-O-β-D-glucopiranosideo (Isoquercetrina), concluíram que esses flavonóides, nos dois extratos sugerem atividade biológica semelhante apesar do extrato metanólico ter revelado maior atividade. O extrato metanólico da mesma espécie, *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, foi utilizado no presente estudo para avaliar a sua influência no desenvolvimento da *M. piperita*, apresentando resultados em parte concordantes, quando se considera a ação positiva do extrato, em especial nas dosagens iguais a 25 e 50 mg L⁻¹.

Alguns autores referem que baixas concentrações de compostos alelopáticos podem promover crescimento (MACIAS et al. 1997; WORSHAM, 1997; PARVEZ et al. 2004), o que pode ser devido ao melhor reaproveitamento de substâncias vitais para a célula como enzimas, co-enzimas, transportadores de elétrons e proteínas e elevadas concentrações de flavonóides, por exemplo, podem, por outro lado, atuar como agente hiperpolarizador de membrana, alterando a atuação das bombas ATPases, tornando os flavonóides tóxicos para as células, reduzindo o crescimento (ALMEIDA et al. 2008).

Tabela 6. Análise de variância e comparação entre médias de massa seca total, em g, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas várias colheitas.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,33	151,58*	1,01

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)						
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)					Média de tratamentos
	1 ^a (25)	2 ^a (45)	3 ^a (65)	4 ^a (85)	5 ^a (105)	
0 mg L ⁻¹	2,117	13,115	20,279	22,396	57,454	23,072
25 mg L ⁻¹	1,536	10,691	20,496	31,719	84,737	29,836
50 mg L ⁻¹	1,479	10,190	19,520	29,738	81,787	28,543
100 mg L ⁻¹	1,649	10,411	24,173	29,955	63,167	25,871
Média de colheitas	1,695	11,102	21,117	28,452	71,786	

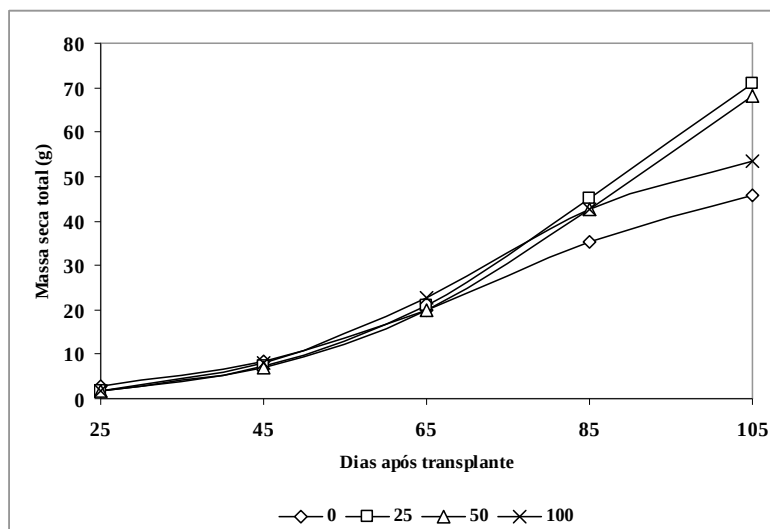


Figura 11. Massa seca total de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Razão de área foliar (RAF)

A RAF expressa a área foliar útil para a fotossíntese, sendo a razão entre a área responsável pela interceptação de energia luminosa e CO₂ e a massa seca total, que é resultado da fotossíntese (BENINCASA, 2003).

A RAF tendeu ao decréscimo durante o desenvolvimento das plantas em todos os tratamentos, mais acentuado até 45 DAT (Figura 12). Esse comportamento da variável coincide com os resultados encontrados na literatura, que referem RAF elevada no início do ciclo vegetativo, período em que ocorre desenvolvimento de folhas para maior captação de luz, decrescendo com a maturação, devido à interferência de folhas superiores sobre as inferiores, caracterizando o auto-sombreamento (PEREIRA; MACHADO, 1987; AGUIAR NETTO, 1997; BENINCASA, 2003). Além disso, as plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹, que apresentaram decréscimo mais rápido da curva, cresceram mais que as outras no mesmo tempo, o que pode ser identificado pelo sombreamento que determinou tal decréscimo. As plantas cultivadas com 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico também apresentaram decréscimo na curva, porém menos acentuado.

Não foram identificados na literatura consultada estudos que avaliam a razão de área foliar de espécies da família Lamiaceae submetidas a extratos metanólicos de *L. sibiricus*. No entanto, os resultados do presente estudo estão de acordo com os encontrados por Leal (2001), Valmorbida (2003) e David et al. (2007) que cultivaram a *M. piperita* em solução nutritiva completa e observaram RAF elevada no início do ciclo vegetativo, que decresceu com o decorrer do tempo, devido à interferência de folhas superiores sobre as inferiores.

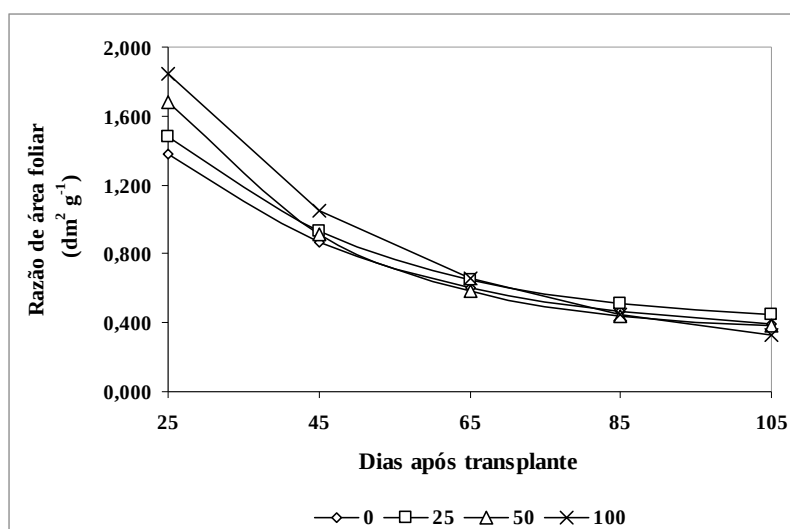


Figura 12. Razão de área foliar de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L^{-1} , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Razão de massa foliar (RMF)

De maneira geral, todos os tratamentos apresentaram redução da razão da massa foliar durante o ciclo de desenvolvimento da cultura (Figura 13), comportamento esperado, uma vez que à medida que as plantas se desenvolvem menor é a fração de fotoassimilados retida nas folhas, que são direcionados para os demais órgãos para garantir seu crescimento (RADFORD, 1967; BENINCASA, 2003).

Os resultados do presente estudo concordam com os de Lugg e Sinclair (1980) que observaram que a razão de massa foliar decresce nas fases de aumento da área foliar. Assim, conforme houve aumento na área foliar durante o desenvolvimento das plantas

de *M. piperita* submetidas aos diferentes tratamentos (Figura 7), a razão de massa foliar diminuiu (Figura 13). No entanto, as plantas cultivadas com 100 mg L^{-1} do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram aumento mais lento da área foliar e diminuição mais lenta da razão da massa foliar, indicando maior retenção de matéria orgânica nas folhas, e portanto, menor translocação dessa matéria do centro de produção para os outros órgãos do vegetal. Já as plantas cultivadas com 50 mg L^{-1} do extrato metanólico apresentaram a razão de massa foliar pouco menos elevada no início da avaliação e decréscimo da curva, demonstrando adequada translocação. As plantas cultivadas com 25 mg L^{-1} do extrato metanólico apresentaram queda menos acentuada da razão de massa de folha do que as cultivadas com 50 mg L^{-1} do extrato.

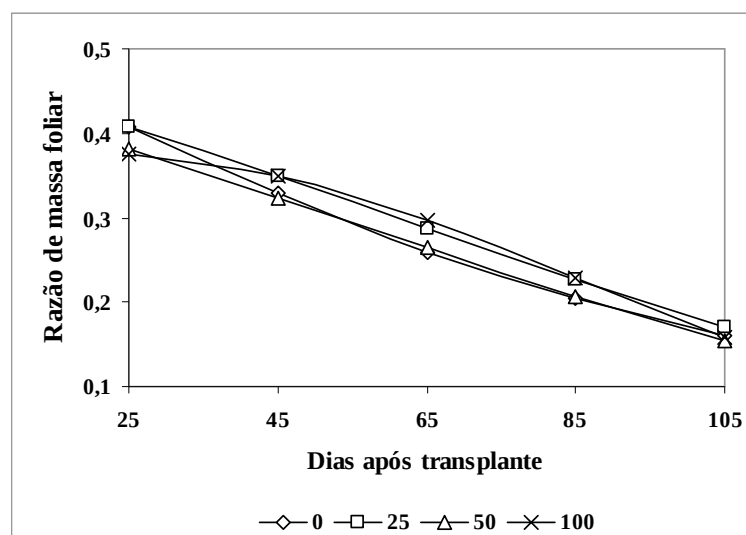


Figura 13. Razão de massa foliar de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L^{-1} , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Área foliar específica (AFE)

De maneira geral, a AFE diminuiu aos 45 DAT, para todos os tratamentos, mantendo-se mais constante após esse período (Figura 14). Segundo Pereira e Machado (1987), em algumas culturas os valores da AFE podem permanecer constantes ou variam pouco durante o período de crescimento vegetativo. Deve ser registrado que as plantas

cultivadas com solução nutritiva completa e ausência de extrato metanólico é que apresentaram essa condição constante mais evidente, enquanto os demais tratamentos interferiram mais com a área foliar específica.

As plantas cultivadas com 100 mg L^{-1} do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram maior variação da área foliar específica, demonstrando no final do período, a partir dos 65 DAT, menores valores, indicativos de folhas mais espessas, provavelmente resultado da menor translocação de matéria orgânica da folha para o resto da planta, conforme revela a razão de massa foliar (Figura 13) e a distribuição de massa seca para folhas (Figura 17), maior no período.

Já as plantas cultivadas com 25 e 50 mg L^{-1} do extrato metanólico apresentaram valores iniciais elevados da área foliar específica e variação mais constante a seguir, o que pode indicar melhor translocação, conforme revela a razão de massa foliar (Figura 13).

Esses resultados indicam que concentrações do extrato metanólico acima de 25 e abaixo de 100 mg L^{-1} podem estimular crescimento.

Os resultados do presente estudo discordam dos encontrados por Leal (2001), Valmorbida (2003) e David et al. (2007) que cultivaram *M. piperita* em solução nutritiva completa e observaram aumento da AFE, durante um período, que diminuiu a seguir.

No entanto, os resultados do presente estudo estão de acordo com Benincasa (2003) e Ferreira (1996) que referem que no início do desenvolvimento os valores da AFE são maiores, devido a folhas pouco espessas, com pouca massa seca e área foliar. Com o desenvolvimento da cultura aumenta a área foliar e a massa seca das folhas, tendendo a queda dos valores dessa variável. É evidente que à medida que há o desenvolvimento da área foliar, ocorre também acúmulo de massa seca nessa folha e como a AFE relaciona a superfície com a massa seca da folha, a tendência é a queda desse índice, logo após a primeira colheita, para estabilizar-se nas colheitas seguintes (RODRIGUES, 1990).

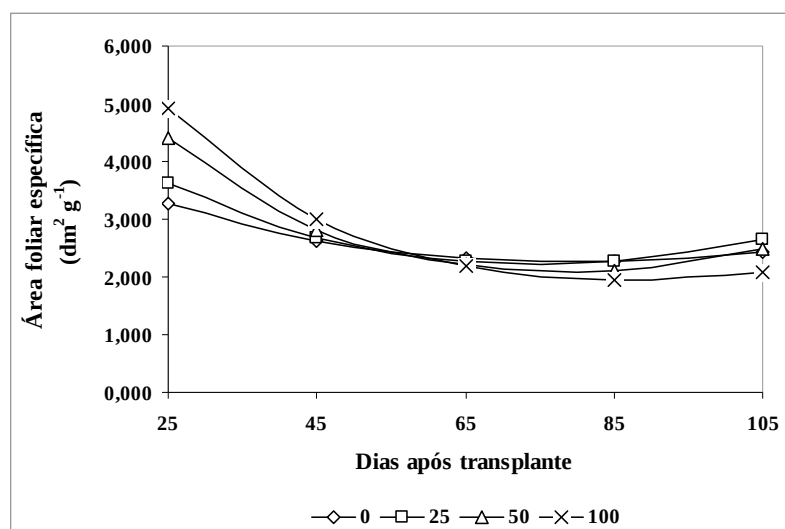


Figura 14. Área foliar específica de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Taxa assimilatória líquida (TAL)

A TAL representa o balanço entre o material produzido pela fotossíntese e o perdido pela respiração, expressando a eficiência das folhas na produção de massa seca, ou seja, é a estimativa da fotossíntese líquida (BENINCASA, 2003). Esse índice aumentou de maneira discreta até os 65 DAT nas plantas submetidas a todos os tratamentos, decrescendo a seguir. No entanto, esta redução foi menos acentuada, o que pode refletir menor eficiência fotossintética, nas plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus*, embora nessas plantas a TAL tenha atingido maiores valores antes de apresentar decréscimo, o que pode estar relacionado com a tendência de aumento da área foliar nessas plantas. As plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram melhor eficiência fotossintética no período, revelado pelo decréscimo mais rápido da curva, o que leva à conclusão de que o uso do extrato metanólico interferiu com a fotossíntese líquida dessas plantas (Figura 15).

Os resultados do presente estudo concordam, em parte, com os registrados por Watson (1952), Milthorpe e Moorby (1974) e Xavier (1976), que também

observaram que a TAL diminui com a idade das plantas, sendo a diminuição resultado do sombreamento das folhas inferiores.

Segundo Watson (1952), a TAL expressa o balanço entre a fotossíntese e a respiração, sendo, portanto, mais influenciada pelas condições climáticas, do que pelo potencial genético do vegetal. O autor ainda refere que, área foliar específica e taxa assimilatória líquida são inversamente proporcionais, pois à medida que a área foliar específica aumenta, ocorre redução na taxa assimilatória líquida, devido ao efeito do autosombreamento. Esses resultados são concordantes, em parte, com o presente estudo, uma vez que, as plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram maiores áreas foliares (Figura 7) e menores taxas assimilatórias líquidas (Figura 15) aos 85 e 105 DAT.

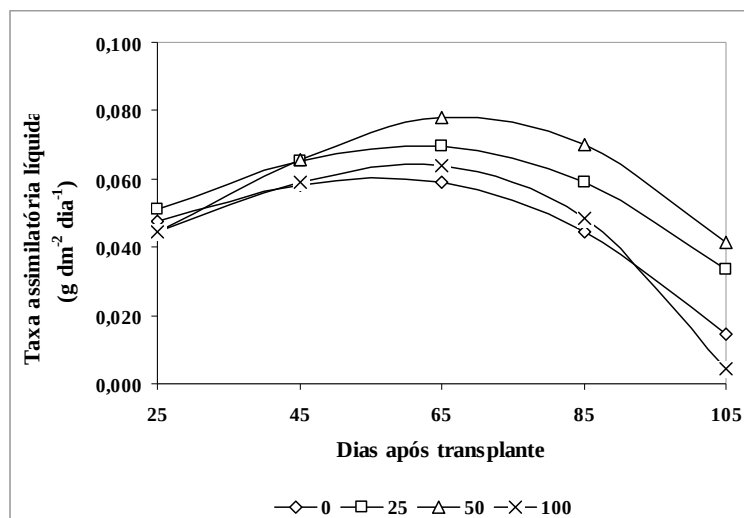


Figura 15. Taxa assimilatória líquida de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Taxa de crescimento relativo (TCR)

A TCR, que expressa crescimento em relação ao material vegetal pré-existente (RADFORD, 1967) diminuiu em todos os tratamentos ao longo do ciclo de desenvolvimento da cultura (Figura 16). Benincasa (2003) afirma que nem sempre são verificadas diferenças evidentes entre tratamentos pela análise de crescimento. No presente

estudo, as plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram curva com maior declínio indicando crescimento mais rápido, ou seja, as plantas apresentaram taxas elevadas no início e mais baixas no final. Assim, a presença dessa concentração do extrato metanólico levou a um crescimento mais rápido, em relação ao material vegetal pré-existente, ou seja, de acordo com Aguiar Netto et al. (2000) maior capacidade da planta em produzir material novo.

No presente estudo foram observados maiores valores da TCR no início do desenvolvimento, nas plantas cultivadas na presença do extrato metanólico, indicando maior acúmulo de material orgânico seguido por diminuição ao longo do tempo, que pode ser explicado, segundo Urchei et al. (2000), pelo incremento da área foliar ao longo do ciclo e consequentemente sombreamento, que aumenta com a idade da planta, além da maior atividade respiratória do material vegetal formado.

Beadle (1987) referiu que a TCR é um índice que permite a avaliação da produção de massa seca de um vegetal, servindo para comparar o desempenho de espécies vegetais ou o efeito de tratamentos a que são submetidas.

Portanto, embora as plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico, tenham apresentado melhor desempenho em relação a taxa assimilatória líquida e taxa de crescimento relativo, revelaram folhas mais espessas e menor translocação da matéria orgânica do centro de produção para o resto da planta. Além disso, essas plantas não apresentaram melhores comprimentos de parte aérea, incrementos de área foliar e de massa seca dos diversos órgãos. Já as cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico cresceram menos, em relação ao material vegetal pré-existente, apresentando, no entanto, melhor desempenho na translocação e conseqüente crescimento em comprimento de parte aérea, massa seca e área foliar.

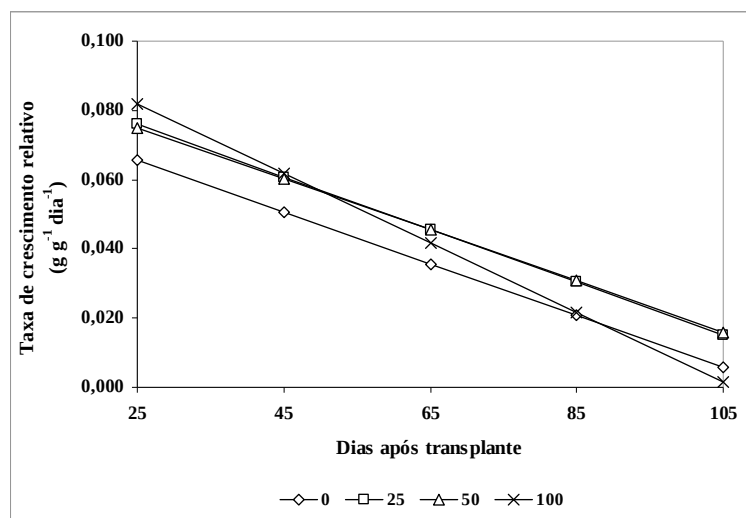


Figura 16. Taxa de crescimento relativo de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Distribuição de massa seca para os diferentes órgãos

As plantas de *M. piperita* apresentaram durante o ciclo, diminuição de distribuição de massa seca para as lâminas foliares (Figura 17), exceção feita às plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico, que apresentaram redução mais lenta, revelando inclusive aumento dessa distribuição de material orgânico para as folhas entre 45 e 85 DAT, indicando maior investimento dessas plantas em fotoassimilados para o desenvolvimento de lâminas foliares, com discreta tendência de maior área foliar (Figura 7) e maior massa seca de lâmina foliar nesse período (Figura 8). A razão de massa seca foliar nessas plantas revela menor translocação de matéria orgânica das folhas para os outros órgãos do vegetal nesse período. As plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram redução da distribuição de massa seca foliar mais lenta, enquanto as cultivadas com 50 mg L⁻¹ revelaram redução mais rápida da distribuição de massa seca para lâminas foliares e melhor distribuição de massa seca para outros órgãos.

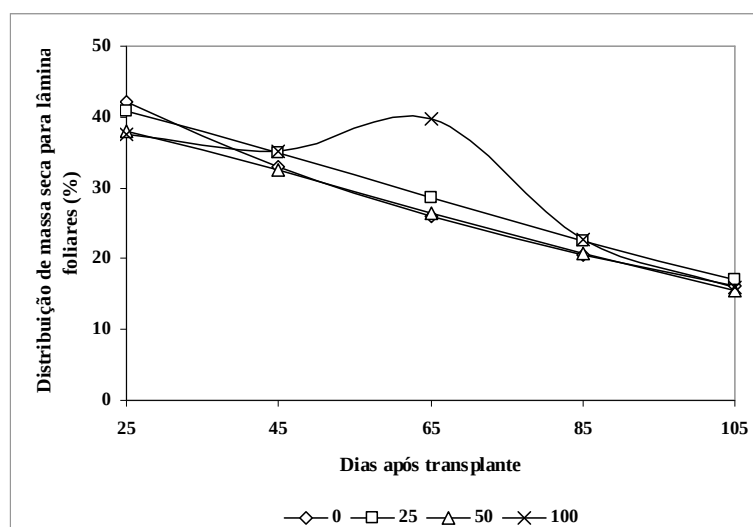


Figura 17. Distribuição de massa seca para lâminas foliares de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

As plantas submetidas aos tratamentos com 50 e 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram aumento da distribuição de massa seca para caule mais pecíolos. Já as cultivadas em solução nutritiva completa e ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram redução da distribuição de matéria seca para caule mais pecíolos aos 65 DAT, que voltou a aumentar nas colheitas seguintes. As plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ apresentaram aumento de distribuição de massa seca para caule mais pecíolos até os 85 DAT, diminuindo a seguir, indicando menor crescimento desse órgão no final do período de avaliação (Figura 18).

Os resultados observados para as plantas cultivadas na ausência do extrato metanólico são concordantes com os observados por David (2007), que cultivou *M. piperita* em solução nutritiva completa e verificou que as plantas apresentaram redução da distribuição de matéria seca para caule mais pecíolos, durante uma colheita, aumentando nas colheitas seguintes.

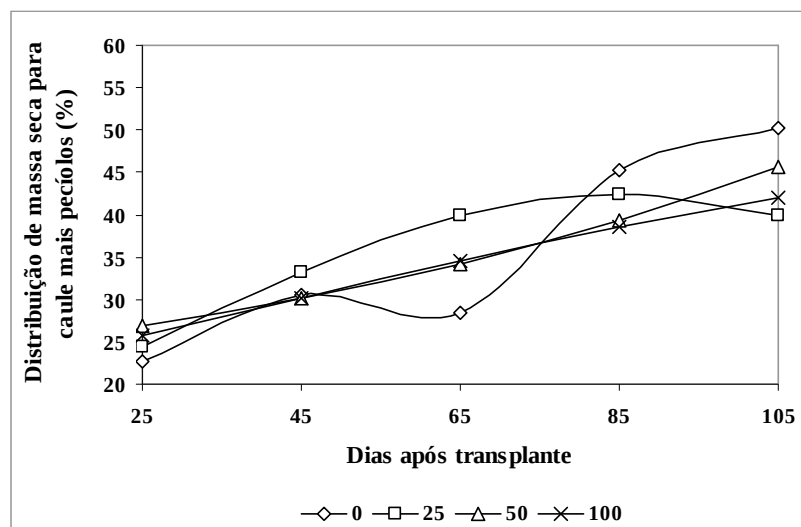


Figura 18. Distribuição de massa seca para caule mais pecíolos de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L^{-1} , nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

A distribuição de massa seca para as raízes revela que as plantas de *M. piperita* cultivadas na ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus* e com 50 mg L^{-1} do extrato metanólico apresentaram aumento até os 65 DAT, diminuindo a seguir. As plantas cultivadas com 25 mg L^{-1} do extrato metanólico apresentaram declínio dessa distribuição de massa até os 45 DAT, aumentando até o final do período de observação. Já as plantas cultivadas com 100 mg L^{-1} do extrato metanólico mantiveram mais constante a distribuição de massa seca para as raízes (Figura 19).

Os resultados do presente estudo, concordam em parte com os observados por David et al. (2007), que ao avaliarem *Mentha piperita* cultivada com solução nutritiva completa, verificaram acentuada tendência de aumento da distribuição da massa seca para as raízes, durante parte do tempo de avaliação.

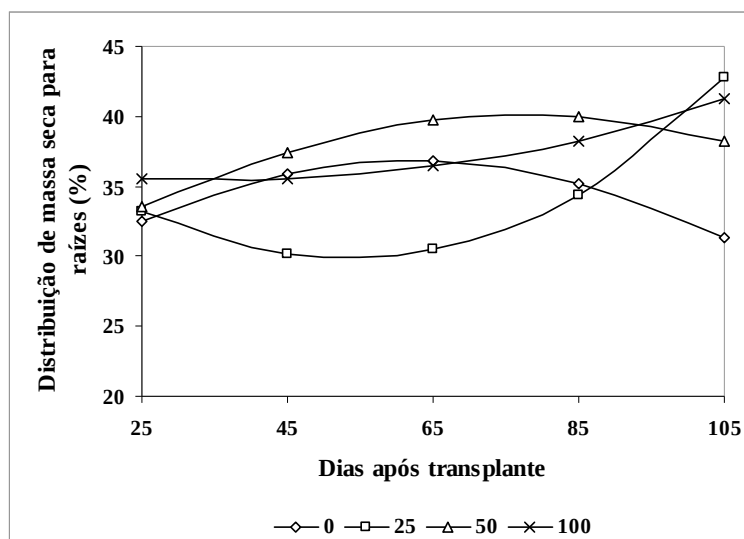


Figura 19. Distribuição de massa seca para raízes de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas várias colheitas. Valores ajustados pela equação exponencial quadrática.

Trocas gasosas

Dados ambientais

A temperatura do ar, o nível de CO₂ e a umidade relativa do ar referentes às avaliações das trocas gasosas realizadas aos 40, 59 e 98 DAT são apresentados na Tabela 7. As figuras 20 e 21 representam a variação da temperatura e da umidade relativa do ar entre às 8:00 e 16:00 horas, período em que foi realizada as trocas gasosas ao longo do dia, aos 103 DAT.

As trocas gasosas dependem das condições internas e externas da planta, que dependem do clima. Sempre que um fator se apresenta em nível mínimo pode se tornar limitante para a absorção do CO₂ por certo tempo (LARCHER, 2006).

Tabela 7. Temperatura, nível de CO₂ e umidade relativa do ar durante avaliações das trocas gasosas, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

	Avaliações (dias após transplante)		
	40	59	98
Temperatura do ar (°C)	30,00	32,04	23,31
CO ₂	389,00	389,44	390,51
Umidade relativa do ar (UR%)	31,99	31,68	41,43

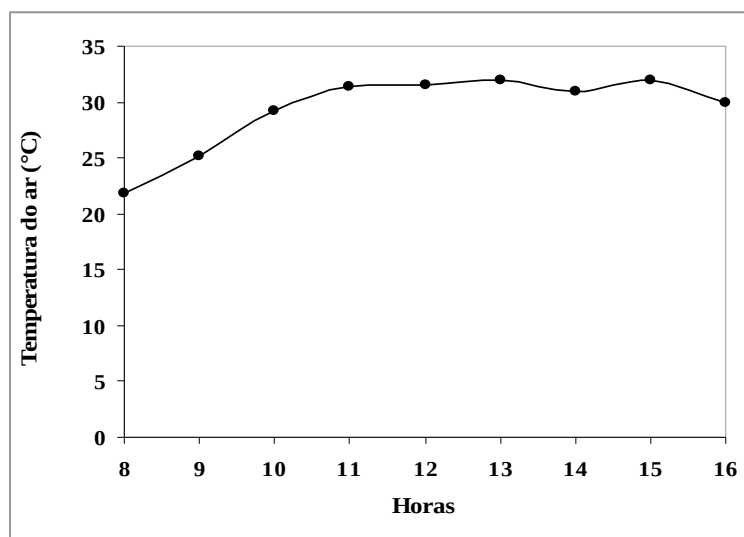


Figura 20. Temperatura do ar (°C) durante avaliação de trocas gasosas de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, no período das 8:00 às 16:00 horas, aos 103 DAT.

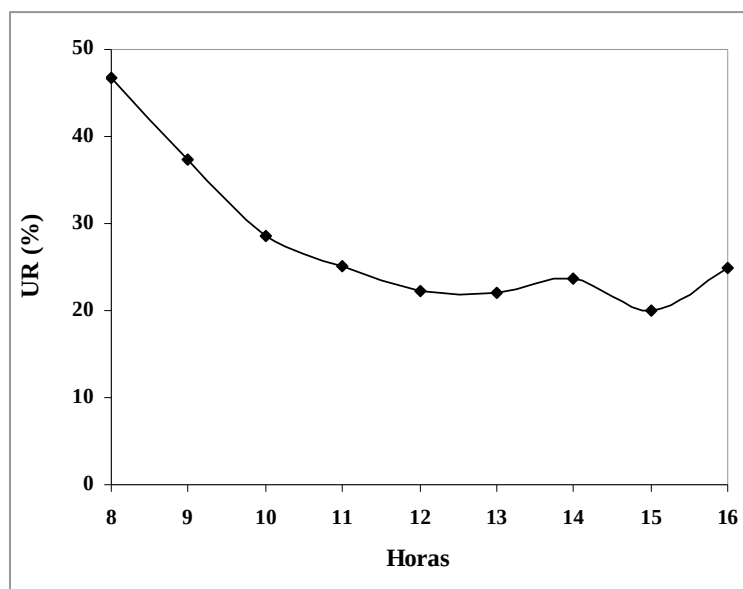


Figura 21. Umidade relativa do ar (UR %) durante avaliação de trocas gasosas de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, no período das 8:00 às 16:00 horas, aos 103 DAT.

Avaliação das trocas gasosas ao longo do dia, aos 103 dias após transplante

A análise do comportamento diário da taxa de assimilação de CO₂ (Figura 22 A) demonstrou que as plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* assimilaram mais CO₂, durante todo o dia, apresentando picos às 9:00 e 14:00 horas.

As plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico e as cultivadas na ausência do extrato revelaram maior abertura estomática, às 9:00 horas, que decresceu com o aumento da temperatura (Figura 20) e diminuição da umidade relativa (Figura 21), exceto às 14:00 horas, em que a condutância estomática apresentou discreto aumento (Figura 22 B). O fechamento estomático, nas horas de temperaturas mais elevadas, é uma estratégia adotada para diminuir a perda de água, pois apesar dos estômatos reagirem a várias influências, o movimento estomático obedece principalmente ao controle dos circuitos do CO₂ e da H₂O. Quando a pressão parcial de CO₂ nos espaços intercelulares diminui devido ao consumo de CO₂ pelo processo de fotossíntese, os estômatos abrem (LARCHER, 2006).

As plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram entre 9:00 e 13:00 horas maiores taxas de transpiração, com maior perda de água, devido a maior abertura estomática, nesse período (Figura 22 C).

Maior eficiência do uso da água foi verificada até 9:00 horas, de maneira geral, com destaque para as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato, que apresentaram maior economia de água (Figura 22 D).

A concentração interna de CO₂ na folha (Figura 22 E) foi semelhante para todas as plantas cultivadas com e sem o extrato metanólico, que apresentaram taxas mais elevadas nas primeiras horas do dia.

Não foram encontrados dados na literatura consultada sobre o curso diário de trocas gasosas de plantas medicinais cultivadas na presença de extratos alelopáticos.

Portanto, de maneira geral, a avaliação diária da *M. piperita* cultivada na presença de 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* demonstrou assimilação de CO₂, condutância estomática, eficiência do uso da água e taxa de transpiração concordantes com os picos de assimilação que ocorreram às 9:00 e 14:00 horas. Desse modo, as avaliações fotossintéticas das plantas submetidas a esses tratamentos, podem ter ocorrido devido ao acesso de CO₂ atmosférico às células fotossintéticas do mesófilo por meio da abertura estomática e, portanto, variações na condutância estomática afetaram diretamente a taxa de assimilação de CO₂ e a transpiração (RASCHKE, 1979; FARQUHAR; SHARKEY, 1982).

As plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram baixa assimilação de CO₂, condutância estomática e eficiência do uso da água, demonstrando elevada taxa de transpiração, o que indica que essa concentração revelou-se prejudicial para as trocas gasosas da *M. piperita*. Essas plantas apresentaram menor translocação de matéria orgânica, mantida em grande parte na folha, o que resultou em menor produção de massa seca total.

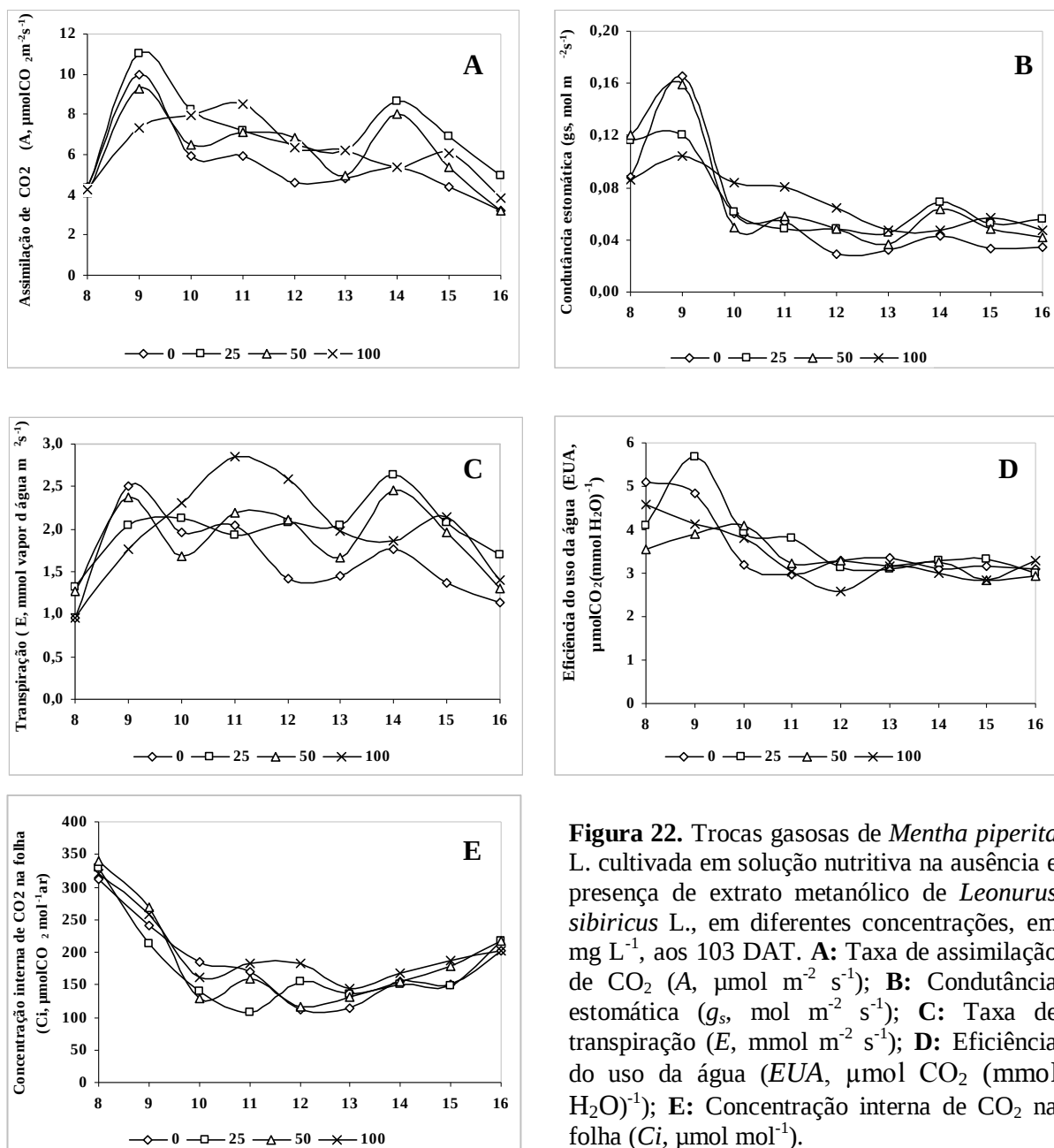


Figura 22. Trocas gasosas de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L^{-1} , aos 103 DAT. **A:** Taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); **B:** Condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); **C:** Taxa de transpiração (E, $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); **D:** Eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$); **E:** Concentração interna de CO₂ na folha (Ci, $\mu\text{mol mol}^{-1}$).

Avaliação das trocas gasosas ao longo do desenvolvimento

Assimilação de CO₂ (A)

Na primeira avaliação, realizada aos 40 DAT, não foram observadas diferenças de assimilação de CO₂ entre as plantas de *M. piperita* cultivadas nos diferentes tratamentos (Tabela 8 e Figura 23). A maior taxa de assimilação de CO₂ ocorreu aos 59 DAT, nas plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* e a menor nas cultivadas com 100 mg L⁻¹. Aos 98 DAT, as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram a menor assimilação de CO₂ que não diferiu da assimilação das plantas cultivadas com 50 e 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico.

As plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico, apresentaram maior taxa de assimilação de CO₂ aos 59 DAT (Figura 23). Esse resultado pode, em parte, estar relacionado com a produção de massa seca total nessas plantas, que teve tendência de aumento ao longo do desenvolvimento (Figura 11). No entanto, as plantas cultivadas sem o extrato metanólico apresentaram maior assimilação de CO₂ aos 98 DAT, o que não resultou em ganho de massa seca total (Figura 11). Segundo Larcher (2006) vários fatores interferem no rendimento da produção, assim não compete somente ao ganho de CO₂ e ao incremento de biomassa, mas também ao controle hormonal da partição dos assimilados e ao padrão específico de crescimento da planta. Para o desenvolvimento harmônico da planta como um todo é essencial que cada órgão e tecido receba a quantidade necessária de assimilados e que esse abastecimento seja efetuado no tempo correto (LARCHER, 2006).

No estudo realizado por Shibu e Andrew (1998) avaliou-se o efeito da juglona, produzida pela noqueira preta (*Juglans nigra* L.) em concentrações iguais a 10⁻⁶, 10⁻⁵ e 10⁻⁴M, na fotossíntese de plântulas de milho (*Zea mays* L.) e soja (*Glycine max* L. Merr.), cultivadas em solução hidropônica. A taxa de fotossíntese avaliada nas plantas com três e quatro dias de idade foi afetada, em ambas as espécies, pela juglona e maior redução na taxa fotossintética foi verificada com a concentração de 10⁻⁴M. Esses resultados estão de acordo, em parte, com os do presente estudo uma vez que a literatura refere que aleloquímicos interferem com a fotossíntese (PATTERSON, 1981; EINHELLING, 1986; HEJL et al. 1993).

Tabela 8. Análise de variância e comparação entre médias da assimilação de CO₂ (A), de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Época	Interação Época x Tratamento
7,86*	6,64*	5,87*

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Tratamentos	Época (dias após transplante)			Médias de tratamentos
	1 ^a (40)	2 ^a (59)	3 ^a (98)	
0 mg L ⁻¹	13,2 Aa	12,0 Aab	12,9 Aa	12,70
25 mg L ⁻¹	12,2 ABa	14,8 Aa	9,8 Bb	12,25
50 mg L ⁻¹	10,4 Aa	13,2 Aab	11,0 Aab	11,55
100 mg L ⁻¹	11,0 Aa	10,1 Ab	10,2 Aab	10,43
Médias das épocas	11,7	12,5	11,0	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das épocas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas em cada tratamento.

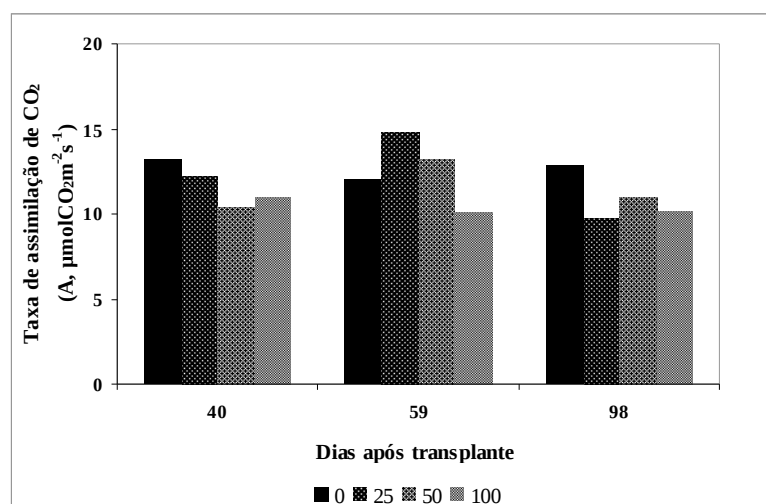


Figura 23. Assimilação de CO₂ (A), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Transpiração (E)

Aos 59 DAT, as plantas de *M. piperita* submetidas aos diferentes tratamentos apresentaram as maiores taxas de transpiração e menores foram observadas aos 98 DAT (Tabela 9 e Figura 24). Esse comportamento pode ser devido à última leitura (98 DAT) ter sido realizada em junho, época de queda de temperatura e diminuição das atividades metabólicas. Segundo Larcher (2006), fatores externos influenciam a transpiração na medida em que alteram a diferença de pressão de vapor entre a superfície da planta e do ar que a envolve. A transpiração, portanto, intensifica-se com a diminuição da umidade relativa e com o aumento da temperatura do ar, condição que pode ser confirmada na Tabela 7.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos nas avaliações realizadas aos 40 e 98 DAT (Tabela 9). No entanto, pode ser observada discreta tendência de diminuição ou de manter-se semelhante ao tratamento testemunha, a transpiração das plantas submetidas ao extrato metanólico. Aos 59 DAT, as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ de extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram a maior taxa de transpiração que não diferiu das cultivadas com 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico, devido ao maior grau de abertura dos estômatos nessas plantas (Figura 26).

A literatura aborda o efeito de aleloquímicos nas trocas gasosas de espécies vegetais. No entanto, não foram encontrados estudos, que relacionem a presença de extratos metanólicos no cultivo de espécies medicinais e sua influência nas trocas gasosas.

Yu et al. (2003) estudaram efeitos de extrato aquoso de exsudatos radiculares de pepino (*Cucumis sativus*), ou derivados dos ácidos benzóico e cinâmico na fotossíntese e atividade enzimática de mudas de pepino cultivadas em solução nutritiva. Após 6 horas de tratamento as avaliações de fotossíntese foram realizadas, observando-se que os extratos reduziram a taxa de fotossíntese (P_{NET}) quando aplicadas em concentrações mais elevadas, reduzindo também, a concentração intercelular de CO₂ (C_i), a transpiração (E) e a condutância estomática (g_s). Além disso, os autores concluíram que todos os ácidos testados reduziram a P_{NET} , E , g_s e C_i , embora o ácido vanílico e sinápico não tenham interferido com P_{NET} . O ácido salicílico reduziu 51 a 87% a E e de 7 a 50% a P_{NET} , sendo verificadas maiores atividades dos ácidos benzóico e cinâmico.

Shibu e Andrew (1998) observaram redução de 38 e 66% na transpiração de milho e soja, respectivamente, com a utilização de 10^{-4} M de juglona, concluindo que seus efeitos diretos e indiretos sobre a fotossíntese podem causar reduções no crescimento das plantas.

Tabela 9. Análise de variância e comparação entre médias da transpiração (E), de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Época	Interação Época x Tratamento
2,19	98,52*	4,71*

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Tratamentos	Época (dias após transplante)			Médias de tratamentos
	1 ^a (40)	2 ^a (59)	3 ^a (98)	
0 mg L ⁻¹	4,27 ABa	5,41 Ab	2,87 Ba	4,18
25 mg L ⁻¹	3,81 Ba	7,21 Aa	2,39 Ba	4,47
50 mg L ⁻¹	3,01 Ba	6,06 Aab	2,89 Ba	3,98
100 mg L ⁻¹	3,84 ABa	4,98 Ab	2,61 Ba	3,81
Médias das épocas	3,70	5,90	2,70	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das épocas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas em cada tratamento.

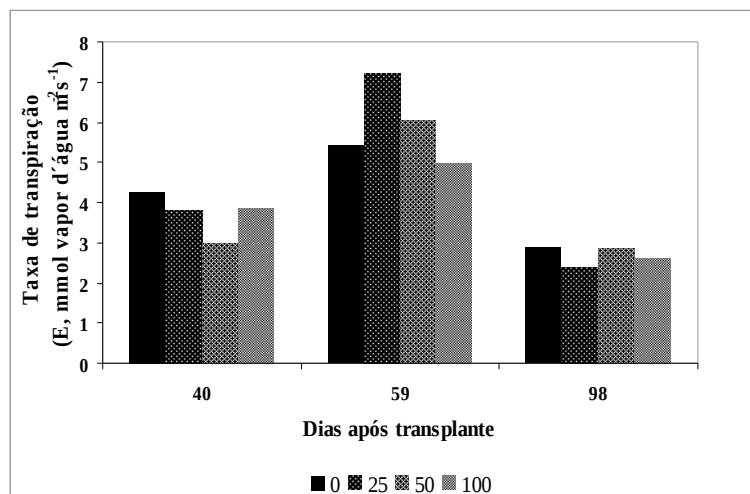


Figura 24. Transpiração (E), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L^{-1} , nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Concentração interna de CO_2 (C_i)

De maneira geral as plantas de *M. piperita* submetidas aos vários tratamentos, não apresentaram diferenças na concentração interna de CO_2 na folha (Tabela 10 e Figura 25). Aos 40 DAT, houve apenas tendência de diminuição da concentração interna de CO_2 nas folhas das plantas cultivadas com extrato metanólico de *L. sibiricus*. Apesar do acúmulo de CO_2 nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos, a taxa fotossintética foi elevada o que segundo Larcher (2006), se deve ao fato da carboxilação estar próxima à saturação, ou seja, o aumento da disponibilidade de CO_2 promoveu a assimilação deste nas plantas cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico (Figura 23).

Os resultados do presente estudo, estão de acordo, com os observados por Yu et al. (2003), que concluíram que exsudatos radiculares e extrato aquoso de raízes de pepino e derivados dos ácidos benzóico e cinâmico reduziram, a concentração interna de CO_2 .

Tabela 10. Análise de variância e comparação entre médias da concentração interna de CO₂ (Ci), de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Época	Interação Época x Tratamento
0,46	23,22*	0,99

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Tratamentos	Época (dias após transplante)			Médias de tratamentos
	1 ^a (40)	2 ^a (59)	3 ^a (98)	
0 mg L ⁻¹	227,33 Aa	260,50 Aa	253,00 Aa	246,94
25 mg L ⁻¹	211,00 Ba	282,67 Aa	246,00 ABa	246,56
50 mg L ⁻¹	181,00 Ba	271,00 Aa	253,67 Aa	235,22
100 mg L ⁻¹	205,03 Aa	270,33 Aa	256,00 Aa	243,79
Médias das épocas	206,09	271,13	252,17	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das épocas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas em cada tratamento.

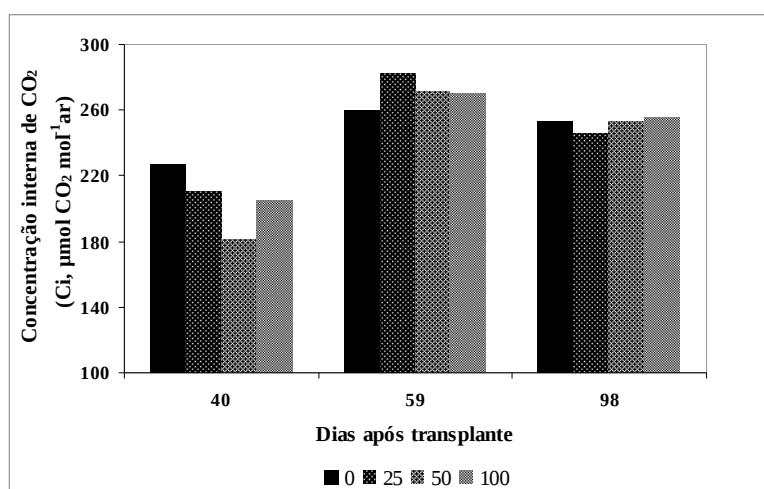


Figura 25. Concentração interna de CO₂ (Ci), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Condutância estomática (g_s)

A comparação de médias entre tratamentos, que pode ser observada na Tabela 11, revela que os tratamentos não apresentaram diferenças na condutância estomática quando as avaliações foram realizadas aos 40 DAT e 98 DAT. No entanto, aos 59 DAT, as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram a maior condutância estomática, não diferindo das cultivadas com 50 e 100 mg L⁻¹.

O acesso de CO₂ atmosférico às células fotossintéticas do mesofilo ocorre por meio da abertura estomática e, portanto, variações na condutância estomática podem afetar tanto a assimilação de CO₂ (HABERMANN, 2004) como a transpiração (RASCHKE 1979; FARQUHAR; SHARKEY 1982). Dessa forma, a análise conjunta da assimilação de CO₂, da transpiração, e da condutância estomática aos 59 DAT demonstra que as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ apresentaram maiores valores para essas variáveis, sendo um indicativo de que essas plantas mantiveram seus estômatos abertos, não restringindo a entrada de CO₂ e perda de água e consequente assimilação de CO₂.

As plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico aos 59 DAT apresentaram menor assimilação de CO₂ (Figura 23), revelando baixa condutância estomática (Figura 26) e menor transpiração (Figura 24). A elevada concentração de carbono interno na câmara subestomática nas lâminas foliares dessas plantas indica que nem todo o CO₂ absorvido foi utilizado na síntese orgânica, acumulando-se. A mesma avaliação pode ser feita para as plantas cultivadas com 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico aos 98 DAT.

Esses resultados diferem, em parte, dos verificados por Patterson (1981), que observou redução de 59% da fotossíntese líquida, nas plantas submetidas a 10⁻³M de ácido ferúlico e de 80% naquelas com 10⁻³M de ácido gálico. O autor associou tais reduções à diminuição na condutância estomática, que variou de 25% com a vanilina a 50% com os ácidos gálico e *t*-cinâmico. Além disso, as reduções nas taxas fotossintéticas causadas pelos compostos testados inibiram também a produção de matéria seca e a taxa de produção de matéria seca por unidade de área foliar das plantas.

Tabela 11. Análise de variância e comparação entre médias da condutância estomática (g_s) de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Época	Interação Época x Tratamento
2,23	25,88*	5,71*

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Tratamentos	Época (dias após transplante)			Médias de tratamentos
	1 ^a (40)	2 ^a (59)	3 ^a (98)	
0 mg L ⁻¹	0,170 Aa	0,223 Ab	0,201 Aa	0,198
25 mg L ⁻¹	0,143 Ba	0,413 Aa	0,139 Ba	0,232
50 mg L ⁻¹	0,100 Aa	0,276 Aab	0,169 Aa	0,182
100 mg L ⁻¹	0,168 Aa	0,202 Aab	0,167 Aa	0,179
Médias das épocas	0,145	0,279	0,169	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das épocas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas em cada tratamento.

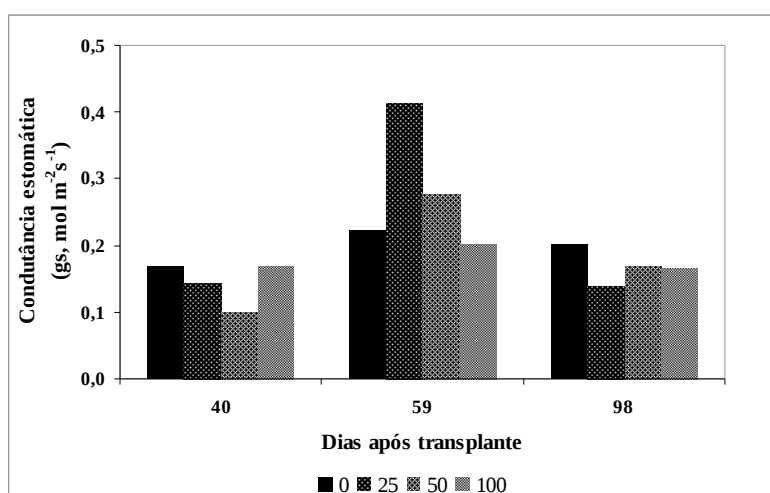


Figura 26. Condutância estomática (g_s), avaliada entre 9:00 e 10:00 horas, de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, nas avaliações realizadas aos 40, 59 e 98 dias após transplante.

Composição química do óleo essencial

A avaliação do rendimento do óleo essencial das plantas de *M. piperita* cultivada na presença e ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, não foi realizada uma vez que a quantidade extraída foi apenas suficiente para avaliar a sua composição química. O que pode ter ocorrido, em função da época em que o experimento foi conduzido e o período compreendido entre março e junho, pode não ter sido o melhor para a produção do óleo essencial. Valmorbida (2003) cultivou *M. piperita* entre dezembro e fevereiro, em solução nutritiva completa, obtendo volume igual a 57 L ha⁻¹ aos 60 dias após o transplante (DAT), valor que aumentou para 147 L ha⁻¹ aos 105 DAT. Leal (2001) ao cultivar plantas de *M. piperita* em solução nutritiva completa, no período compreendido entre janeiro e março e colhidas aos 70 DAT, verificou rendimento de óleo essencial igual a 141,6 L ha⁻¹. Portanto, as condições ambientais podem ter influenciado a produção do óleo essencial de *M. piperita* cultivada na presença e ausência de extrato metanólico de *L. sibiricus*.

A análise cromatográfica do óleo essencial da *M. piperita* cultivada na ausência e na presença de extrato metanólico de *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, revelou a presença de dezessete substâncias e dentre as identificadas houve a predominância dos terpenos mentona, mentofurano, mentol, pulegona e acetato de mentila (Tabela 12 e Figura 27).

As substâncias identificadas que fazem parte da rota metabólica do óleo essencial da *M. piperita*, foram limoneno, mentona, mentofurano, mentol, *iso*-mentol, *neo*-mentol, pulegona e acetato de mentila (Figura 28). A biossíntese do mentol envolve oito etapas tendo como precursor o geranil difosfato nos plastídeos (CROTEAU et al. 2005; RIOS-ESTEPA et al. 2008).

Durante a síntese do óleo essencial de *M. piperita* a conversão do geranil difosfato a limoneno é catalisada pela ação da limoneno sintase, localizada no leucoplasto. A seguir, ocorre a translocação do limoneno para o retículo endoplasmático, onde é catalisado pela ação da limoneno 3- hidroxilase que produz *trans*-isopiperitenol, importado para a mitocôndria e oxidado a *trans*-isopiperitenona por ação da *trans*-isopiperitenol desidrogenase. Por ação da *trans*-isopiperitenona redutase ocorre formação da *cis*-isopulegona, que em seguida por isomerização gera a pulegona no citosol. A pulegona

sintetiza a mentona e *iso*-mentona, catalisadas pela ação da enzima citosólica bifuncional, pulegona redutase. A partir da mentona ocorre a formação do *neo*-mentol pela ação da *neo*-mentol redutase e mentol, pela mentona redutase e a partir da *iso*-mentona ocorre a formação do *iso*-mentol pela ação da *neo*-mentol redutase e *neo*-isomentol pela mentona redutase (CROTEAU et al., 2005) (Figura 28).

O mentofurano é formado no retículo endoplasmático a partir da pulegona pela ação da mentofurano sintase (RIOS-ESTEPA et al. 2008). O mentol pode sofrer esterificação e ser convertido em acetato de mentila (MURRAY, 1972). Pulegona e mentofurano são compostos que podem acumular-se em condições adversas (RIOS-ESTEPA et al. 2008) e são considerados compostos tóxicos pelo Comitê de Peritos de Substâncias Aromatizantes (ZHELJAZKOV et al. 2010).

O composto majoritário presente no óleo essencial de *M. piperita* cultivada na ausência e presença do extrato metanólico de *L. sibiricus* foi o mentol, com porcentagem entre 34 e 36% do óleo essencial (Tabela 12). De acordo com Court et al. (1993) os óleos de *M. piperita* de alta qualidade são caracterizados por maior composição dos monoterpenos, mentol e mentona. No presente estudo foram obtidos porcentagens médias iguais a 35,20 % de mentol e 9,35% de mentona, e as substâncias pulegona e mentofurano iguais a 3,64 e 8,33%. Sob condições ambientais adversas, como baixa luminosidade, déficit hídrico e altas temperaturas ocorre o acúmulo de pulegona e mentofurano tornando um óleo de qualidade insatisfatória (BURBOTT; LOOMIS, 1967; CLARK; MENARY, 1980).

Tabela 12. Composição do óleo essencial (%), de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações. Médias das colheitas realizadas aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Substâncias (%)	Tratamentos				Média (%)	IRcal	IRlit
	0 mg L ⁻¹	25 mg L ⁻¹	50 mg L ⁻¹	100 mg L ⁻¹			
N.I.*	0,32	0,20	0,09	0,19	0,20	945	-
1-octen-3-ol	2,15	0,87	0,66	0,93	1,15	972	979
n-octanol	0,57	0,64	0,53	0,58	0,58	991	998
limoneno	0,86	0,69	1,27	1,23	1,01	1026	1029
1,8 cineol	0,66	0,79	1,36	1,08	0,97	1029	1031
terpineno	0,81	0,38	0,29	0,38	0,47	1054	1059
N.I.*	0,84	0,53	0,55	0,58	0,62	1064	-
nonanal	0,18	0,20	0,17	0,40	0,24	1101	1100
neo-allo-ocimeno	0,58	0,58	0,76	0,94	0,71	1145	1144
mentona	9,15	11,45	8,35	8,46	9,35	1151	1152
mentofurano	7,79	8,96	8,46	8,12	8,33	1159	1164
neo-mentol	0,36	0,27	0,54	0,92	0,52	1161	1165
mentol	35,75	36,08	34,96	34,02	35,20	1173	1171
terpinen-4-ol	1,58	0,86	0,81	0,83	1,02	1176	1174
iso-mentol	0,48	0,45	0,45	0,52	0,47	1181	1182
pulegona	3,52	3,92	3,59	3,52	3,64	1236	1237
piperitona	0,30	0,53	0,25	0,28	0,34	1251	1252
acetato de neo-mentila	1,34	0,91	1,28	1,53	1,26	1273	1273
N.I.*	1,82	2,04	3,43	2,03	2,33	1284	-
acetato de mentila	19,75	15,29	17,49	23,42	18,98	1292	1294
iso-acetato de mentila	0,73	0,67	0,81	1,01	0,80	1306	1304
N.I.*	0,33	0,26	0,46	0,36	0,35	1311	-
Classe química das substâncias (%)							
Ácool	41,55	39,95	39,30	38,88	39,92	-	-
Aldeído	0,18	0,20	0,17	0,40	0,24	-	-
Cetonas	12,96	15,91	12,19	12,26	13,33	-	-
Ésteres	21,81	16,87	19,57	25,96	21,05	-	-
Éter	7,79	8,96	8,46	8,12	8,33	-	-
Hidrocarbonetos	2,24	1,65	2,32	2,55	2,19	-	-

*N.I.: substância não identificada pelas bibliotecas consultadas e índice de retenção. IRcal = índice de retenção de Kovats calculado; IRlit = índice de retenção de Kovats da literatura.

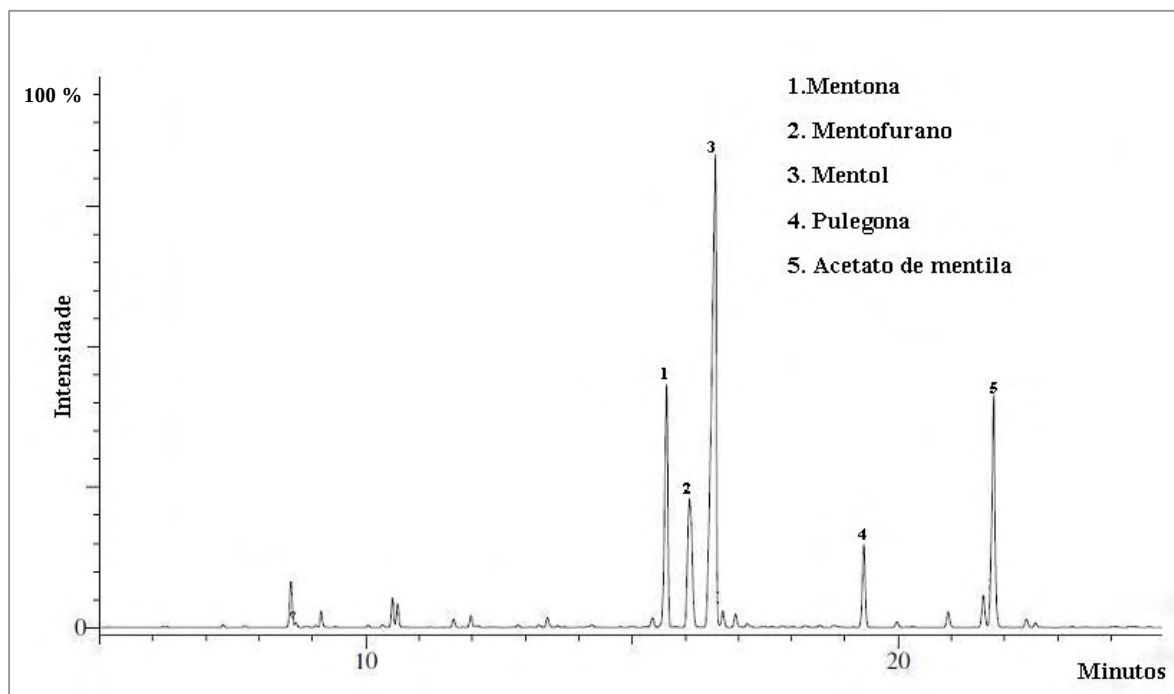


Figura 27. Cromatograma de Íons Totais (CG-EM) e composição das substâncias majoritárias presente no óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com 50 mg L⁻¹ de metanólico de *Leonurus sibiricus* L., aos 94 DAT.

No entanto, diversos trabalhos encontrados na literatura abordam a composição do óleo essencial de *M. piperita* submetida a diferentes condições ambientais. Segundo Maia (1998) variações químicas e físicas dos componentes do óleo essencial de menta pode ocorrer por se tratar de uma mistura de compostos de diversas naturezas que a planta acumula a taxas específicas. Dessa forma, os teores das substâncias presentes no óleo essencial, são muito dependentes de fatores ambientais e plantas cultivadas sob condições distintas podem conter óleos com características diferentes (MAIA, 1998).

Nesse contexto, o presente trabalho apresenta substâncias também encontradas em estudos realizados com *M. piperita*, em outras condições de desenvolvimento. Segundo Lawrence e Shu (1989), o óleo essencial de hortelã pimenta americana contém principalmente os compostos α -pineno (1,4%), β -pineno (1,8%), limoneno (2,5%), 1,8-cineol (7,3%), *trans*-sabineno (1,0%), mentona (18,7%), mentofurano (3,0%), *iso*-mentona (2,5%), acetato de mentila (3,6%), *neo*-mentol (3,1%), mentol (40%) e germacreno D (1,3%).

O estudo de Bassolé et al. (2010), que extraíram óleo essencial de *M. piperita* e observaram dezessete componentes, sendo os mais abundantes, mentol (39,3%) e mentona (25,2%) e mais escassos, mentofurano (6,8%), acetato de mentila (6,7%), *iso*-mentona (5,3%), 1,8-cineol (4,1%) e pulegona (1,4%) é o que mais se assemelha com os resultados observados no presente estudo quanto a composição do óleo obtido.

Leal (2001), Valmorbida (2003) e David et al. (2006) ao avaliarem *M. piperita* cultivada com diferentes níveis de nutrientes, observaram diferentes composições do óleo essencial. Leal (2001) obteve os componentes, α -pineno, sabineno, β -pineno, mirceno, 3-octanol, α -terpineno, *para*-cimeno, limoneno, 1,8-cineol, *cis*-ocimeno, γ -terpineno, *iso*-terpinoleno, terpinoleno, mentona, mentofurano, mentol, *iso*-mentol, pulegona, acetato de neomentila, acetato de mentila, acetato de *iso*-mentila, *trans*-cariofileno e germacreno. Valmorbida (2003) identificou mentona, mentol, mentofurano, 1,8 cineol, pulegona, acetato de mentila, limoneno, *iso*-mentol, terpinoleno e β -pineno. David et al. (2006) verificaram a presença de α -pineno, β -pineno, mirceno, α -limoneno, 1,8, cineol, terpinoleno, mentona, mentofurano, mentol, *iso*-mentol, pulegona e acetato de mentila.

ZHELJAZKOV et al. (2010), avaliaram o efeito da época de colheita e secagem do material vegetal no rendimento e composição do óleo essencial de *M. piperita* e *M. spicata*. Os autores observaram que o material seco apresentou concentração de mentol, eucaliptol, mentona e mentofurano, quatro vezes maior do que a biomassa fresca, confirmando a importância da sua secagem da biomassa antes da extração do óleo essencial (TOPALOV, 1989; LAWRENCE, 2007). Além disso, a produção de biomassa fresca e seca foi menor na primeira colheita realizada em junho e maior na sexta, em setembro. No entanto, os teores de mentol, eucaliptol e mentona atingiram valores máximos na quarta colheita, em agosto.

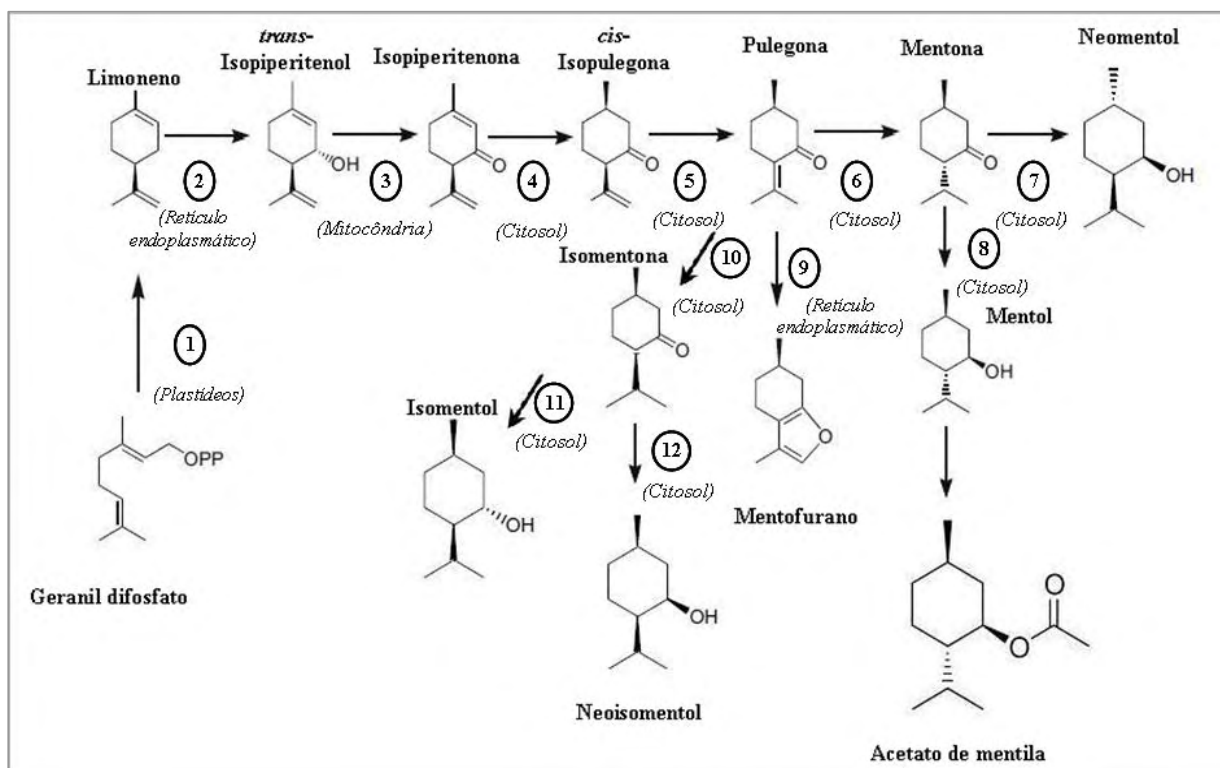


Figura 28. Biossíntese dos constituintes do óleo essencial de *Mentha piperita*. Enzimas da rota: 1- limoneno sintase; 2- limoneno-3-hidroxilase; 3- *trans*-isopiperitenol desidrogenase; 4- *trans*-isopiperitona redutase; 5- *cis*-isopulegona isomerase; 6- pulegona redutase; 7- *neo*-mentol redutase; 8- mentona redutase; 9- mentofurano sintase; 10- pulegona redutase; 11- *neo*-mentol redutase; 12- mentona redutase. O local onde as enzimas metabólicas agem está indicado entre parênteses. Adaptado de Croteau et al. (2005); Rios-Esteva et al. (2008).

Mentol

Aos 77 DAT, o teor de mentol apresentou tendência de ser maior nas plantas cultivadas na ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus*, sendo, portanto, afetado pela presença do extrato metanólico, que tendeu a diminuir seu conteúdo (Tabela 13 e Figura 29). Embora a presença do extrato metanólico tenha revelado tendência de menor teor de mentol aos 77 DAT, na segunda colheita realizada aos 94 DAT, as plantas cultivadas com 50 mg L⁻¹ do extrato apresentaram tendência de aumento desse componente, que também tendeu a aumentar nas plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ aos 120 DAT (Figura 29).

No entanto, durante o ciclo de desenvolvimento o teor de mentol predominou no óleo essencial da *M. piperita*, independente do tratamento aos quais as plantas foram submetidas.

Esses resultados concordam com os registros de que o mentol constitui mais de 40% do total de óleo essencial da *M. piperita*, sendo responsável pelas características aromatizantes e sensação de refrescância. O conteúdo de mentol e também de acetato de mentila nos óleos de *M. piperita* aumentam com a maturidade das folhas e fatores ambientais influenciam essa composição (DEY; HARBORNE, 1997; CROTEAU et al. 2000), o que está de acordo com o presente estudo, uma vez que, os teores de mentol (Figura 29) e acetato de mentila (Figura 32) aumentaram com o desenvolvimento da *M. piperita*.

De acordo com Guenther (1972) e Court et al. (1993) os óleos de *M. piperita* de elevada qualidade são caracterizados por complexa composição de monoterpenos com grande teor de mentol, moderado de mentona e baixa quantidade de pulegona e mentofurano. Os resultados encontrados na literatura e também no presente estudo, demonstram que condições diferentes de cultivo podem influenciar o acúmulo de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário.

Zheljazkov e Nielsen (1996) verificaram que a composição química do óleo essencial de hortelã-pimenta revelou variação quando as plantas foram cultivadas na presença de metais pesados, Cd, Pb e Cu. Além disso, os autores também observaram que o teor de mentol foi reduzido em relação ao tratamento controle. Scavroni et al. (2005) verificaram que plantas de *M. piperita* cultivadas na presença de lodo de esgoto apresentaram teor de mentol 42,3% menor na primeira colheita, realizada 90 dias após o plantio, teor que diminuiu com a idade da planta.

Considerando, portanto, o teor de mentol, os resultados do presente estudo indicam que a aplicação de extrato metanólico de *L. sibiricus* no cultivo de *M. piperita* não representou expressiva alteração na rota metabólica de síntese dos componentes de seu óleo essencial.

Tabela 13. Análise de variância e comparação entre médias de mentol (%) no óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,43	5,31*	2,53*

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)				Média de tratamentos
	1 ^a (77)	2 ^a (94)	3 ^a (108)	4 ^a (120)	
0 mg L ⁻¹	38,36 Aa	34,10 Aa	38,26 Aa	32,28 Aa	35,75
25 mg L ⁻¹	31,20 Aab	31,73 Aa	37,91 Aa	43,49 Aa	36,08
50 mg L ⁻¹	23,40 Bb	38,42 Aa	37,04 Aa	40,99 Aa	34,96
100 mg L ⁻¹	31,42 Aab	29,03 Aa	37,61 Aa	38,02 Aa	34,02
Média de colheitas	31,09	33,32	37,70	38,70	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das colheitas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das colheitas em cada tratamento.

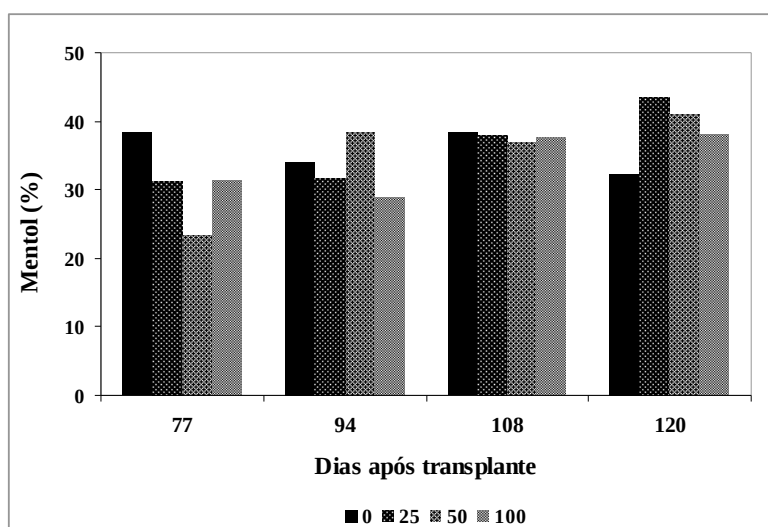


Figura 29. Teor de mentol de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Mentona

As plantas de *M. piperita* cultivadas na ausência e na presença do extrato metanólico de *L. sibiricus*, nas várias concentrações, não apresentaram diferenças no teor de mentona aos 77, 94 e 108 DAT (Tabela 14 e Figura 30). Aos 120 DAT, as plantas cultivadas sem o extrato metanólico apresentaram o menor teor de mentona, enquanto as cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico maior teor.

De maneira geral, as plantas de *M. piperita* cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram tendência de diminuir o teor de mentona com o desenvolvimento (Tabela 14 e Figura 30). Essa diminuição pode ser confirmada uma vez que, conforme a rota metabólica (Figura 28), por ação das enzimas neomentol redutase e mentona redutase ocorreu formação de neomentol e mentol respectivamente e também, a formação de acetato de mentila. No entanto, essas plantas não apresentaram maiores tendências no teor de mentol, o que pode ter ocorrido uma vez que o teor de acetato de mentila exibiu tendência de aumento ao longo do desenvolvimento, além disso, houve também maior formação de mentofurano, ao longo do desenvolvimento. Segundo Lima e Mollam (1952) e David (2007), que cultivaram *M. arvensis* e *M. piperita* respectivamente, o teor de mentona diminuiu de maneira constante à medida que as plantas amadureceram.

O teor de mentona no óleo essencial das plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentou maior tendência aos 77 DAT, diminuindo durante o ciclo de desenvolvimento da *M. piperita*, diferindo das plantas cultivadas na ausência do extrato que apresentaram menor tendência aos 77 DAT e aos 120 DAT maior redução no teor de mentona (Tabela 14 e Figura 30). A presença de 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico pode ter sugerido o favorecimento de formação de mentol no final do ciclo de desenvolvimento da *M. piperita*, que aos 120 DAT apresentou média de 43,49% de mentol (Tabela 13), mesmo com teor de mentona mantendo relativamente maior em relação aos demais tratamentos.

Tabela 14. Análise de variância e comparação entre médias de mentona (%) no óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
1,94	2,15	2,60*

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)				Média de tratamentos
	1 ^a (77)	2 ^a (94)	3 ^a (108)	4 ^a (120)	
0 mg L ⁻¹	8,63 ABa	11,15 Aa	13,05 Aa	3,75 Bb	9,14
25 mg L ⁻¹	14,35 Aa	8,77 Aa	10,97 Aa	11,71 Aa	11,45
50 mg L ⁻¹	8,17 Aa	10,46 Aa	6,45 Aa	8,31 Aab	8,35
100 mg L ⁻¹	13,78 Aa	6,47 Aa	7,15 Aa	6,43 Aab	8,46
Média de colheitas	10,38	10,13	10,15	7,92	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das colheitas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das colheitas em cada tratamento.

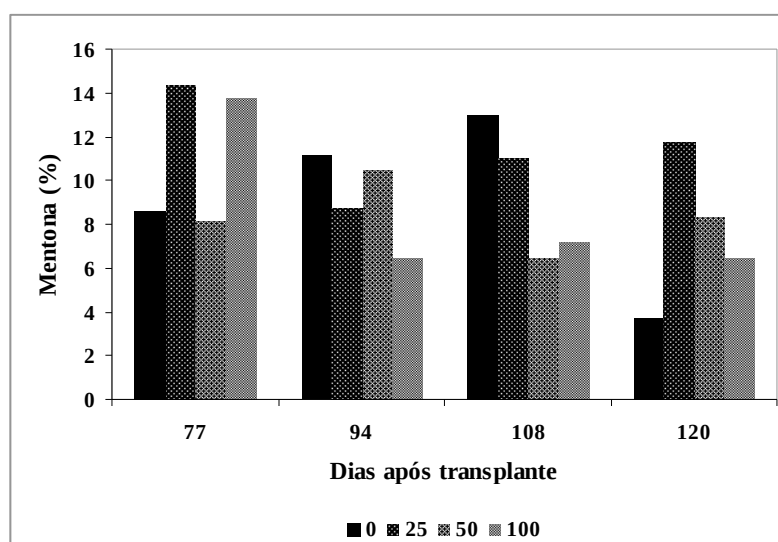


Figura 30. Teor de mentona de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Mentofurano

Não houve diferença no teor de mentofurano nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos. No entanto, só aquelas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram tendência de aumento desse componente do óleo aos 120 DAT (Tabela 15 e Figura 31) e portanto essa dose deve ser evitada. A formação do mentofurano ocorre devido a um desvio da rota metabólica a partir da pulegona pela ação da mentofurano sintase, no retículo endoplasmático, onde está localizada uma monooxigenase dependente do citocromo P450 (CROTEAU et al. 2005; RIOS-ESTEPA et al. 2008).

De acordo com Almeida et al. (2008), o perfil cromatográfico do extrato de *L. sibiricus* mostrou a presença dos flavonóides quercetina, rutina, hiperina e isoquercetrina. Os autores verificaram o potencial alelopático do extrato metanólico das folhas de *L. sibiricus* sobre a germinação de sementes e concluíram que as moléculas dos flavonóides apresentaram atividade antioxidante, e em baixas concentrações acarretaram efeitos promotores de crescimento. Segundo esses autores, elevadas concentrações dos flavonóides, podem ter atuado como agente hiperpolarizador de membrana, alterando os mecanismos das bombas ATPases, tornando os flavonóides tóxicos para as células e reduzindo o crescimento. Portanto, a utilização da concentração de 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* aos 120 DAT pode ter provocado alteração da membrana do retículo endoplasmático, favorecendo a formação de mentofurano, que revelou tendência de aumento em relação aos demais tratamentos.

Trabalhos identificados na literatura com *M. piperita* referem presença de mentofurano no óleo essencial. Piccaglia et al. (1993) avaliaram a influência de fatores agronômicos sobre o rendimento e a composição de óleo essencial em hortelã pimenta e plantas com dois anos de idade apresentaram maior teor de mentofurano e β - cariofileno. O decréscimo de mentol e o aumento da concentração de mentofurano em menta de dois anos, também foram registrados por Maffei (1988).

No entanto, deve ser registrado que o cultivo de *M. piperita* na presença do extrato metanólico de *L. sibiricus* pode influenciar mesmo que de modo discreto a rota metabólica de síntese dos constituintes do óleo essencial, formando um ou outro componente desejável ou não.

Scavroni et al. (2005) verificaram que o teor de mentofurano aumentou quando as plantas de *M. piperita* foram submetidas a níveis elevados de biofossólido e a sua porcentagem foi menor aos 90 dias após transplante, nas plantas cultivadas sem biofossólido, momento em que apresentaram maiores teores de mentol. No presente estudo a tendência de maior porcentagem de mentofurano foi verificada aos 120 DAT (Tabela 15), quando as plantas foram cultivadas na presença da maior concentração do extrato metanólico de *L. sibiricus*, que, no entanto, não afetou a formação de mentol.

Tabela 15. Análise de variância e comparação entre médias de mentofurano (%) no óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
0,5	0,73	1,37

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)				Média de tratamentos
	1 ^a (77)	2 ^a (94)	3 ^a (108)	4 ^a (120)	
0 mg L ⁻¹	4,58	9,28	8,86	8,42	7,79
25 mg L ⁻¹	9,08	8,21	9,83	8,73	8,96
50 mg L ⁻¹	6,39	10,43	9,35	7,66	8,46
100 mg L ⁻¹	9,16	5,53	6,46	11,32	8,12
Média de colheitas	7,30	8,36	8,63	9,03	

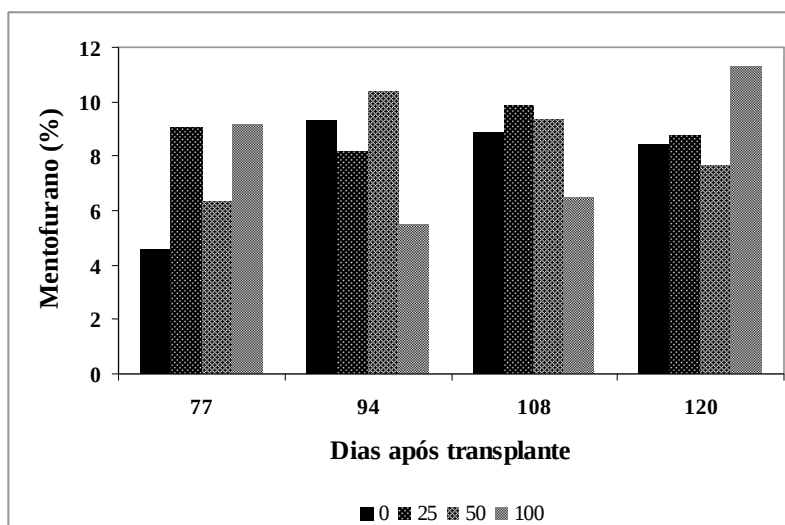


Figura 31. Teor de mentofurano de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Acetato de mentila

Durante a biossíntese dos constituintes do óleo essencial de *M. piperita* (Figura 28) mentona forma mentol, que pode sofrer esterificação e ser convertido em acetato de mentila (MURRAY, 1972). O teor de acetato de mentila no óleo essencial de *M. piperita*, em média, manteve-se mais elevado nas plantas cultivadas na ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus* e naquelas com 50 e 100 mg L⁻¹ do extrato (Tabela 16 e Figura 32). Já na presença de 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico o teor de acetato de mentila apresentou-se menor, em média, nas plantas.

As plantas submetidas a todos os tratamentos apresentaram aumento do teor de acetato de mentila com o tempo. Esses resultados, em parte, são concordantes com os verificados por Piccaglia et al. (1993) que ao avaliarem a influência de fatores agronômicos sobre o rendimento e a composição de óleo essencial em hortelã pimenta, registraram que com a idade da cultura, os óleos essenciais do segundo corte, quando comparados aos do primeiro, mostram incremento de acetato de mentila de 3,3 para 15,2 %. Também são concordantes com os de David (2007) que observou tendência de aumento de acetato de mentila ao longo do ciclo da *M. piperita* cultivada com solução nutritiva completa.

No presente estudo, as plantas cultivadas na presença da menor concentração do extrato metanólico de *L. sibiricus* apresentaram ao longo do desenvolvimento

tendência de menores teores de acetato de mentila e assim, tal concentração melhorou a qualidade do óleo essencial da *M. piperita*, uma vez que elevados teores de acetato de mentila comprometem a sua qualidade (CROTEAU et al. 2000).

Ao avaliarem *M. piperita* cultivada com biossólido, Scavroni et al (2005), verificaram que o componente encontrado em maior teor foi o acetato de mentila, perfazendo em média, 40,55% do conteúdo total de óleo essencial, teor superior aos observados no presente estudo, iguais a 17,5% e 23,4%, respectivamente quando as plantas foram cultivadas na presença de 50 e 100 mg L⁻¹ de extrato metanólico de *L. sibiricus*. Menor porcentagem média igual a 15,3% foi verificada para as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato. (Tabela 12).

Tabela 16. Análise de variância e comparação entre médias de acetato de mentila (%) no óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Análise de variância (teste F)		
Tratamento	Colheita	Interação Colheita x Tratamento
3,36*	14,1*	1,04

* significância ao nível de 5%

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Tratamentos	Colheita (dias após transplante)				Média de tratamentos
	1 ^a (77)	2 ^a (94)	3 ^a (108)	4 ^a (120)	
0 mg L ⁻¹	8,40	15,37	21,26	33,97	19,75 ab
25 mg L ⁻¹	8,44	14,65	17,57	20,49	15,29 b
50 mg L ⁻¹	11,13	12,02	26,11	20,68	17,49 ab
100 mg L ⁻¹	13,44	26,44	26,76	27,02	23,41 a
Média de colheitas	10,35 C	17,12 B	22,92 AB	25,54 A	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias dos tratamentos dentro das colheitas e as maiúsculas nas linhas comparam médias das colheitas em cada tratamento.

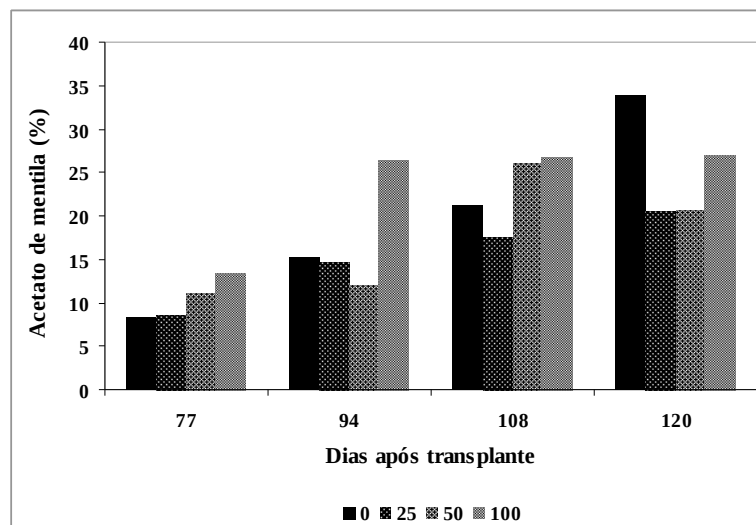


Figura 32. Teor de acetato de mentila de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva na ausência e presença de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* L., em diferentes concentrações, em mg L⁻¹, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Análise dos componentes principais (PCA)

Os resultados da análise da composição química dos óleos essenciais por cromatografia gasosa (CG-EM) foram submetidos à análise multivariada, pela técnica de Análise por Componentes Principais (PCA) e Análise de Cluster, correlacionando e agrupando as substâncias limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial de *M. piperita* cultivada na ausência e presença do extrato metanólico de *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT (Tabela 17).

A PCA aplicada expressou 65,90% da variação total nos dois componentes (eixos), sendo 36,31% no primeiro e 29,59% no segundo. Nesta análise, as substâncias limoneno e pulegona tiveram maior correlação com as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato, aos 94 DAT e com as cultivadas na presença de 100 mg L⁻¹ do extrato, aos 77 DAT, apresentado também correlação com as plantas do tratamento controle aos 94 DAT (Figura 34).

As substâncias mentona e mentofurano apresentaram maior correlação com as plantas do tratamento controle aos 108 DAT e com as plantas cultivadas na presença

do extrato metanólico na concentração igual a 25 mg L⁻¹, aos 77 e 108 DAT e na de 50 mg L⁻¹, aos 94 DAT. O mentol teve maior correlação com as plantas cultivadas na presença de 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico aos 120 DAT. O acetato de mentila apresentou maior correlação com as plantas cultivadas na presença de 50 mg L⁻¹ do extrato aos 108 e 120 DAT e com as plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹ do extrato aos 120 DAT (Figura 34).

O dendrograma construído permitiu observar a formação de quatro grupos, um composto por limoneno e pulegona, outro por mentona e mentofurano e os demais formados por acetato de mentila e mentol, formando grupos isolados. O dendrograma corrobora em parte, com os resultados da PCA, pois mentofurano e mentona foram classificados como um grupo, assim como limoneno e pulegona permaneceram agrupados (Figura 33).

A análise dos resultados da cromatografia gasosa (CG-EM) pela técnica da PCA permitiu relacionar as substâncias limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial da *M. piperita* com a época de colheita e os tratamentos aos quais as plantas foram submetidas. Segundo Marengo et al. (1991), a análise multivariada é realizada por meio da geração de novas variáveis ortogonais, que são calculadas baseadas nas originais. O método da PCA tem sido utilizado como ferramenta que permite identificar correlações significativas a partir de combinações lineares de variáveis independentes, gerando um novo sistema com variações significativas, que permite identificar padrões em dados e expressá-los de modo a evidenciar suas semelhanças e diferenças (SMITH, 2002).

De maneira geral, a análise conjunta dos resultados da PCA e da Análise de Cluster revela que no início do desenvolvimento as plantas de *M. piperita* apresentaram maior correlação com substâncias precursoras da rota metabólica, como limoneno, pulegona e mentona, independente do tratamento aos quais as plantas foram submetidas. No entanto, essas plantas também se correlacionaram com o composto mentofurano. Já no final da avaliação, aos 108 e 120 DAT, as plantas de *M. piperita* apresentaram maior correlação com as substâncias mentol e acetato de mentila, quando cultivadas na presença do extrato metanólico (Figura 34). Pode ser observado ainda que o mentol apresentou maior correlação com as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus* aos 120 DAT, pois essas plantas apresentaram média de 43,49% de

mentol no óleo essencial (Tabela 17), tendo essa concentração do extrato estimulado a produção desse componente do óleo essencial, no final da avaliação.

Segundo Croteau et al (2000) a quantidade de mentol e acetato de mentila aumentam com a maturidade da folhas. No presente estudo, os resultados da PCA indicam que as plantas cultivadas na presença de 50 e 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico apresentaram correlação com acetato de mentila, e a presença de 25 mg L⁻¹ do extrato correlacionaram-se com mentol, o que indica que o extrato metanólico de *L. sibiricus* pode ter influenciado a rota metabólica de síntese das substâncias do óleo essencial das plantas de *M. piperita*, conforme seu desenvolvimento.

A análise multivariada tem sido utilizada em estudos de composição química de óleo essencial para expressar diferenças intra e interespecíficas e geográficas entre populações da mesma espécie (SACCO et al., 1989; MAFFEI 1990). No presente estudo, essa análise foi utilizada com a finalidade de demonstrar variações que os compostos secundários podem sofrer, em plantas de mesma espécie cultivadas no mesmo local, mas com diferentes tratamentos relacionados ao meio de cultivo, representado pela adição de concentrações distintas do extrato metanólico de *L. sibiricus*.

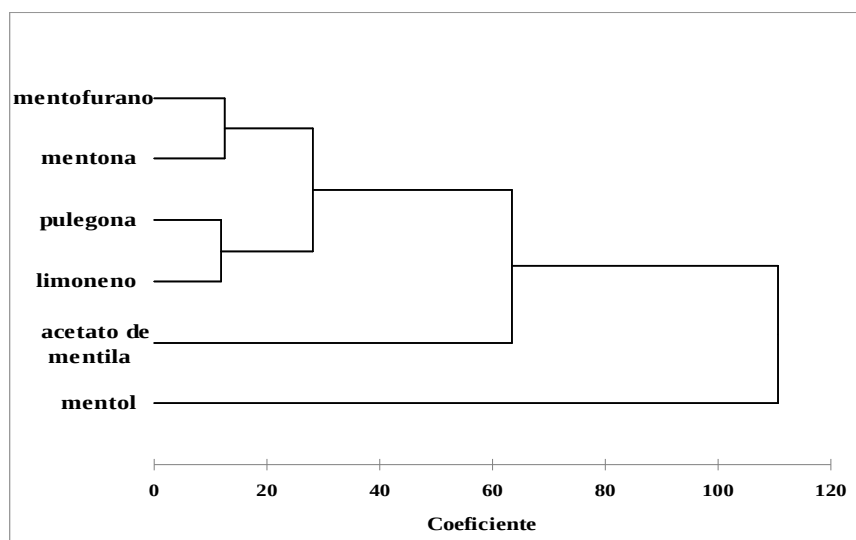


Figura 33. Dendrograma das substâncias limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial de *M. piperita* cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT, definido pelo agrupamento UPGMA, a partir das distâncias Euclidianas. Correlação cofenética igual a 0,93 (normalized Mantel statistic z).

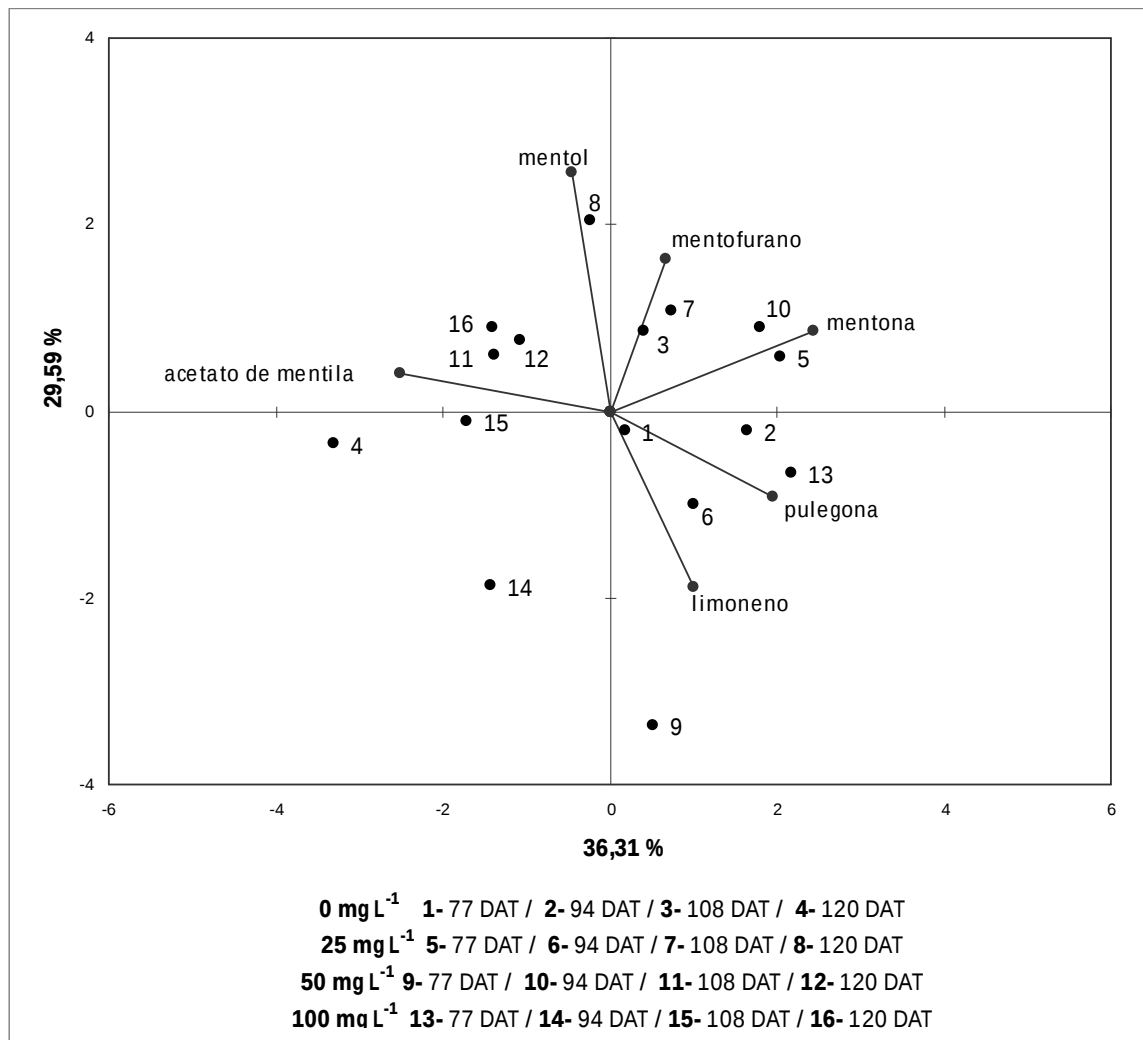


Figura 34. Análise dos Componentes Principais (PCA) das substâncias limoneno, pulegona, mentona, mentofurano, mentol e acetato de mentila, presentes no óleo essencial de *M. piperita* cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT. Controle: 0 mg L⁻¹ do extrato metanólico *L. sibiricus*, 25, 50 e 100 mg L⁻¹ do extrato metanólico de *L. sibiricus*.

Tabela 17. Compostos (%) presentes no óleo essencial de *M. piperita* cultivadas na ausência e presença do extrato metanólico de *L. sibiricus*, em diferentes concentrações, aos 77, 94, 108 e 120 DAT.

Compostos (%)	Tratamentos															
	0 mg L ⁻¹				25 mg L ⁻¹				50 mg L ⁻¹				100 mg L ⁻¹			
	Dias após transplante				Dias após transplante				Dias após transplante				Dias após transplante			
	77	94	108	120	77	94	108	120	77	94	108	120	77	94	108	120
limoneno	0,3	1,38	1,31	0,45	0,4	1,29	0,68	0,38	2,82	0,87	0,48	0,9	2,1	0,93	0,71	1,16
pulegona	4,16	5,92	2,38	1,62	3,86	5,94	4,05	1,84	3,53	5,89	3,21	1,74	4,64	4,6	2,91	1,92
mentona	8,63	11,15	13,05	3,75	14,35	8,77	10,97	11,71	8,17	10,46	6,45	8,31	13,78	6,47	7,15	6,43
mentol	38,36	34,1	38,26	32,28	31,2	31,73	37,91	43,49	23,4	38,42	37,04	40,99	31,42	29,03	37,61	38,02
mentofurano	4,58	9,28	8,86	8,42	9,08	8,21	9,83	8,73	6,39	10,43	9,35	7,66	9,16	5,53	6,46	11,32
acetato de mentila	8,4	15,37	21,26	33,97	8,44	14,65	17,57	20,49	11,13	12,02	26,11	20,68	13,44	26,44	26,76	27,02

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo de plantas medicinais brasileiras ainda é um desafio devido a carência de pesquisas que avaliem aspectos de cultivo e fitoquímica, além de outros relacionados ao metabolismo primário e secundário e a influência que o ambiente exerce sobre todos eles. Poucos estudos relacionam a interferência de substâncias alelopáticas no desenvolvimento de plantas, em menor número ainda quando essas plantas são medicinais, produtoras de princípios ativos naturais de elevado valor medicinal e econômico.

No presente estudo, as substâncias presentes no extrato metanólico de *L. sibiricus* (ALMEIDA et al. 2008), que podem exercer atividade alelopática, adicionadas à solução nutritiva de cultivo da *M. piperita* não interferiram ou interferiram de forma positiva ou negativa em variáveis de desenvolvimento, trocas gasosas e metabólitos do óleo essencial, de acordo inclusive com a concentração do extrato a que as plantas foram submetidas.

Dessa forma, as concentrações iguais a 25 e 50 mg L⁻¹ do extrato metanólico, estimularam o desenvolvimento da espécie, resultando em tendência de maiores comprimentos de parte aérea, massa seca dos diferentes órgãos do vegetal e área foliar. Além disso, quando essas concentrações foram aplicadas ao cultivo, maiores diferenças dessas variáveis entre as plantas submetidas aos vários tratamentos foram sendo observadas com o decorrer do tempo, o que sugere acúmulo de substâncias com potencial alelopático existentes no extrato metanólico ao longo do desenvolvimento da *M. piperita*. As plantas cultivadas com 25 e 50 mg L⁻¹ cresceram menos, em relação ao material vegetal pré-existente, conforme

indicado pela TCR e apresentaram menor eficiência fotossintética, de acordo com a TAL mas, revelaram adequada translocação de matéria orgânica do centro de produção para outros locais da planta e consequente crescimento em comprimento de parte aérea, massa seca e área foliar acima referidos. Essas concentrações resultaram em plantas com melhor taxa de assimilação de CO₂ e maior transpiração e condutância estomática, revelando adequado desempenho nas trocas gasosas. Ao mesmo tempo em que o teor de acetato de mentila, componente desfavorável para a qualidade do óleo essencial, apresentou tendência de diminuição ao longo do ciclo de desenvolvimento, o teor de mentol, que garante sua qualidade, revelou tendência de aumento. A Análise dos Componentes Principais (PCA) demonstrou que, com maturidade das plantas de *M. piperita* houve correlação dos compostos, limoneno, pulegona, mentona, mentol, mentofurano e acetato de mentila com a concentração do extrato utilizada, confirmando não só os resultados obtidos no presente estudo, como os citados na literatura consultada. Nesta análise, na última avaliação, o teor de mentol em média igual a 43,49% no óleo essencial apresentou maior correlação com as plantas cultivadas com 25 mg L⁻¹ do extrato.

A concentração de 100 mg L⁻¹ de extrato metanólico não interferiu ou, em alguns aspectos, inibiu o desenvolvimento da *M. piperita*. A avaliação de índices fisiológicos nessas plantas revelou decréscimo mais rápido da curva da RAF, que, no entanto, revelaram aumento mais lento da área foliar e diminuição mais lenta da razão da massa foliar, indicativos de maior retenção de matéria orgânica nas folhas, e portanto, menor translocação dessa matéria para os demais órgãos. Essas plantas também apresentaram folhas mais espessas, que apesar de melhor desempenho em relação a TAL e TCR, retiveram maior quantidade de matéria orgânica devido a sua menor translocação das folhas para as outras partes da planta, que provavelmente resultou em menores comprimentos de parte aérea, incrementos de área foliar e massa seca dos diferentes órgãos. Além disso, essas plantas apresentaram prejuízos nas trocas gasosas, uma vez que, assimilaram menos CO₂, apresentando condutância estomática mais baixa e menor taxa de transpiração, o que revela prejuízo dessa concentração em relação às demais para o cultivo da *M. piperita*. O extrato metanólico pode ter interferido no teor de acetato de mentila e mentofurano quando aplicado na concentração de 100 mg L⁻¹, uma vez que, as plantas apresentaram tendência de aumento desses compostos no final do ciclo de desenvolvimento, momento em que na Análise dos

Componentes Principais o teor de acetato de mentila apresentou maior correlação com as plantas cultivadas com 50 e 100 mg L⁻¹ do extrato.

Os componentes majoritários encontrados no óleo essencial das plantas de *M. piperita* submetidas a todos os tratamentos foram mentol, mentona, mentofurano, pulegona e acetato de mentila, com predomínio do teor de mentol durante todo o ciclo de desenvolvimento. Deve ser registrado que apesar de no início do desenvolvimento o teor de mentol ter apresentado tendência de ser maior nas plantas cultivadas na ausência do extrato metanólico de *L. sibiricus*, essa tendência inverteu-se com o tempo, tornando-se maior nas plantas cultivadas com o extrato metanólico, o que permite sugerir a interferência do extrato no teor de mentol.

Por fim, nas condições em que o experimento foi realizado, pode-se sugerir que as substâncias presentes no extrato metanólico de *L. sibiricus* tenham exercido atividade alelopática, estimulando ou inibindo o desenvolvimento da *M. piperita*, de acordo com a concentração em que foram aplicadas às plantas. Deve ser considerado também que a espécie *L. sibiricus*, amplamente distribuída no território brasileiro e de fácil crescimento pode ser considerada como modelo para o estudo da influência de substâncias produzidas por uma espécie vegetal em outra.

7. CONCLUSÕES

O cultivo da *Mentha piperita*, em solução nutritiva com diferentes concentrações de extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* permite concluir que:

1. As menores concentrações do extrato metanólico de *Leonurus sibiricus*, 25 e 50 mg L⁻¹, estimularam o desenvolvimento da *Mentha piperita*.
2. Os índices fisiológicos da *Mentha piperita* foram influenciados pela presença do extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* e as concentrações iguais a 25 e 50 mg L⁻¹ estimularam a translocação de matéria orgânica nas plantas enquanto esse processo, prejudicado nas plantas cultivadas com 100 mg L⁻¹, pode ter sido responsável por seu menor desenvolvimento.
3. As trocas gasosas da *Mentha piperita* foram influenciadas pela presença do extrato metanólico e estimuladas pelas concentrações do extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* iguais a 25 e 50 mg L⁻¹.
4. O extrato metanólico de *Leonurus sibiricus* influenciou os teores dos componentes do óleo do essencial da *Mentha piperita*, na dependência da concentração utilizada, uma vez que nas menores concentrações, as plantas apresentaram maiores teores de mentona e mentol, garantindo a qualidade do óleo essencial e na maior concentração as plantas apresentaram maiores teores de acetato de mentila e mentofurano, comprometendo a sua qualidade.

8. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1995. 659 p.

AGUIAR NETTO, A. O. **Crescimento e produtividade da cultura da batata (*Solanum tuberosum* ssp *tuberosum*) cultivar Aracy, submetida a diferentes lâminas de irrigação**. 1997. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Irrigação e Drenagem)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

AGUIAR NETTO, A. O.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S. Z. Análise de crescimento na cultura da batata submetida a diferentes lâminas de irrigação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, p. 901-907, 2000.

ALMEIDA, L. F. R. et al. Ação alelopática de extratos aquosos de rubim (*Leonurus sibiricus*) na germinação e desenvolvimento inicial de alface, tomate e milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 9., 2003, Atibaia-SP. **Resumos...** Campos dos Goytacazes: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2003. p. 56.

ALMEIDA, L. F. R. et al. Allelopathic effects of extracts and amenthoflavone from *Byrsonima crassa* (Malpighiaceae). **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 2, p. 121-124, 2007.

ALMEIDA, L. F. R. et al. Constituintes químicos de *Leonurus sibiricus* (Lamiaceae). In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 24., 2006, Águas de Lindóia. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2006. p. 94.

ALMEIDA, L. F. R. et al. In vitro allelopathic potential of *Leonurus sibiricus* L. leaves. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 3, p. 39-48, 2008.

ALMEIDA, L. F. R.; DELACHIAVE, M. E. A.; MARQUES, M. O. M. Composição química do óleo essencial de *Leonurus sibiricus*. **Brasilian Journal of Medicinal Plants**, Botucatu, v. 8, p. 31-35, 2005.

BAIS, H. P. et al. Allelopathy and exotic plants: from genes to invasion. **Science**, New York, v. 301, p. 1377-1380, 2003.

BARKOSKY, R. R.; EINHELLIG, F. A. Effect of a simple phenol on plant water relationships of soybean *Glycine max*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 2, p. 155-155, 1993.

BASSOLÉ I. H. N. et al. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. **Molecules**, Switzerland, v. 15, p. 7825-7839, 2010.

BATISH, D. R. et al., Crop allelopathy and its role in ecological agriculture. **Journal of Crop Production**, New York, v. 4, p. 121-161, 2001.

BEADLE, C. L. Plant-growth analysis. In: COOMBS, J.; HALL, D. O. **Techniques in bioproductivity and photosynthesis**. Oxford: Pergamon, 1987. p. 20-25.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas, noções básicas**. Jaboticabal: Fundação Nacional de Ensino e Pesquisa, 2003. 41 p.

BENINGER, C. W.; HALL, J. C. Allelopathic activity of luteolin 7-O- β -glucuronide isolated from *Chrysanthemum morifolium* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, Richmond, v. 33, p. 103-111, 2005.

BERGMARK, C. L. et al. Differential inhibition by ferulic acid of nitrate and ammonium uptake in *Zea mays*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 98, p. 639-645, 1992.

BERRY, J. A.; DOWNTON, W. J. S. Environmental regulation of photosynthesis. Site-specific effects of osmotically induced stromal acidification. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 72, p. 1100-1009, 1983.

BHOWMIK, P. C.; INDERJIT,. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. **Crop Protection**, Guildford, v. 22, p. 661-671, 2003.

BOALINO, D. M. et al. Labdane Diterpenes of *Leonurus sibiricus*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 67, p. 714-717, 2004.

BOARO, C. S. F. **Desenvolvimento de feijoeiros (*Phaseolus vulgaris*) em solução nutritiva com variação dos níveis de Mg e da relação entre macronutrientes, durante o ciclo**. 2001. 172 f. Tese (Livre Docência/Fisiologia Vegetal)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

BOOKER, F. L.; BLUM, U.; FISCUS, E. L. Short-term effects of ferulic acid on ion uptake and water relations in cucumber seedlings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, p. 649-655, 1992.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/PNPIC.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2010.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.

BURBOTT, A. J.; LOOMIS W. D. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 42, p. 20-28, 1967.

CALLAWAY, R.M. The detection of neighbors by plants. **Trends in Ecology & Evolution**, Amsterdam, v. 17, p. 104-105, 2002.

CARMELLO, Q. A. C. Hidroponia. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20., 1992, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; USP, ESALQ, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1992. p. 355-68.

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

CLARK, R. J.; MENARY, R. C. Environmental effects on peppermint, I: effect of day length, photon flux density, night temperature and day temperature on the yield and composition of peppermint oil. **Australian Journal Plant Physiology**, Melbourne, v. 7, p. 685-692, 1980.

COURT, W. A.; ROY, R. C.; POCS, R. Effect of harvest date on the yield and quality of the essential oil of peppermint. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 73, p. 815-824, 1993.

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

CROTEAU R. B. et al. (–)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 92, p. 562-577, 2005.

CROTEAU, R.; GERSHENZON J.; TURNER, W. G. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 124, p. 665-679, 2000.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. J. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: Courier Companies, 2000. p. 1250-1318.

CUTLER, H. G.; CUTLER, S. J. Agrochemicals and pharmaceuticals: the connection. In: _____. (Eds.). **Biologically active natural products: agrochemicals**. Boca Raton: CRC, 1999. p. 1-14.

DAVID, E. F. S. **Desenvolvimento, trocas gasosas, rendimento e composição de óleo essencial de *Mentha piperita* L cultivada em solução nutritiva com variação dos níveis de N, P, K e Mg**. 2007. 132 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

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 Medicinais**, Botucatu, v. 8, p. 183-188, 2006.

DAVID, E. F. S.; MISCHAN, M. M.; BOARO, C. S. F. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de menta (*Mentha piperita* L.) cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Biotemas**, Florianópolis, v. 20, p. 15-26, 2007.

DE FAZIO, J. L.; ZUCARELI, V.; BOARO, C. S. F. Desenvolvimento de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de cálcio. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 420-422, 2007.

DEVI, S. R.; PRASAD, M. N. V. Effect of ferulic acid on growth and hydrolytic enzyme activities of germinating maize seeds. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 18, p. 1981-1990, 1992.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. New York: John Wiley, 2002. 507 p.

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

DUKE, S. O. et al. Strategies for the use of natural products for weed management. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v. 27, p. 298-306, 2002.

DURIGAN, J. C.; ALMEIDA, F. S. **Noções sobre alelopatia**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 28 p.

EINHELLIG, F. A. Allelopathy: current status and future goals. **ACS Symposium Series**, New York, v. 582, p. 1-24, 1995.

EINHELLIG, F. A. Mode of allelochemical action of phenolic compounds. In: MACIAS, F. A. et al. (Eds.). **Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals**. Boca Raton: CRC, 2004. p. 217-238.

EINHELLIG, F. A.; RASMUSSEN, J. A. Effects of root exudate sorgoleone on photosynthesis. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, p. 369-375, 1993.

ELLIOTT, L. F.; CHENG, H. H. Assessment of allelopathy among microbes and plants. **ACS Symposium Series**, New York, v. 330, p. 504-515, 1987.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. Field Crops and mineral nutrition. In: _____. **Growth and mineral nutrition of field crops**. 2nd ed. rev. and expand. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 1-10.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal Conductance and photosynthesis. **Annual Review Plant Physiology**, Minneapolis, v. 33, p. 317-345, 1982.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, E. **Ajustamento osmótico e análise de crescimento de plantas de milho (*Zea mays* L.), em função do nível de potássio e estresse hídrico**. 1996. 130 f. Tese (Doutorado Ciências Biológicas/Botânica)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

FOYER, C. H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. **Photoassimilate distribution in plants and crops: source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 331-340.

FUNK, D. T. et al. Effects of juglone on the growth of coniferous seedlings. **Forestry Science**, Rotorua, v. 25, p. 452-454, 1979.

GERSHENZON, J.; LINCOLN, D. E.; LANGENHEIN, J. H. The effect of moisture stress on monoterpenoid yield and composition in *Satureja douglasii*. **Biochemistry Systematic Ecology**, Oxford, v. 6, p. 33-43, 1978.

GLASS, A. D. M.; DUNLOP, J. Influence of phenolic acids on ion uptake: Depolarization of membrane potentials. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 54, p. 855-858, 1974.

GOTTLIEB, O. R. **Micromolecular, evolution, systematics and ecology: an essay into a novel botanical discipline**. Berlin: Springer-Verlag, 1982. 170 p.

GUENTHER, E. **The essential oils**. Huntington: Krieger, 1972. v. 1-6.

GUPTA, R. Agrotechnology of medicianl plants. In: WIJESSEKERA, R. O. B. (Ed.). **The medicinal plant industry**. Boca Raton: CRC, 1991. p. 43-57.

HABERMANN, G. **Trocas gasosas, relações hídricas e hormônios vegetais em laranjeirasdoce, infectadas por *Xylella fastidiosa*, em três regiões do Estado de São Paulo.** 2004. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Botânica)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids:** advances in research since 1986. London: Chapman & Hall, 1994. p. 589-618.

HIERRO, J. L.; CALLAWAY, R. M. Allelopathy and exotic plant invasion. **Plant and Soil**, The Hague, v. 256, p. 29-39, 2003.

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

HUTERWALL. **Hidroponía, cultivo de plantas sin tierra.** Buenos Aires: Albatros, 1986. 251 p.

INDERJIT. Plant phenolics in allelopathy. **Botanical Review**, Bronx, v. 62, p. 186-202, 1996.

INDERJIT, D.; DAKSHINI, K. M. M. Interference potencial of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae): growth and physiological responses of asparagus bean, *Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 79, p. 977-981, 1992.

INDERJIT, D.; DAKSHINI, K. M. M. On laboratory bioassays in allelopathy. **The Botanical Review**, Bronx, v. 61, n. 1, p. 28-44, 1995.

KHAN, M. A. et al. Bioherbicidal effects of tree extracts on seed germination and growth of crops and weeds. **Pakistan Journal Weed Science Research**, Peshawar, v. 11, p. 89-94, 2005.

KORICHEVA, J. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. **Oikos**, Copenhagen, v. 83, p. 212-226, 1998.

LANG, A. L. Papel de los aleloquímicos en el manejo de los recursos naturales. **Boletín de la Sociedad Botánica de México**, Mexico, v. 49, p. 85-99, 1989.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos: RiMa, 2006. 550 p.

LAWRENCE, B. M. A review of the world production of essential oils (1984). **Perfumer and Flavorist Newsletter**, New York, v. 10, p. 76, 1985.

LAWRENCE, B. M. **Mint**: the genus *menthe*. Boca raton: CRC, 2007. 556 p.

LICHTENTHALER, H. K. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 47-65, 1999.

LIMA, A. R.; MOLLAN, T. R. M. Nova variedade de *Mentha arvensis* L. **Bragantia**, Campinas, v. 12, p. 277-284. 1952.

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

LUGG, D. G.; SINCLAIR, T. R. Seasonal changes in morphology and anatomy of field-grow soybean leaves. **Crop Science**, Madison v. 20, n. 2, p. 191-195, 1980.

MACÍAS, F. A. et al. Review: allelopathy: a natural alternative for weed control. **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, p. 327-348, 2007.

MACÍAS, F. A.; GALINDO, C. G.; MASSANET, G. M.; Potential allelopathic activity of several sesquiterpene lactone models. **Phytochemistry**, New York, v. 31, n. 6, p. 1969-1977, 1992.

MACÍAS, F.A. et al. Bioactive steroids from *Oryza sativa* L. **Steroids**, Stoneham, v. 71, p. 603-608, 2006.

MACIAS, F.A. et al. Bioactive flavonoids from *Helianthus annuus* cultivars. **Phytochemistry**, New York, v.45, p.683-687, 1997.

MADUEÑO BOX, M. **Cultivo de plantas medicinais**. Madrid: Labor, 1973. 490 p.

MAFFEI, M. A chemotype of *Mentha longifolia* (L.) Hudson particularly rich in piperitenone oxide. **Flavour Fragrance Journal**, Malden, v. 3, p. 23-26, 1988.

MAFFEI, M. Plasticity and genetic variability in some *Mentha verticillata* hybrids. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 18, p.493-502, 1990.

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

MAIA, N. B. Efeito da nutrição mineral na qualidade do óleo essencial da menta (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva. In: MING, L. C. et al. (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares, avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, 1998. v. 2, p. 81-85.

MAIRAPETYAN, S. K. et al. Otimization of the N:P:K ratio in the nutrient medium of some soilless aromatic and medicinal plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 502, p. 29-32, 1999.

MANDAL, S. Allelopathic activity of root exudates from *Leonurus sibiricus* L. (Raktodrone). **Weed Biology and Management**, Fukui, v. 1, p. 170-175, 2001.

MARASCHIN, M.; VEPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 23, p. 24-28, 1999.

MARENGO, E. et al. Classification of essential mint oils of different geographic origin applying pattern recognition methods to gás chromatographic data. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam. v. 11, p. 75-88, 1991.

McLafferty, F. W.; Stauffer, D. B. **NBS registry of matter spectral data**. New York: Wiley, 1989. v. 1.

MILTHORPE, F. L.; MOORBY, J. Some aspects of overall growth and its modification. In: _____. **An introduction to crop physiology**. London: Cambridge University Press, 1974. p. 152-179.

MONTANARI, J. I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. 2002. Disponível em: <<http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/producao.htm>>. Acesso em: 30 set. 2010.

MORELAND, D. E.; NOVITZKY, W. P. Interference by flavone and flavonols with chloroplast-mediated electron transport and phosphorylation. **Phytochemistry**, New York, v. 27, p. 3359-3366, 1988.

MURRAY, M. J. Genetic observations on *Mentha* oilbiogenesis. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 44 p. 24-31, 1972.

MUSCOLO, A.; PANUCCIO, M. R.; SIDARI, M. The ascorbate system during the early stage of germination in *Pinus laricio* seeds treated with extracts from two different sources of humus. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, p. 275-279, 2001.

NIAKAN, M.; SABERI, K. Effects of *Eucalyptus allelopathy* on growth characters and antioxidante enzymes activity in phalaris weed. **Asian Journal of Plant Sciences**, Faisalabad, v. 8, n. 6 p. 440-446, 2009.

NIAKAN, M.; TAJARI, M.; GHORBANLI, M. Effects of salinity on allelopathic potencial of canola (*Brassica napus* L.) **Allelopathy Journal**, Haryana, v. 21, p. 329-338, 2008.

ORELLANA, A. D.; PERLA, H.; HERRERA, M. Diagnostico de Guatemala. In: CAMPO, R. A. **Domesticación de plantas medicinales em Centroamérica**. Turrialba: Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Ensenaza, 1994. p. 13-27.

PARVEZ, M. M. et al. Effects of quercetin and its seven derivatives on the growth of *Arabidopsis thaliana* and *Neurospora crassa*. **Biochemical Systematic and Ecology**, Oxford, v. 32, p. 631-635, 2004.

PATTERSON, D. T. Effects of allelopathic chemicals on growth and physiological responses of soybean (*Glycine max*) **Weed Science**, Champaign, v. 29, n. 1, p. 53-59, 1981.

PENG, S. L.; WEN, J.; GUO, Q. F. Mechanism and active variety of allelochemical. **Acta Botanica Sínica**, Peiping, v. 46, p. 757-766, 2004.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, E. C. **Análise quantitativa do crescimento de comunidades vegetais**. Campinas: IAC, 1987. 33 p. (Boletim técnico, 114).

PICCAGLIA, R. et al. Agronomic factors affecting the yields and the essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 344, p. 29-40, 1993.

PIETTA, P. G.; SIMONETTI, P. **Antioxidant food supplements in human health**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 283-308.

POPOV, E. G. et al. Effect of temperature on diurnal changes in CO₂ Exchange in intact cucumber plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, New York, v. 50, n. 2, p. 178-182, 2003.

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

PUTNAM, A. R.; DUKE, W. D. Allelopathy in agrosystems. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 16, p. 431-451, 1978.

QASEM, J. R. Allelopathic potential of white top and Syrian sage on vegetable crops. **Agronomy Journal**, Madison, v. 93, n. 1, p. 64-71, 2001.

QASEM, J. R.; FOY, C. L. Weed allelopathy, its ecological impacts and future prospects: a review. **Journal of Crop Production**, New York, v. 4, p. 43-119, 2001.

RADFORD, P. S. Growth analysis formula; their use and abuse. **Crop Science**, Madison, v. 7, p. 171-175, 1967.

RASCHKE, K. Movements using turgor mechanisms, In: HAUPT, W. F. (Ed.). **Physiology of movements**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. p. 383-441.

RICE, E. L. **Allelopathy**. Orland: Academic, 1984. 425 p.

RICE, E. L. Allelopathy: an update. **Botanical Review**, Bronx, v. 45, p. 15-109, 1979.

RIETVELD, W. J. Allelopathic effects of juglone on germination and growth of several herbaceous and woody species. **Journal Chemical Ecology**, New York, v. 9, p. 295-308, 1983.

RIOS-ESTEPA, R. et al. A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpenoid essential oil composition in peppermint. **PNAS**, Washington, DC, v. 105, n. 8, p. 2818-2823, 2008.

RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. Exploration of allelochemicals in improving crop productivity. In: _____. (Eds.). **Allelopathy: basic and applied aspects**. London: Chapman & Hall, 1992. p. 443-472.

ROBERTS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. 337 p.

RODRIGUES, J. D. **Influência de diferentes níveis de cálcio, sobre o desenvolvimento de plantas estilosas (*Stylodanthes guyanensis* (Aubl.) Swartz cv cook), em cultivo hidropônico**. 1990. 180 f. Tese (Livre Docência em Fisiologia Vegetal)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1990.

SACCO, T.; MAFFEI, M.; CHIALVA, F. New hybrids from a seed population of *Mentha arvensis* var. *piperascens* clone 7303. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ESSENTIAL OILS, FRAGRANCES AND FLAVOURS, 11., 1989, New Delhi. **Proceedings...** Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 27-34.

SANTOS, R. I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2007. p. 404-434.

SATOH, M. et al. Studies of the constituents of *Leonurus sibiricus*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 51, p. 341-342, 2003.

SAVONA, G. et al. Diterpenoids from *Leonurus sibiricus*. **Phytochemistry**, New York, v. 21, p. 2699-2701, 1982.

SCAVRONI, J. et al. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L.(Lamiaceae) grown with biosolid. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 17, n. 4, p. 345-352, 2005.

SCHUH, G. et al. Emissions of volatile organic compounds from sunflower and beech: dependence on temperature and light intensity. **Journal of Atmospheric Chemistry**, Netherlands, v. 27, p. 291- 318, 1997.

SHAO, M. et al. Volatile organic compound emissions from Scots pine: mechanisms and description by algorithms. **Journal Geophysical Research**, Washington, DC, v. 106, p. 20483-20491, 2001.

SHIBU J.; ANDREW R. G. Allelopathy in black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping. II. Effects of juglone on hydroponically grown corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L. Merr.) growth and physiology **Plant and Soil**, Netherlands, v. 203 p.199-205, 1998.

SHIRLEY, B. W. Flavonoid biosynthesis: new functions for an old pathway. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 31, p. 377-382, 1996.

SMITH, L. I. **A tutorial on principal components analysis**. v. 26, 2002. Disponível em: <<http://kybele.psych.cornell.edu/~edelman/Psych-465-Spring-2003/PCA-tutorial.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES. C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2007. p. 467-495.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Allelopathy in agroecosystems: a overview. **Journal of Crop Production**, New York, v. 4, p. 1-41, 2001.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MAIMONI-RODELLA, R. C. S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações e capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 343-354, 1988.

TAIZ, L.; ZEIGER E. **Plant physiology**. 4th ed. Massachusetts: Sinauer, 2006. 764 p.

TOPALOV, V. D. *Mentha*. In: TOPALOV, V. D. et al. (Eds.). **Crop production**. Sofia: Zemizdat, 1989. p. 372-381.

TORRES, A. et al. A science of the future. In: WORLD CONGRESS OF ALLELOPATHY, 1., 1996, Cadiz. **Annals...** Cidade: University of Cadiz, 1996. p. 16-20.

URCHEI M. A.; RODRIGUES J. D.; STONE L. F. Análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, p. 497-506, 2000.

VALMORBIDA, J. et al. Crescimento de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes doses de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, p. 27-31, 2007.

VALMORBIDA, J. et al. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva em diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, p. 56-61, 2006.

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 Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

VALMORBIDA, J.; BOARO, C. S. F. Growth and Development of *Mentha piperita* L. in Nutrient Solution as Affected by Rates of Potassium. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 50, p. 379-384, 2007.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the relation index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-467, 1963.

VASQUES, M. C. P. **Influência do magnésio no desenvolvimento, trocas gasosas e rendimento de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva.** 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado Ciências Biológicas/Botânica)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

VIEIRA, R. F. Coleta e conservação de recursos genéticos de plantas medicinais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA E TERAPIAS NATURAIS, 1, 1994, Brasília, DF. **Trabalhos apresentados...** São Paulo: Instituto Médico Seraphis, 1994. p. 44-49.

YVYAN, J. R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. **Tetrahedron**, Oxford, v. 58, p. 1631-1646, 2002.

WATSON, D. J. The physiological basis of variation in yield. In: NORMAN, A. G. **Advance agronomy**. Academic Press Inc. New York. 1952. v. 4, p. 101-145.

WEBSTER, J. et al. Induction of acclimative proteolysis of the light-harvesting chlorophyll a/b protein of photosystem II in response to elevated light intensities. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 118, p. 827-834, 1998.

WORSHAM, A. D. Germination of wicthweed seeds. In: MUSSELMAN, L. (Ed.). **Parasitic weeds in agriculture**. Boca Raton: CRC, 1987. p. 45-61.

XAVIER, F. E. **Análise de crescimento de quatro cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), em duas épocas de plantio, em Viçosa, Minas Gerais**. 1976. 26 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1976.

XUAN, T. D. et al. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: an overview. **Crop Protection**, Guildford, v. 24, n. 3, p. 197-206, 2005.

YU J. Q. et al. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber **Biochemical Systematics and Ecology**, Richmond, v. 31, p. 129-139, 2003.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 718 p.

ZHELJAZKOV, V. D. et al. Yield, content, and composition of peppermint and spearmints as a function of harvesting time and drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 11400-11407, 2010.

ZHELJAZKOV, V. D.; NIELSEN, N. E. Effect of heavy metals on peppermint and cornmint. **Plant Soil**, The Hague, v. 178, n. 1, p. 59-66, 1996.