



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE *Mentha*
spp EM BRASÍLIA E ESTUDO DA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.**

Christian Alfonso González Martínez

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA - DF
Fevereiro 2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE *Mentha*
spp EM BRASÍLIA E ESTUDO DA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.**

CHRISTIAN ALFONSO GONZÁLEZ MARTÍNEZ

ORIENTADOR: JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS

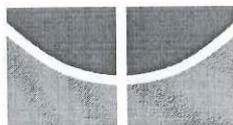
CO-ORIENTADOR: ROBERTO FONTES VIEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 100/2016

BRASÍLIA - DF

Fevereiro de 2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE *Mentha
spp* EM BRASÍLIA E ESTUDO DA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.

CHRISTIAN ALFONSO GONZÁLEZ MARTÍNEZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
AGRONOMIA NA AREA DE CONCENTRAÇÃO DE PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL.

APROVADO POR:

PROF. JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, Dr. (UnB-FAV)

(ORIENTADOR) CPF:002.288.181-68 Email: jkamattos@gmail.com

PROF^a. ANA MARIA RESENDE JUNQUEIRA, Ph.D (UnB-FAV)

(EXAMINADOR INTERNO) CPF:340.655.511-49

Email: anamaria@unb.br

HERMES JANNUZZI, Dr. (COOPERORG/DF)

(EXAMINADOR EXTERNO) CPF:066.567.651-49

Email: jhermes@brturbo.com.br

BRASÍLIA/DF, 23 DE FEVEREIRO DE 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Martinez, Christian Alfonso González.

Principais componentes do óleo essencial de acessos de *Mentha spp* em Brasília e estudo da propagação vegetativa: Dr. Jean Kleber de Abreu Mattos, 2016. 78p.

Dissertação de mestrado - Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. *Mentha spp*; óleo essencial; propagação. I. Mattos, J.K.A. II. Título: Dr.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

MARTÍNEZ, C.A.G.. Principais componentes do óleo essencial de acessos de *Mentha spp* em Brasília e estudo da propagação vegetativa. Brasília: Faculdade de agronomia e Medicina Veterinária- Universidade de Brasília. 2016. 78p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Christian Alfonso González Martínez

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Principais componentes do óleo essencial de acessos de *Mentha spp* em Brasília e estudo da propagação vegetativa.

GRAU: Mestre

ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte de esta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

ChristianGonzalez87

Christian Alfonso González Martínez

Brasília- DF, Brasil

Telefone: (64)92321528 e-mails: christian.gonzalez.martinez.br@gmail.com

Dedico minha Dissertação a minha querida avó **Ana Graciela Saldaña** e minha tia **Ligia Stella Martinez**, pessoas maravilhosas, que com suas orações e conselhos me ajudaram em meu sucesso profissional e pessoal. Também dedico este trabalho a minha amada mãe **Ana Cecilia Martinez**, que com seu amor, incentivo e esforço me possibilitou a permanência no mestrado, não me deixando desamparado diante das adversidades.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por permitir a realização deste sonho.

Aos meus pais, Avelino Gonzalez e Ana Cecilia Martinez, pela dedicação e amor incondicionais. Aos meus irmãos, Luís Gabriel Gonzalez, Juan Ricardo Gonzalez, Lina Maria Gonzalez pelo incentivo, compreensão, amizade e carinho.

Às famílias Gonzalez, Martinez e Saldaña que me motivaram durante esta jornada.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Jean Kleber, acima de tudo pela amizade e acolhimento e cuidado, além de todos os ensinamentos e conselhos oferecidos durante o meu mestrado.

Ao Dr. Roberto Fontes Vieira pela colaboração realizada durante meu mestrado, principalmente durante as análises experimentais e as correções do presente manuscrito.

À professora Dra. Ana Maria Resende Junqueira, pela ajuda, amizade, ensinamentos oferecidos durante o projeto CVT centro vocacional tecnológico.

À Universidade de Brasília que me concedeu a oportunidade e ofereceu recursos que me ajudaram a realizar minha pesquisa. Especialmente o acesso cedido a Estação Experimental de Biologia.

A EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), e pelo espaço físico e suporte técnico e material, os quais possibilitaram a construção deste estudo.

Ao professor Dr. José Ricardo Peixoto pela ajuda durante as análises estatísticas.

A coordenação do Programa de Pós Graduação em Agronomia pelo suporte acadêmico e orientações prestadas.

A FAPDF pelo auxílio financeiro prestado nos últimos três meses de curso.

Ao técnico Ismael da Silva Gomes da EMBRAPA, pela assistência, colaboração e amizade.

Aos colegas e vizinhos da Colina bloco k, especialmente Genilda Canuto Amaral, Julia Viegas Mundim, Natacha Silva, Carolina Alzate, Humberto Borges, Flor silvestre, pela amizade, companheirismo e bom humor durante o tempo de convivência.

À minha amiga Maria Isabel Ordoñez, pela amizade e conselhos durante nossa trajetória acadêmica.

Aos meus amigos Evonne Lopez, Silvia Marcela Escobar Duran, Ana Rita Sousa Almeida, Yury Paola Hernandez, Daniel Fernando Salas Méndez, Jazmin Magaña, Raphael Araújo pelo apoio e amizade.

Ao meu amigo e irmão, Roberto Gomes Vital, e sua família pelo acolhimento e carinho durante nossos três anos de convivência.

Ao meu padrinho, Fernando Moloche Agreda, pelos conselhos, amizade e incentivo, principalmente durante a estadia em Rio Verde – GO.

A todos os meus sinceros agradecimentos.

PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE *Mentha spp* EM BRASÍLIA E ESTUDO DA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.

RESUMO GERAL

As mentas comumente citadas no Brasil são *M. piperita*, *M. piperita var. citrata*, *M. spicata*, *M. x villosa* e *M. arvensis*. Acessos dessas mentas são encontrados com facilidade no Brasil, algumas no comércio local de Brasília, seja na forma de mudas ou na forma de hortaliças frescas em feiras e supermercados. São importantes na culinária, na farmacologia e como fragrâncias. Um ensaio foi instalado para revelar o perfil dos constituintes majoritários do óleo essencial de cinco acessos populares destas espécies no Brasil e especialmente em Brasília. Folhas de plantas com 90 dias de cultivo foram colhidas, secas, hidrodestiladas para obtenção do óleo essencial e analisadas por cromatografia gasosa (CG-FID e CG-MS). Três acessos apresentaram o quimiotipo esperado para a espécie, mentol para *M. arvensis* e *M. piperita* e linalol-acetato de linalila para *M. piperita var. citrata*. *M. x villosa* apresentou o quimiotipo carvona-limoneno e *M. spicata* apresentou o quimiotipo óxido de piperitona-óxido de piperitona, atípicos para as estas espécies. Dois ensaios de propagação estudaram a possibilidade de otimização do método, reduzindo o tamanho do propágulo e ampliando as opções para meios de enraizamento. Foram testados em casa de vegetação, quatro tipos de estacas de estolão aéreo de *M. piperita* quanto ao número de nós (0,5; 1; 2 e 3). O enraizamento das estacas foi feito com dois meios de enraizamento: água em placas de Petri e substrato artesanal confeccionado na própria estação experimental, em vasos. Os melhores resultados foram obtidos com estacas de três nós, enraizadas previamente em substrato artesanal, embora mudas de todos os tratamentos tenham-se apresentado como viáveis. Também se testaram cinco meios de enraizamento em estacas de três nós: substrato artesanal; substrato comercial; areia adubada; areia comum e câmara úmida. As massas secas das mudas enraizadas no substrato artesanal e na areia adubada não diferiram estatisticamente entre si, tendo sido superiores às dos demais tratamentos. Todos os tratamentos produziram estacas viáveis.

Palavras chave: *Mentha spp*; óleo essencial; propagação.

MAIN COMPONENTS OF THE ESSENTIAL OIL OF ACCESSES OF *Mentha spp* IN BRASILIA AND STUDY OF THE VEGETATIVE PROPAGATION.

GENERAL ABSTRACT

The mints more cited in Brazil are *M. piperita*, *M. piperita* var. *citratea*, *M. spicata*, *M. x villosa* and *M. arvensis*. Accessions of these mints are found with easiness in Brazil, some in the local commerce of Brasilia, either in the form of rooted cuttings or the form of vegetables in fairs and supermarkets. They are important in the cuisine, pharmacology and as fragrances. An assay was installed to especially reveal the aromatic profile of five popular accessions of these common species in Brazil and in Brasilia. Leaves of plants with 90 days of culture had been harvested, dried and submitted to hidrodistillation for essential oil extraction and analyzed by gas chromatography (GC-FID; GC-MS). Three accesses presented chemotypes typical for the species, mentol for *M. arvensis* and *M. piperita* and linalool-linalyl acetate for *M. piperita* var. *citratea*. *M. x villosa* presented the unsuspected chemotype carvone-limonene and *M. spicata* presented the unsuspected chemotype piperitenone oxide-piperitone oxide. Also, two assays of vegetative propagation had studied the possibility of improving the method, reducing the size of the cut and extending the options for rooting media. Four types of cuts of aerial stolons of *M. piperita* varying the number of nodes (0,5; 1; 2 and 3) were tested. The rooting of the cuts was made with two media: water in plates of Petri and the homemade substratum confectioned in the proper experimental station, in vases. The best results had been gotten with cuts of three nodes, previously taken root in the homemade substratum, even all the treatments have been presented as viable. Five rooting media were tested in three nodes cuts: homemade substratum; commercial substratum; fertilized sand; common sand and humid chamber. The dry masses of the cuts taken root in the homemade substratum and in the fertilized sand had not differed statistically between themselves, having been superior to the remaining treatments. All the treatments produced viable plants.

Key-words: mint; essential oil; propagation.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	viii
GENERAL ABSTRACT.....	ix
SUMÁRIO.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	4
CAPÍTULO 1. PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE <i>Mentha</i> spp EM BRASÍLIA	6
RESUMO	6
CHAPTER 1. MAIN COMPONENTS OF THE ESSENTIAL OIL OF ACCESSES OF <i>Mentha</i> spp IN BRASILIA ..	7
ABSTRACT.....	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVO.....	8
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
3.1 Descrições das espécies	9
3.1.2 Gênero <i>Mentha</i>	9
3.1.3 <i>Mentha x Villosa</i> huds.....	10
3.1.4 <i>Mentha arvensis</i> L.	11
3.1.5 <i>Mentha piperita</i> L.....	12
3.1.6 <i>Mentha spicata</i> (Spear mint)	13
3.1.7 <i>Mentha x piperita</i> L. var. <i>citrata</i> (Ehrh.) Briq	14
3.2 Isoprenoides, terpenos ou terpenoides.....	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Extração do óleo essencial	25
4.2 Análises cromatográficas	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÕES.....	35

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	36
CAPÍTULO 2. ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ESTOLÕES AÉREOS DE <i>Mentha piperita</i> DE DIFERENTES TAMANHOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS	42
RESUMO	42
CHAPTER 2. ROOTING OF CUTS OF DIFFERENT SIZES FROM AERIAL STOLONS OF <i>Mentha piperita</i> IN DIFFERENT SUBSTRATA	43
ABSTRACT	43
1. INTRODUÇÃO	44
2.OBJETIVO	45
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	45
4. MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1 Ensaio 1	47
4.2 Análises dos dados Ensaio 1	48
4.3 Ensaio 2	48
4.4 Análises dos dados ensaio 2	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 Ensaio 1	56
6. CONCLUSÃO ENSAIO 1	58
7. ENSAIO 2	59
8. CONCLUSÕES ENSAIO 2	62
9. CONCLUSÃO GERAL	62
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Acessos de <i>Mentha</i> spp pesquisados, nomes vulgares e procedência.	24
Tabela 2. Médias da massa fresca, massa seca e rendimento em óleo essencial de cinco acessos de <i>Mentha</i> spp.	30
Tabela 3. Valores médios percentuais de dez compostos majoritários (>1%) ¹ encontrados no óleo essencial de cinco acessos de <i>Mentha</i> spp cultivados em casa de vegetação em Brasília-DF.	31
Tabela 4. Características gerais do Substrato Comercial Vivatto Slim [®] conforme fabricante.	49
Tabela 5. Médias do número de ramos de <i>Mentha piperita</i> aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.	56
Tabela 6. Médias do tamanho da ramagem (cm) de <i>Mentha piperita</i> aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.	56
Tabela 7. Médias de massa fresca(g) de plantas de <i>Mentha piperita</i> aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.	57
Tabela 8. Médias de massa seca (g) de plantas de <i>Mentha piperita</i> aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.	57
Tabela 9. Médias das massas fresca e seca de estacas de <i>Mentha piperita</i> aos 35 dias pós-transplante, previamente enraizadas por 28 dias em cinco meios de enraizamento.	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do isopreno (5 carbonos)	16
Figura 2. Acetato de Linalila	17
Figura 3. Limoneno.....	17
Figura 4. Linalol	18
Figura 5. Mentofurano	19
Figura 6. Mentona	20
Figura 7. Mentol.....	21
Figura 8. Pulegona.....	22
Figura 9. Óxido de piperitenona.....	22
Figura 10. Óxido de piperitona.....	23
Figura 11. 1- <i>Mentha arvensis</i> ; 2- <i>M. arvensis</i> florida. 3- <i>Mentha citrata</i> . 4- <i>Mentha piperita</i> ; 5- <i>M. spicata</i> ; 6- <i>M. x villosa</i> . 7- vista geral da produção de biomassa dos cinco acessos.....	27
Figura 12. 1- corte da amostra seca; 2- pesagem da amostra; 3- colocação da amostra seca no balão; 4- hidrodestilação em curso.....	28
Figura 13. 1- coleta do óleo essencial; 2- eppendorfs contendo o óleo essencial; 3-minicentrífuga; 4- cromatógrafo.	29
Figura 14. Ensaio 1 de propagação: 1- aspecto geral do ensaio 1. 2- estacas de <i>Mentha</i> spp sobre substrato sólido para enraizamento sob estufim. 3- estacas brotadas após 28 dias sob estufim.	50
Figura 15. Ensaio 1 de propagação: 1- estaca enraizada de dois nós. 2- estacas de um nó enraizadas em água. 3- separação das gemas brotadas na estaca de um nó para obter duas estacas enraizadas de meio nó (à direita).	51
Figura 16. Ensaio 1 de propagação: aspecto das plantas de <i>M. piperita</i> com dois meses de idade do acordo com os diversos tratamentos. No alto, da esquerda para a direita: enraizamento em água (AR): estacas de 3, 2, 1 e 0,5 nós. Em baixo, da esquerda para.	52
Figura 17. Ensaio 2 de propagação. 1- mudas de <i>Mentha piperita</i> de três nós com 28 dias, ao momento do transplante, de acordo com os tratamentos (meios de enraizamento). 2- Mistura EEB, Substrato Comercial, Areia Adubada, Areia Sem a	53
Figura 18. Mudas de três nós de <i>Mentha piperita</i> com 28 dias, ao momento do transplante, de acordo com os tratamentos (meios de enraizamento): da esquerda para a direita: Mistura EEB, Substrato Comercial, Areia Adubada, Areia Sem Adubo e Câmara úmida.	54

Figura 19. Ensaio 2 propagação. 1- aspecto geral do ensaio. 2- pesagem das plantas na colheita. Em
baixo, aspecto das plantas na colheita, conforme o tratamento..... 55

INTRODUÇÃO GERAL

A família *Lamiaceae* possui grande número de espécies aromáticas. Esta família encerra 200 gêneros e aproximadamente 3.200 espécies. Um dos gêneros mais importantes é o gênero *Mentha*, no qual já foram identificadas 18 espécies. As espécies do gênero *Mentha* são ordinariamente identificadas mediante análise de sua morfologia externa: formato e cor das folhas, rugosidade, crisposidade, pilosidade e o padrão das inflorescências (terminais ou não, espiciformes ou não, intercalares ou não) também pela cor das flores e as características das peças florais. No entanto, este método de classificação vem sendo complementado pela análise do perfil de substâncias aromáticas contidas no óleo essencial, que define o seu quimiotipo (LIMA & CARDOSO, 2007; DECHAMPS et al. 2013).

Além disso, a determinação do número de cromossomos tem sido acessada, no sentido não apenas de distinguir as espécies, mas sobretudo para definir a filogenia do grupo. Estudos realizados por vários pesquisadores definiram cinco seções no gênero *Mentha* (*Audibertia*, *Eriodontes*, *Pulegium*, *Preslia* e *Mentha*). A identificação das quatro primeiras não apresenta maiores dificuldades porquanto não se observa hibridação interespecífica. A quinta seção, que compreende cinco espécies (*M. suaveolens* Ehrh., *M. longifolia* (L.) Hudson, *M. spicata* L., *M. arvensis* L. e *M. aquatica* L.) tem um número básico de cromossomos de $x = 12$. Os genomas variam de diplóides a octoplóides. As espécies apresentam rizoma vigoroso, auto-compatibilidade e multiplicação garantida graças a ginodioicia (GOBERT et al., 2002).

Utilizadas de forma integrada, tais informações permitem maior precisão na identificação dos genótipos.

As mentas apresentam óleos essenciais que são produzidos e armazenados em estruturas especializadas denominadas tricomas glandulares, que estão encontradas geralmente na face abaxial das folhas, podendo ocorrer também na face adaxial, porém em menor densidade (GASPARIN et al. 2014).

Os óleos essenciais são geralmente compostos por terpenos. A prevalência de um ou mais componentes no óleo essencial, determina o quimiotipo. A determinação do quimiotipo de um acesso de *Mentha* resulta num indicativo de sua utilização e importância, seja para fins culinários, medicinais e de uso na indústria da perfumaria. Os acessos de uma única espécie podem apresentar diferentes quimiotipos, em geral variando menos nos acessos cultivados e variando mais nos acessos nativos e espontâneos. Na Grécia, investigação sobre quimiotipos de *M. spicata* concluiu que os acessos comerciais eram geralmente ricos em carvona e

dihidrocarvona, enquanto os nativos apresentavam maior variação com a ocorrência dos quatro outros quimiotipos: linalol; óxido de piperitona-óxido de piperitenona; carvona-dihidrocarvona e pulegona-mentona-isomentona (KOKKINI & VOKOU 1989; DESCHAMPS et al., 2006).

As mentas apresentam polinização entomófila, destacando-se a participação majoritária de *Apis mellifera* (Hymenoptera) em geral, o que se dá igualmente com outros gêneros da mesma família (PEREIRA & BARROS, 2000). Esta característica traz como consequência uma acentuada diversidade, constituída por formas híbridas apresentando-se com características mescladas dos parentais, as quais também são conhecidas como formas intermediárias. Decorre daí a ocorrência de formas híbridas estéreis, porquanto ocorre o cruzamento entre espécies diferentes do mesmo gênero (KOKKINI & VOKOU 1989; HALLIDAY & BEADLE, 1972).

As mentas apresentam plasticidade fenotípica e variabilidade genética. Pela plasticidade fenotípica as características morfológicas consideradas tão importantes na taxonomia do gênero, podem variar acentuadamente conforme as condições ambientais do cultivo (ADJUTO, 2008)

Os acessos híbridos estéreis, desde que do interesse do homem, somente são propagados vegetativamente por estaquia, utilizando-se segmentos de diversas partes da planta, notadamente dos estolões, sejam aéreos ou subterrâneos. Nas populações de híbridos em que predominam os de tipo sub-fértil, a dificuldade da propagação gâmica é parcialmente sanada mediante cruzamentos com as outras espécies ou com as espécies genitoras, fato que resulta em alta variedade em termos de número de cromossomos (24-120) (GOBERT, et al. 2002).

As mentas são propagadas por sementes e por estaquia. As estacas podem ser retiradas de qualquer parte da planta. Tradicionalmente as estacas são obtidas a partir de estolões sejam eles aéreos ou subterrâneos e devem ter pelo menos três nós ou 10 a 12 cm de tamanho. São necessários 100 a 160 kg de rizomas em viveiro para produzir mudas para 1 ha de cultura (DUARTE et al.1998; SANTOS et al. 2012; RICHTER, 1999).

As mentas apresentam grande facilidade de regeneração dos tecidos, sendo, portanto, uma cultura de fácil propagação vegetativa. O ambiente de casa de vegetação com umidade em torno de 70% e sombreamento parcial é considerado bom. Médias de temperaturas noturnas mínimas de 12°C e média de temperaturas diurnas mínima de 16 °C, são condições consideradas suficientes para o crescimento das mentas em geral. Estacas de ramos normais

podem produzir mudas e são cortadas em segmentos de 5 cm que são postos s enraizar em leito próprio, nas referidas condições (RICHTER, 1999).

A grande facilidade de enraizamento das partes vegetativas das mentas tem estimulado pesquisas sobre leitos de enraizamento, tamanho e tipos de estacas, seja a nível de viveiro, seja a nível de laboratório com as técnicas de cultura de tecidos, não apenas para a produção de mudas como também para o armazenamento “in vitro” (REED, 1999; AFLATUNI et al. 2005; RECH & PIRES, 1986).

Ensaio de miniestaquia reduziram o tamanho da estaca à condição “apenas nodal”. Autores têm procurado definir qual a melhor estaca, retirando-as de diferentes partes da planta e comparando seu desenvolvimento a nível de viveiro. Diferentes leitos de enraizamento têm sido testados, especialmente as misturas de materiais leves, que possibilitem uma boa drenagem, oxigenação e calor, tais como areia, casca de coco, composto orgânico, substrato à base de casca de pinheiro, e outros (EL-KELTAWI & CROTEAU, 1986; THOMAS, 2009; SANGWAN et al., 2009; OLIVEIRA et al, 2011).

O objetivo de presente trabalho foi definir os quimiotipos de cinco acessos de *Mentha spp* populares no Brasil e no comércio de Brasília e também estabelecer a relação entre o enraizamento de estacas de estolões de *Mentha piperita* de vários tamanhos em diferentes meios de enraizamento e estudar o desenvolvimento posterior de mudas do acesso em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADJUTO, E. N. P.. **Caracterização morfológica e do óleo essencial de seis acessos de hortelãzinho (*Mentha spp*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – FAV- Universidade de Brasília, 2008. 93 fl.
- AFLATUNI, A.; UUSITALO S.EK & HOHTOLA, A. Variation in the Amount of Yield and in the Extract Composition Between Conventionally Produced and Micropropagated Peppermint and Spearmint. **Journal of Essential Oil Research**.v.17.n.1 p. 66-70. 2005.
- DESCHAMPS,C.; MONTEIRO R.; MACHADO, M.P.; SCHEER, A.P.; LÍLIAN COCCO, L.; YAMAMOTO, C. Avaliação de genótipos de *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* e *Mentha spp*. para a produção de mentol. **Hortic. Bras.** [online]. vol.31, n.2, p. 178-183. 2013.
- DUARTE, F.R., MAIA, N.B., CALHEIROS, M. B. P., BOVI, O. A. **Menta ou Hortelã. *Mentha arvensis* L.** Boletim IAC - 200, p.20.1998.
- EL-KELTAWI, N E., CROTEAU, R. Single-node cuttings as a new method of mint propagation. **Scientia Horticulturae**. v. 29 :p.101-105. 1986.
- GASPARIN, P.P.*; ALVES, N.C.C; CHRIST,D; COELHO, S.R.M. Qualidade de folhas e rendimento de óleo essencial em hortelã pimenta (*Mentha x piperita* L.) submetida ao processo de secagem em secador de leito fixo. **Rev. bras. plantas med.** Botucatu, vol.16, n. 2, 2014.
- GOBERT, V. MOJA S., COLSON, M. & TABERLET P. Hybridization in the section *Mentha*(Lamiaceae) inferred from AFLP markers. **American Journal of Botany**.v.89 p.2017-2023. 2002.
- GOBERT, V. MOJA S.; COLSON, M. & TABERLET, P. Hybridization in the section *Mentha*(Lamiaceae) inferred from AFLP markers. **American Journal of Botany**.v.89 p.2017-2023. 2002.
- HALLIDAY, G.; BEADLE, M. *Flora Europaea*. London: Cambridge, v.3, p.185-186, 1972.
- HARLEY R. M.; BRIGHTON C. A. Chromosome numbers in the genus *Mentha* L. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 74 n.1 p 71-96. 1977.
- KOKKINI, S.;VOKOU, D. *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. **Economic Botany April**, v. 43, n.2, p 192-202.1989.
- LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos** Vol.3 Nº03 p 14-24.2007.
- OLIVEIRA, M.B., AMARO, H.T.R., SILVA NETA, I.C., ASSIS, M.O., DAVID, A.M.S.S.,

CUNHA, L.M.V. **Qualidade de mudas de menta (*Mentha arvensis* L.) enraizadas em diferentes substratos, no norte de Minas Gerais.** Congresso Brasileiro de Agroecologia. Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE, 2011, p 1-6.

PEREIRA NETO, J.V. & BARROS, M.A.G. **Biologia reprodutiva e polinização de *Ocimum minimum* L.** (Labiatae) Anais do 51º Congresso Nacional de Botânica:. Brasília-DF, 23 a 29/7/2000. p. 187.

RECH, E. L. PIRES, M. J. Tissue culture propagation of *Mentha* spp. by the use of axillary buds. **Plant Cell Rep** v.5n.1pp:17-18. 1986.

REED, B.M. In Vitro Storage Conditions for Mint Germplasm. **HortScience**, v. 34. n. 2. pp:350-352.1999.

RICHTER C. Success With Mints. Grower Talks, v. 63, n. 1. p. 1.1999.

SANGWAN, R.S., SANGWAN, N.S., KUMAR, S. Process for the induction of normal roots on nodes and internodes of stem segments without using hormone and/or chemical treatments in *Mentha* species. US 6586248 B2. **Council of Scientific & Industrial Research** 2003.

SANTOS, V.M.C.S.; SCHNEIDER, T.R.; BIZZO, H.R.; DESCHAMPS, C. Alternativas de propagação na produção de óleo essencial de *Mentha canadensis* L. no Litoral Norte Catarinense. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.1, p.97-102, 2012.

THOMAS,P.E.L. A Rhizome Germinating Technique for Glasshouse Propagation. Pest Articles & News Summaries. **Section C. Weed Control** v.13,n.3. pp:221-222. 2009 reprint

CAPÍTULO 1. PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE *Mentha* spp EM BRASÍLIA

RESUMO

As mentas comumente citadas no Brasil são *M. piperita*, *M. piperita* var. *citrata*, *M. spicata*, *M. x villosa* e *M. arvensis*. Acessos dessas mentas são encontrados com facilidade no Brasil, algumas no comércio local de Brasília, seja na forma de mudas ou na forma de hortaliças frescas em feiras e supermercados. São importantes na culinária, na farmacologia e como fragrâncias. Um ensaio foi instalado para revelar o perfil dos constituintes majoritários do óleo essencial de cinco acessos populares destas espécies no Brasil e especialmente em Brasília. Folhas de plantas com 90 dias de cultivo foram colhidas, secas, hidrodestiladas para obtenção do óleo essencial e analisadas por cromatografia gasosa (CG-FID e CG-MS). Com exceção de *M. x villosa* e *M. spicata*, todos os demais acessos apresentaram o quimiotipo esperado para a espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Menta; Óleo Essencial

CHAPTER 1. MAIN COMPONENTS OF THE ESSENTIAL OIL OF ACCESSES OF *Mentha* spp IN BRASILIA

ABSTRACT

The mints more cited in Brazil are *M. piperita*, *M. piperita* var. *citrata*, *M. spicata*, *M. x villosa* and *M. arvensis*. Accessions of these mints are found with easiness in Brazil, some in the local commerce of Brasilia, either in the form of rooted cuttings or the form of vegetables in fairs and supermarkets. They are important in the cuisine, pharmacology and as fragrances. An assay was installed to especially reveal the aromatic profile of five popular accessions of these common species in Brazil and in Brasilia. Leaves of plants with 90 days of culture had been harvested, dried and submitted to hidrodistillation for essential oil extraction and analyzed by gas chromatography (GC-FID; GC-MS). With exception of *M. x villosa* and *M. spicata*, all accessions presented expected chemotypes for the species.

KEYWORD: Mint; Essential Oil

1 INTRODUÇÃO

São 25 a 30 espécies no gênero *Mentha* (MARTINS, 2002). As mais comumente citadas no Brasil são *M. piperita*, *M. piperita* var. *citrata*, *M. spicata*, *M. x villosa* e *M. arvensis*. Acessos dessas mentas são encontrados com facilidade no Brasil, algumas no comércio local de Brasília, seja na forma de mudas ou na forma de hortaliças frescas em feiras e supermercados.

Destas mentas, a *M. piperita* e a *M. arvensis* são as que são cultivadas em larga escala, a *M. piperita* sendo mais concentrada no Sul do país e *M. arvensis* apresentando uma distribuição mais ampliada em razão de sua maior tolerância aos dias curtos. *M. spicata* por sua vez não tem expressão como plantio comercial. No entanto, suas sementes são as mais vendidas no varejo, sendo praticamente as únicas disponíveis no mercado para plantios domésticos. Praticamente todas as sementes de menta comercializadas no varejo no Brasil pertencem à espécie *M. spicata*. Tem-se observado que as plantas que crescem oriundas da germinação dessas sementes apresentam o mesmo morfotipo.

O hortelanzinho (*M. x villosa*) é vendido fresco nas feiras e supermercados como hortaliça. Alguns acessos de *M. x villosa* são ricos em óxido de piperitenona, um princípio ativo eficaz contra amebíase e giardíase, encontrado no medicamento Giamebil (SILVA, 2014). Não se encontram sementes de *M x villosa* no mercado, pois é basicamente propagado por via vegetativa.

O acesso de *M. piperita* var. *citrata* tem sido abundante no comércio de mudas e na forma fresca nas feiras de apelo afro-brasileiro sob os nomes de “bergamota” e “alevante”, sendo utilizadas em banhos medicinais. Não se encontram sementes desta espécie no mercado. Embora cada espécie seja referida por um quimiotipo padrão, o perfil químico do óleo essencial pode variar individualmente, seja por diversidade genética (segregação de caracteres), seja por influência de fatores ambientais.

2 OBJETIVO

Identificar os quimiotipos de cinco acessos de *Mentha spp* populares no Brasil e no comércio de Brasília.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Descrições das espécies

O primeiro biólogo em classificar e descrever o gênero *Mentha* foi Carlos Lineu, que é considerado o pai da classificação científica dos organismos vivos. Este gênero apresenta diferentes espécies muito importantes, que se caracterizam por produzirem essências específicas, cujas propriedades vêm sendo pesquisadas há muitos anos. As espécies mais importantes que pertencem ao gênero *Mentha* são cerca de 25, mas as mais importantes que podemos citar são: *Mentha piperita* L. (hortelã pimenta), *Mentha spicata* L. (hortelã verde), *Mentha citrata* L. (bergamota/alevante), (*Mentha villosa* L. (hortelanzinho) e *Mentha arvensis* L. (hortelã japonesa) Estas espécies são mais frequentemente reconhecidas comercialmente por seu óleos essenciais (MARTINS 2002).

O nome popular menta, é originário do latino *Mentha* e em grego μίνθη que significa hortelã. Este nome vem da mitologia grega e conta a história que Perséfone casado com Hades o deus do submundo, tinha como amante a ninfa Mentha. Demeter, mãe de Perséfone descobre que Hades estava saindo com a ninfa e conta para sua filha Perséfone. Esta teria surrado a ninfa até ao ponto dela desintegrar-se. De seus restos nasceu uma planta denominada *Mentha*. (ATSMA, 2015)

3.1.2 Gênero *Mentha*

O gênero *Mentha* pertence à da família *Lamiaceae*. Este gênero desde muito tempo é conhecido pelos chineses. Desde a antiguidade já se faziam referência a suas propriedades calmantes e antiespasmódicas. O grego Hipócrates considerado o pai da medicina acreditava que as espécies do gênero *Mentha* são afrodisíacas. Na atualidade é considerado um dos chás mais importantes para facilitar a digestão comida, depois da Verbena e da Tília (CARRICONDE et al., 1995).

O gênero *Mentha* inclui ervas aromáticas perenes que são cultivadas pelos benefícios dos óleos essenciais que produzem, tanto para a medicina natural como para fins culinários. Na atualidade existem muitas espécies que pertencem ao mesmo gênero e têm sido objeto de muitas especulações durante vários anos, devido ao elevado polimorfismo e à elevada variação da composição do óleo essencial. (CARRICONDE et al., 1995).

Pesquisadores reconhecem a existência de cinco secções no gênero *Mentha* (*Audibertia*, *Eriodontes*, *Pulegium*, *Preslia* e *Mentha*). Delas, as quatro primeiras não apresentam maiores dificuldades para sua identificação, porquanto não se registram casos de hibridação interespecífica. A quinta secção compreende cinco espécies (*M. suaveolens* Ehrh., *M. longifolia* (L.) Hudson, *M. spicata* L., *M. arvensis* L. e *M. aquatica* L.) (HARLEY & BRIGHTON, 1977). Estas espécies têm um número básico de cromossomos de $x = 12$. É sabido que o número de cromossomos das mentas varia bastante devido à ocorrência da poliploidia. As plantas da secção *Mentha* apresentam rizoma vigoroso, auto-compatibilidade e multiplicação garantida graças a ginodioiccia (GOBERT et al., 2002).

Ocorre, no gênero *Mentha*, hibridação interespecífica com elevada frequência, tanto em populações silvestres como em populações de espécies cultivadas. Apesar da maioria dos híbridos ser estéril ou sub-fértil, o uso da propagação vegetativa pode garantir a sua perpetuação. Nas populações de híbridos em que predominam os de tipo sub-fértil, esta situação é contornada através de cruzamentos com as outras espécies ou com as progenitoras, fato que produz, alta variedade em termos de número de cromossomos (24-120). (GOBERT et al., 2002).

A sistemática do gênero *Mentha* representa um desafio aos taxonomistas em virtude da alta incidência da poliploidia, a variação no número base de cromossomos, da morfologia variada, propagação vegetativa e frequente hibridação interespecífica (BUNSAWAT et al., 2004). Os híbridos e espécies mais conhecidos deste gênero são *M. x piperita* (hortelã pimenta), *M. spicata* L. (menta verde) e *M. arvensis* (menta japonesa), todos cultivados em grande escala comercial para extração de óleo essencial rico principalmente em mentol, um monoterpeno natural de alto valor comercial, muito embora outros componentes do óleo essencial apresentem elevado interesse para o mercado (GOBERT et al., 2002).

3.1.3 *Mentha x Villosa huds*

A *Mentha x Villosa huds* tem muitos nomes populares em todo mundo como por exemplo hortelã rasteira, hortelã de panela, hortelã, hortelã-rasteira e hortelã de temperos (RADÜNZ, 2004). Esta espécie tem características importantes que a identificam como perene, ereta, com 30 cm a 40 cm de altura, folhas ovais, curtamente pecioladas, com aroma forte e bem característico (LOEWENFELD & BACK, 1980). A literatura etnobotânica refere que esta espécie é utilizada como planta medicinal e também como aditivo alimentar desde os

primórdios da civilização ocidental. Segundo Lawrence (1985), é também de grande importância industrial. A espécie é muito usada no Brasil por sua importância como planta medicinal, sendo importante para as indústrias química, farmacêutica e alimentícia (GUPTA, 1991).

A espécie contém óleo essencial rico em mentona e 1,2 - epoxipulegona e também óxido de piperitenona que é considerado seu princípio ativo no combate às verminoses (MATOS, 2007).

A menta de temperos (*M. x villosa*), originou-se de um cruzamento de *M. spicata* com *M. suaveolens*. Por ser um híbrido de retrocruzamento, a *Mentha villosa* tem características da *Mentha spicata* e às vezes é muito difícil de distingui-la por causa de cruzamentos. Em virtude de características intermediárias devidas a cruzamentos, esta menta apresenta várias sinonímias: *Mentha alopecuroides* Hull; *Mentha nemorosa* Willd. e *Mentha x villosa* Huds. (pro sp.) var. *alopecuroides* (Hull) Briq. (pro nm.), de acordo com o USDA- Natural Resources Conservation Service. (ADJUTO, 2008).

Embora seja uma espécie nativa nas regiões temperadas do hemisfério norte ela se desenvolve nos cinco continentes (América, Ásia, África, Austrália e Oceania). No Brasil ocorrem vários tipos de hortelãs, mas os tipos são originários da Europa, onde os portugueses as trouxeram ao sul do país, quando da colonização. Na atualidade é encontrada em todos os estados do Brasil de norte ao sul. (CARRICONDE et al., 1995).

A etnobotânica registrou a importância ao uso da *Mentha x villosa*, bem conhecida no mundo e no Brasil, para tratamentos de perturbação gástrica e diarreia sanguinolenta em crianças no Nordeste do Brasil. Vários estudos clínicos confirmaram que a planta tem ação antiparasitária com sucesso de 90% e 70%, respectivamente, no controle da amebíase e giardíase humana. (MATOS et al. 1999).

3.1.4 Mentha arvensis L.

Segundo Bustamante (1996), a *Mentha arvensis* é uma labiada herbácea, vivaz, vertical, que pode ter um tamanho de 40 cm de altura. Esta planta tem talos quadrangulares bem ramificados e os ramos florais não tem flores no vértice. Apresenta folhas grandes e longas cobertas por pelos finos, curtos e macios. O formato das folhas é lanceolado, com ápice agudo. O limbo foliar tem bordas serradas com os dentes inclinados. As inflorescências são formadas por pequenos pseudo-verticilos, na parte superior do ramo. As flores são

brancas. Os cálices apresentam dentes curtos e longos e pelos internos. Há anéis de pelos na corola. Os rizomas são bastante frágeis.

Esta espécie é conhecida no Brasil como *Menta japonesa* cujo nome botânico é *Mentha arvensis L. var. piperascens* Malinvand. Em outros países os nomes vulgares também variam em espanhol: *Menta Japonesa*; em francês: *Menthe type japon*; em inglês: *Japanese peppermint*; em alemão: *Pfefferminze*; em italiano: *Menta* e na língua Basca: *Menda*. (BUSTAMANTE, 1996, LORENZI; MATOS, 2008),

Esta planta é utilizada tanto na medicina popular como na indústria de substâncias aromáticas em virtude de seu componente majoritário, mentol, sendo utilizada na indústria de bebidas alcoólicas, em medicamentos como peitoral e para inalações, na indústria de cigarros (mentolados), em pomadas, e no tratamento de micoses (frieiras). A planta tem um sabor muito amargo, refrescante com odor característico. Os principais componentes estão em seu óleo essencial, onde se destaca o mentol, que pode alcançar e superar 80% do óleo essencial. Outros compostos são: acetato de mentila, mentona, piperitona, furfural, álcool amílico, canfeno, entre outros.(MOREIRA et al.2010)

Décadas passadas, as maiores partidas desta menta do mundo provinham do Brasil e da China. China e Índia, posteriormente, suplantaram o Brasil e, mais recentemente, a Índia liderou o mundo na produção dessa planta e de seus produtos. (LAL et al., 2000; YASEEN et al., 2000)

A espécie é plantada de 700 a 1000m de altitude. É cultivada em climas temperados ou temperado-quente, com muita chuva. A propagação se dá majoritariamente por estolões embora sementes possam ser encontradas. As principais pragas que apresenta esta espécie são: ataque da mosca branca, dos pulgões e das as formigas que atacam ao iniciarem-se as brotações. Essas pragas causam danos importantes à cultura (BUSTAMANTE, 1996).

3.1.5 *Mentha piperita* L

A *M. piperita* é um híbrido de *M. aquatica* L. com *M. viridis* L. (= *M. spicata* L.). Como a *M. spicata* é, por sua vez, também um híbrido de *M. rotundifolia* L. com *M. longifolia* (= *M. sylvestris* L.), conclui-se que *M. piperita* é o resultado de uma tríplice hibridação natural (LORENZI; MATOS, 2008)..

Segundo Page & Stearn (1992) na *Mentha x piperita* as folhas são normais, nem jaspeadas nem rugosas. As folhas são pecioladas; apresentando o pecíolo em torno de 4 mm

de comprimento. O limbo foliar lanceolado, 1,5 a 2 vezes mais comprido que largo. O limbo foliar mais ou menos 5 cm de comprimento, com relação C/L 3:2 a 4:2. Os verticilos florais encontram-se na ponta dos ramos formando uma espiga ou capítulo terminal. A planta tem odor de mentol.

O Brasil já foi o maior exportador mundial de óleo essencial de menta (*Mentha piperita*), entretanto passou à grande importador, devido ao baixo nível tecnológico de produção empregado na região sul do país onde era cultivada em larga escala (LORENZI; MATOS, 2008).

Os componentes majoritários são mentol e mentona, que podem variar de 43-54% e 12 e 30% respectivamente, conforme o acesso, ao momento do pleno florescimento (ROHLOFF et al.2005).

Segundo Toker & Debaggio (2009) a variedade Mitcham de *M. piperita* apresenta um óleo essencial dominado por 16 a 61 % de mentol, 2 a 34% de mentona, traços a 20% de metil acetato, traços a 14% de pulegona, dependendo de pequena variação genética, época de colheita e da percentagem de flores utilizadas na destilação. A medida em que a estação de crescimento progride, os níveis de mentol e mentil acetato aumentam enquanto os níveis de mentona diminuem. Um retardo na colheita pode aumentar os níveis de mentol, contudo o rendimento em óleo pode cair.

A espécie desenvolve-se melhor em regiões de clima ameno e dias longos, daí porque seus plantios no Brasil estão concentrados na região Sul do país (LORENZI; MATOS, 2008).

3.1.6 *Mentha spicata* (Spear mint)

Segundo Page & Stearn (1985) a *Mentha spicata*, conhecida também como menta de jardim, é a menta mais popular e a que mais se cultiva em geral internacionalmente para utilização na cozinha, ainda que não pareça existir no estado silvestre pode tornar-se a partir de cultivo existentes na região. Provavelmente se origina do cruzamento da menta da folha grande (*Mentha. longifolia*) e a menta de folhas circulares (*Mentha. suaveolens*), está com 24 e aquela com 48 cromossomas. Cresce de 30-45 cm de altura, com talos e folhas quase glabros. Folhas lanceoladas, quase sem pecíolo e de uma cor verde brilhante. As flores são lilases, em espiga terminal”

O nome *Mentha spicata* deriva das inflorescências serem em forma de espiga. Já a sinonímia *Mentha viridis*, refere-se à cor verde brilhante das folhas. O óleo essencial não inferior a 1%, contém entre 55 a 80% de carvona, 5 a 20% de limoneno e cerca de 2% de

outros constituintes, como mentona, mentol, mentofurano, acetato de mentilo e cineol (CUNHA, 2007).

Segundo Toker & Debaggio (2009) a espécie apresenta diversas formas, incluindo aquelas onde as folhas são lisas, pilosas, crespas e rugosas. As formas pilosas já foram erroneamente denominadas de *M. longifolia*.

Tão variável quanto a morfologia é a o perfil do óleo essencial. Os acessos mais comumente cultivados ou “típicos”, apresentam no óleo essencial alta percentagem de carvona, de 20 a 83% com mais de 38% de dihidrocarveol, 30% de linalol, 22% de dihidrocarvona, 20% de limoneno, 12% de dihidrocarvilacetato, 12% de felandreno, e/ou 11% de 1,8-cineol (TUKER & DEBAGGIO,2009)

No comercio do Brasil as sementes de determinado acesso de *M. spicata* são abundantes sob diversas marcas correspondendo no entanto ao mesmo morfotipo.

3.1.7 *Mentha x piperita* L. var. *citrate* (Ehrh.) Briq

A *Mentha x Piperita citrate*, ou *Mentha citrate* Ehrh., conhecida popularmente como alevante (Bahia) ou bergamota (Recife), é uma planta aromática que desfruta de prestígio em regiões onde prevalece a terapia de banhos aromáticos de origem africana, como em Salvador na Bahia. Não apenas pelo aroma cítrico que exala, mas ainda pelo efeito visual da planta de tonalidade arroxeadada, a espécie é imprescindível a quem se empenhe em construir um jardim aromático (LORENZI & MATOS, 2008). Apresenta folhas normais, nem jaspeadas nem rugosas. Folhas pecioladas; pecíolo de mais de 4 mm de comprimento, limbo foliar lanceolado, raras vezes maior que 5 cm de comprimento com relação C/L aproximadamente 3:2. Verticilos florais na ponta dos ramos formando uma espiga ou capítulo terminal. Odor de limão (PAGE & STEARN, 1985).

Ferreira (2008) descreve um acesso da espécie como uma planta herbácea, perene, semi-prostrada, com caule tipo haste, arroxeadado e glabro com folhas são decussadas, opostas, simples, constituindo-se de microfolha, com área foliar média de de 4,67cm², de coloração verde clara em ambas as faces, com pecíolo séssil inserido na margem da folha, apresenta textura membranácea rugosa e superfície glabra. A lâmina simétrica é oblonga, com relação 1:3, sendo o ápice agudo, com ângulo de 45°, e a base arredondada, formada com ângulo obtuso de 180°, com venação pinada tipo craspedródoma. Possui margem serreada, dente de 1 ordem, tipo CV/AC, convexo no lado apical e acuminado no lado basal, apresenta 4 a 5

dentes.cm⁻¹ com intervalo variado de 0,3 a 0,4 cm, com ângulo apical agudo e o seio da face angular. A autora acrescenta que nas condições de Brasília, apresenta bom desenvolvimento e estabelecimento, contudo não floresce. O genótipo apresenta tolerância à ferrugem.

A mesma autora, analisando o perfil do óleo essencial encontrou para um acesso de *M. citrata* como componentes principais, linalol (42,78%) e acetato de linalila (33,12%) além de limoneno (0,45%).

Em plantas transformadas com *Agrobacterium tumefaciens*, Spencer et al. (1993) encontraram linalol (42,78%) e acetato de linalila perfazendo juntos 90% da composição do óleo essencial.

Ram et al. (1995) demonstraram a influência da irrigação e da adubação nitrogenada em *M. citrata* especialmente no implemento do teor de linalol seu principal constituinte.

3.2 Isoprenoides, terpenos ou terpenoides.

Este grupo origina-se de uma condensação repetida de vários blocos básicos. O primeiro destes blocos básicos é denominado isopentenilpirofosfato (5 carbonos). Duas classes de enzimas atuam e são muito específicas. As primeiras, preniltransferases, condensam. Fazem a ligação dos blocos cauda a cauda. Por exemplo, entre um farnesilpirofosfato (10 carbonos) com um isopentenilpirofosfato (5 carbonos), resultando no composto geranylpirofosfato (15 carbonos) (Fig. 2). A outra classe importante de enzimas são as ciclases. As ciclases não fazem a condensação C-C intermolecular e sim intramolecular. No caso do farnesilpirofosfato ele serve de substrato para várias ciclases diferentes que formam os monoterpenóides, que são principalmente óleos essenciais. Eles são responsáveis por aromas, fragrâncias e interação planta-inseto (CROTEAU *et al.*, 2000). TAIZ & ZEIGER, 2004.

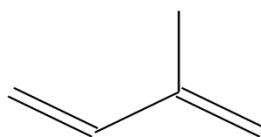


Figura 1. Estrutura do isopreno (5 carbonos)

O geranylpirofosfato, mediante um grupo característico de ciclases forma sesquiterpenos que são principalmente fitoalexinas e por isso estão relacionados com a interação planta-microrganismo ou pode formar esteróides que são componentes de membranas. O geranyl-geranyl-pirofosfato (20 carbonos), mediante um grupo característico de ciclases forma diterpenos que estão envolvidos com a interação planta-microrganismo e carotenóides que estão envolvidos com fotoproteção (CROTEAU *et al.*, 2000)

As ciclases são muito espécie-específicas. Considerando várias espécies de plantas, cada uma delas pode ter uma ciclase diferente e conseqüentemente vai gerar monoterpenos diferentes. Encontram-se espécies de plantas muito próximas com substâncias aromáticas bastante diferentes. Quando se comparam essas classes de ciclases observa-se que elas são muito parecidas entre si. Qualquer mutação que simplesmente não desative o ciclo ativo da proteína da proteína (enzima) pode levar a formar um novo monoterpene, daí a presença de um novo aroma, de uma nova fragrância ou um composto que é mais propício para a interação planta-inseto em um dado momento (ERMAN, 1985; DI STASI, 1996; BALMÉ, 2004)

Os compostos terpênicos representam a segunda maior classe com número de constituintes ativos, atrás apenas dos alcalóides, e são assim denominados devido a sua descoberta na espécie *Pistacia terebinthus*, em 1850 (DI STASI, 1996), são classificados de acordo com a quantidade de unidades isoprênicas (5 carbonos), os terpenos com 10 carbonos, embora eles sejam constituídos de duas unidades de isoprenos, são denominados monoterpenos; os de 15 carbonos, sesquiterpenos; 20 carbonos, diterpenos; 30 carbonos, triterpenos; 40 carbonos, tetraterpenos; e mais 40 carbonos, politerpenos (CROTEAU *et al.*, 2000).

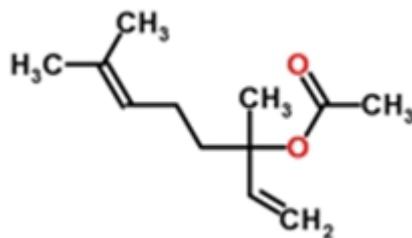


Figura 2. Acetato de Linalila

O acetato de linalila é formado a partir do linalol. Ele é constituinte de diversos produtos industriais, tais como agente do odor, lavagem, cosméticos e absorventes, agentes de solda, pesticidas, preservativos, e para tratamento de superfície, sendo utilizado em lustrador do carro (cera), em produtos da limpeza e em detergentes, e nos gêneros alimentícios, chegam a conter de 1,9 ppm em refrigerantes a 13 ppm em goma de mascar. Apresenta toxicidade aguda muito baixa para os mamíferos, o DL50 é maior que 13,36 mg/kg via oral. Acetato de linalila tem um potencial muito baixo para provocar irritação na pele humana, não há informação sobre irritação dos olhos, por isso utilizado nos cosméticos e como constituintes de perfumes (MURRAY & LINCON, 1970).

O acetato de linalila é um composto orgânico natural que está presente em espécies de menta e também em grandes quantidades nas folhas e frutos cítricos, como por exemplo o limão. (BARROS, 2013).

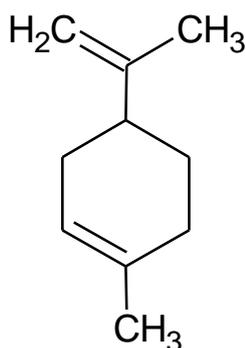


Figura 3. Limoneno

O limoneno de nomenclatura 1-metil-4-isopropenilciclohex-1-eno é um hidrocarboneto cíclico insaturado que pertence a família de terpenos. (AZAMBUJA, 2009)

Com a exceção do alfa-pineno, é o mais importante e mais frequente dos monoterpenóides. Formado a partir do alfa-terpineol (CROTEAU *et al.*, 2000; MURRAY &

LINCOLN, 1970) é precursor chave dos principais monoterpenos de *Mentha*, e é obtido a partir do pirofosfato de geranil por isomerização cis-trans da ligação dupla (GARLET, 2007)

Apresenta duas formas ópticas ativas, d e l-limoneno, embora seja usado diretamente na reconstituição de aromas naturais e perfumes, seu principal valor está no uso como intermediário na produção de outros materiais organolépticos, incluindo carvonas (ERMAN, 1985). O limoneno é o precursor da carvona e pulegona, que por reações sucessivas pode formar mentofurano, mentona, isomentona, mentol e seus isômeros e acetato de mentila (CROTEAU *et al.*, 2000).

O d-limoneno apresenta propriedades anti-cancerígenas, aumenta a atividade da enzima desintoxicante de carcinógenos do corpo, portanto previne e trata o câncer, assim como melhora a capacidade do corpo em desintoxicar-se, é muito usado no tratamento do câncer no pâncreas e câncer gástrico. Ele age também descongestionando o fígado, especialmente após a ingestão de grande quantidade de álcool e alimentos altamente gordurosos (LASZLO, 2005).

O d-limoneno pode substituir diversos tipos de solventes tradicionais, apresentando como vantagens o fato de ser muito menos tóxico. É recomendado o uso de removedor à base de d-limoneno como alternativa ao benzeno, por ser um produto com pouco impacto ambiental e com riscos mínimos à saúde humana (ALMEIDA FILHO, 2003).

Segundo Addor (1994), apud Simões *et al.*, (2000) os limonoides são tetranortriterpenoides e talvez os maiores representantes dessa classe como substâncias inseticidas; no entanto, monoterpenos simples, como o limoneno desempenham um papel de proteção contra insetos nas plantas que os produzem.

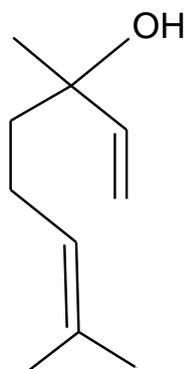


Figura 4. Linalol

O linalol é um monoterpeneo referido como um componente prevalente nos óleos essenciais em várias espécies de plantas aromáticas. Na rota biossintética dos terpenos, a síntese de linalol é realizada pela enzima linalol sintase, que ocorre anteriormente à do mentol (CROTEAU *et al.*, 2000). MURRAY & LINCOLN (1970), sugerem que o linalol seja o precursor do alfa-terpineol, limoneno, 1,8-cineol, linalil acetato. No entanto Croteau *et al.* (2000), sugerem que o linalol não seja o precursor do limoneno, mas ambos concordam que ele é formado a partir do pirofosfato de geranila.

É um importante componente químico aromático largamente usado como fixador de fragrâncias na indústria cosmética mundial (GARLET, 2007). O linalol puro não é um agente sensibilizante, enquanto que os hidroperóxidos e outros produtos de oxidação demonstram propriedades sensibilizantes (Abrifa, acessado em 2007).

O linalol emitido pelas flores serve como atrativo para polinizadores, incluindo abelhas, mariposas e morcegos (CROTEAU *et al.*, 2000). O linalol é um álcool terciário que se encontra também em forma de uma mistura dos isômeros da posição da primeira ligação dupla, designados habitualmente por forma de limoneno(2,6-dimetil-2,7 octanadieno-6-ol) também de forma terpinoleno(2,6-dimetil-2,7-octanadieno-6-ol). Este composto se desidrata para resultar o limoneno. (ACOSTA, 2008).

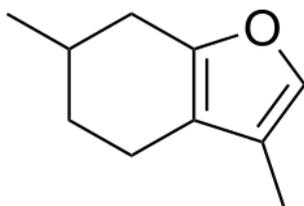


Figura 5. Mentofurano

Mentofurano é um monoterpênóide presente em mentas e se forma como um metabólito do monoterpeneo pulegona. Nas mentas, as cetonas mentona e pulegona e o mentofurano têm uma fragrância menos agradável que os demais terpenos, e aparecem em maior proporção em folhas jovens, sendo sintetizadas preferentemente em dias curtos. O mentofurano é descrito como uma substância hepatotóxica. (THOMASSEN *et al.* 1992).

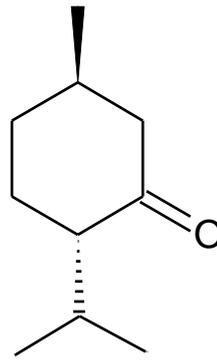


Figura 6. Mentona

A mentona tem o nome químico: 5-Metil-2-(1-metiletil)ciclohexanona e a fórmula é $C_{10}H_{18}O$. A substância existe na forma de dois isômeros: mentona e isomentona, e é encontrada com frequência nos óleos essenciais de plantas de espécies de lamiáceas do gênero *Mentha*. O isolamento é feito pela destilação fracionada de óleo desmentolado. Apresenta forte tendência à interconversão de mentol e por esse motivo não é fácil obtê-la com alto grau de pureza. É identificada como um líquido incolor, com odor típico lembrando menta ardida. Tem ponto de ebulição de $210^{\circ}C$ e massa específica: 0.89 a 0.90. O índice de refração à $20^{\circ}C$ é 1,45, com rotação óptica: $+5^{\circ}$ a $+7^{\circ}$. Composição média: - mentona 65 a 67% isomentona 32 a 34%, pureza > 99%. Os usos da mentona e da isomentona se dão nos campos da medicina, perfumaria, alimentos e como bactericidas. É irritante, mas não alérgica (PUC-RS, 2016)

O mentol e a mentona são compostos químicos que as plantas da família Lamiaceae produzem para sua própria defesa em resposta a um ataque patogênico, muitas destas plantas emitem inúmeros compostos voláteis com a finalidade de defesa e também para atrair polinizadores. Este composto é utilizado nas indústrias de perfume e sabor de menta e atua como inibidor do crescimento de vários tipos de larvas (KELSEY et al., 1984).

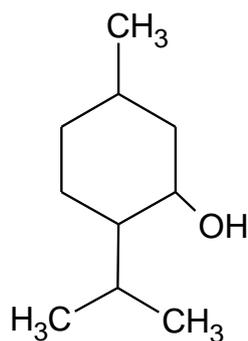


Figura 7. Mentol

O Mentol (C₁₀H₂₀O, peso molecular 156.27), é um álcool terpênico cíclico, e embora este tipo de álcool ocorra extensamente na natureza muito poucos destes álcoois têm as propriedades químicas de fragrância e sabor que os fazem importantes. O Mentol tem três átomos de carbono assimétricos em seu anel de ciclohexano, e conseqüentemente ocorre como quatro pares de isômeros óticos; (-) - e (+) - menthol, (-) - e (+) - neomenthol, (-) - e (+) - isomenthol e (-) - e (+) - neoisomenthol (-) - o Mentol é o isômero que ocorre o mais extensamente na natureza. (BAUER et al. 1990).

O Mentol é um composto natural origem vegetal que dá a plantas de algumas espécies de *Mentha* o odor e o sabor típicos. O óleo essencial de planta, referido frequentemente como óleo do *Mentha piperita* ou ao óleo de *Mentha arvensis*, é extraído prontamente da planta por destilação de vapor. O óleo essencial de *M. piperita* contém mentol em torno de 50%, mas devido a seu preço elevado, não é geralmente utilizado para a produção do mentol. O óleo de *M. piperita* é utilizado principalmente para dar sabor a cremes dentais e outros produtos orais da higiene e chicletes (ECCLES, 1994).

O Mentol pode também ser extraído ou sintetizado de outros óleos essenciais tais como o óleo da citronela, o óleo de eucalipto, e a síntese de mentol a partir de timol compete com a obtenção dos óleos naturais *Mentha* (HENSEL 1982).

O mentol é uma substância refrescante que dá a sensação de frio aos consumidores de pastilhas. A sensação do frio ou do calor é determinada pela atividade dos termorreceptores na pele e nas superfícies das mucosas. Estes receptores frios e mornos são considerados terminações livres de nervos sem nenhuma extremidade especializada de órgão (HENSEL 1982). O mentol apresenta também atividade antimicrobiana e digestiva (LORENZI & MATTOS, 2008)

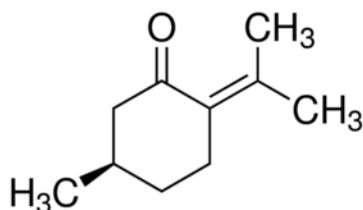


Figura 8. Pulegona

(R)-(+)-Pulegona é uma cetona do monoterpênica de fórmula molecular $C_{10}H_{16}O$. É encontrada em óleos essenciais das plantas da família *Lamiaceae*. Na natureza, a pulegona ocorre nas formas (+) e (-). A pulegona (+) é obtida dos óleos essenciais de *Mentha pulegium*, *M. longifolia*, e outras. A pulegona (-) é o constituinte principal do óleo de *Agastache formosanum* (KOCOVSKEÝ et al., 1986).

Está também presente nos óleos essenciais que são sabidamente bioativos, tais como o óleo analgésico extraído de *Shizonepeta tenuifolia* Briq. (YAMAHARA et al., 1980). Em investigações preliminares, (R)-(+)-pulegona apresentou significativa atividade anti-inflamatória no teste com ácido acético (DE SOUSA et al., 2007). Foi observado impacto de (R)-(+)-pulegona no sistema nervoso central (CNS) em ratos (DE SOUSA et al. 2011)

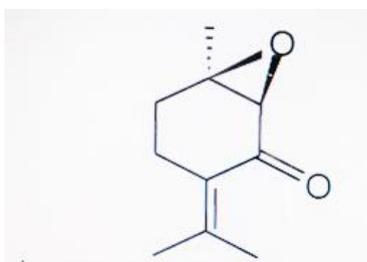


Figura 9. Óxido de piperitenona

O óxido de piperitenona é um monoterpêno. Apresenta-se como um líquido transparente, levemente amarelado. Apresenta fórmula molecular $C_{10}H_{14}O_2$, peso molecular 166.21, é solúvel em água e solvente orgânico (SILVA, 2014; SOARES, 2001).

Uma possível rota metabólica para a formação de óxido de piperitenona partiria da pulegona, da qual derivaria a cis-pulegona, e a piperitenona. A piperitenona daria origem ao óxido de piperitenona (VÁSQUEZ et al. 2014).

O óxido de piperitenona a (0,1 a 10ug/ml), presente na *M. x villosa* e em várias espécies de *Mentha*, apresenta efeito potencializador da contração induzida por acetilcolina (ACh). No entanto, em doses maiores que 30ug/ml, apresenta-se como depressor inespecífico

do músculo liso intestinal nas contrações causadas por KCl, ACh e tetraetilamônio (SOUSA et al. 1997).

É atribuído ao óxido de piperitenona contido no óleo essencial de *Mentha x villosa* o controle de protozoários parasitas intestinais (LORENZI & MATOS, 2008).

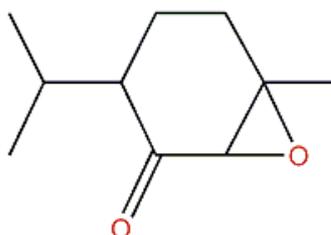


Figura 10. Óxido de piperitona

Denominado quimicamente 3-Isopropil-6-metil-7-oxa-biciclo[4.1.0]heptan 2 ona, o óxido de piperitona tem a formula C₁₀H₁₆O₂.

Os dois diesterômeros Cis e Trans de Oxido de piperitona são 1,2 epoxi-3-ceto-p-mentanas, que têm sido encontradas em várias espécies de plantas, principalmente *Mentha* spp e *Calamintha* spp. O componente é referido como apresentando atividade antimicrobiana (IKAN, 2008). No Brasil, Dias et al.(2011) relataram que o óleo essencial de um acesso de *M. rotundifolia* embora apresentando o modesto rendimento 0,4%, apresentou uma alta concentração de óxido de piperitona (80%). Os autores comentam que este terpeno apresenta na sua estrutura química três funções orgânicas, o que faz dele um notável material de partida para síntese de outros compostos. Também citam que o óxido de piperitona apresenta atividade fungicida e inseticida o que lhe confere interessante potencial para o controle alternativo de pragas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, de agosto a novembro de 2014.

Cinco acessos de *Mentha* spp foram multiplicados por miniestaquia para estudo da produção da massa fresca e seca da parte aérea, rendimento e composição química dos

compostos majoritários do óleo essencial. O ensaio foi conduzido em condições de casa de vegetação tipo *glasshouse* (50% de sombra), medida por fotômetro Asahi Pentax SP-500. A temperatura média do ambiente durante ao ensaio foi registrada. Média das mínimas 17,5°C e das máximas 36,5°C.

Tabela 1. Acessos de *Mentha* spp pesquisados, nomes vulgares e procedência.

Genótipo	Nome vulgar	Origem
<i>M. arvensis</i> L.	Menta	Universidade Federal do
	Japonesa	Mato Grosso do Sul
<i>Mentha piperita</i> L. var. <i>piperita</i>	Menta	Embrapa Recursos Genéticos e
	Industrial	Biotecnologia
<i>Mentha piperita</i> L. var. <i>citrata</i>	Alevante	Holambra – SP
<i>Mentha spicata</i> L.	Menta verde	Empresa Ferry Morse – USA
<i>Mentha x villosa</i> Huds.	Hortelãzinho	Universidade de Brasília (*)

(*) – proveniente da horta dos funcionários da UnB

O ensaio teve a duração de 90 dias, quando então foi colhida e pesada a biomassa fresca da parte aérea de cada acesso, e posteriormente secas em estufa de ar circulante a 38°C para posterior análises.

Os acessos componentes do ensaio foram distribuídos em quarenta e cinco (45) vasos de plástico de 2,5 L de capacidade, contendo a Mistura EEB, sendo nove (09) vasos para cada acesso.

A Mistura EEB constou de latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico respectivamente na proporção 3:1:1:1, mais a formulação 4-14-8, na dose de 100g para cada 40 L da mistura. A Mistura EEB em análise por amostragem apresentou a seguinte composição média: matéria orgânica, 8,2%; nitrogênio, 0,52%; fósforo total 0,21%; potássio 0,46%; carbono orgânico 4,8%; relação C/N, 9,2; pH= 6,2.

Por ocasião da colheita, noventa, sessenta dias após a implantação do ensaio, os nove vasos de cada acesso foram colhidos de três em três, formando três repetições.

Os dados numéricos de massa fresca e massa seca de cada repetição, além do rendimento em óleo essencial foram analisados estatisticamente mediante análise da variância, e as médias de cada tratamento foram distinguidas pelo teste de Tukey.

4.1 Extração do óleo essencial

As plantas colhidas foram secas por 72 horas em estufa de ar circulante a 38° C, após o que foram submetidas à hidrodestilação para obtenção do óleo essencial.

A hidrodestilação foi realizada em aparelho tipo Clevenger modificado (SANTOS *et al.*, 2004), em balão, com capacidade de 2,0 L por 1 hora e 30 minutos (CASTRO, 2001; STASHENKO *et al.*, 2003). Após a destilação, o óleo essencial foi centrifugado e pesado em balança de precisão e conservado ao abrigo da luz, refrigerado a 5°C até a análise cromatográfica.

O teor (g) ou conteúdo de óleo essencial existente nos acessos foi definido pela razão entre a massa de folhas secas inseridas no balão de destilação e a massa (g) de óleo essencial obtido conforme os cálculos a seguir:

$$\text{O Teor de Óleo essencial \%} = \frac{\text{Massa do óleo extraído}}{\text{Massa de folhas secas}} \times 100$$

4.2 Análises cromatográficas

As análises cromatográficas foram realizadas na Embrapa Recursos Genéticas e Biotecnologia, Brasília/DF, onde foi utilizado o cromatógrafo Shimadzu GC - 17A com auto-injetor AOC-20i, em coluna capilar HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25 µm) à temperatura do forno de 60°C a 240°C a 3°C/min, e o hidrogênio o gás carreador (1,4 ml.min.). Foram injetados 0,05 µL em triplicata de óleo da diluição (1,5 mL de diclorometano e 0,05 de óleo essencial) no modo split (1:20; injetor a 250°C).

A identificação dos constituintes químicos foi baseada nos índices de retenção (IR) calculados a partir do tempo de retenção dos componentes dos óleos e de uma série homóloga de n-alcanos injetados nas mesmas condições, e comparação dos espectros de massas obtidos com os dados da biblioteca Wiley 6th ed. (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963). Padrões de interesse foram utilizados para identificação dos compostos majoritários. A análise estatística determinou o desvio padrão dos dados.

Para identificação dos quimiotipos foram considerados apenas os constituintes majoritários do óleo essencial com concentrações acima de 1,0 %, e para definição de quimiotipos foram considerados 11%.

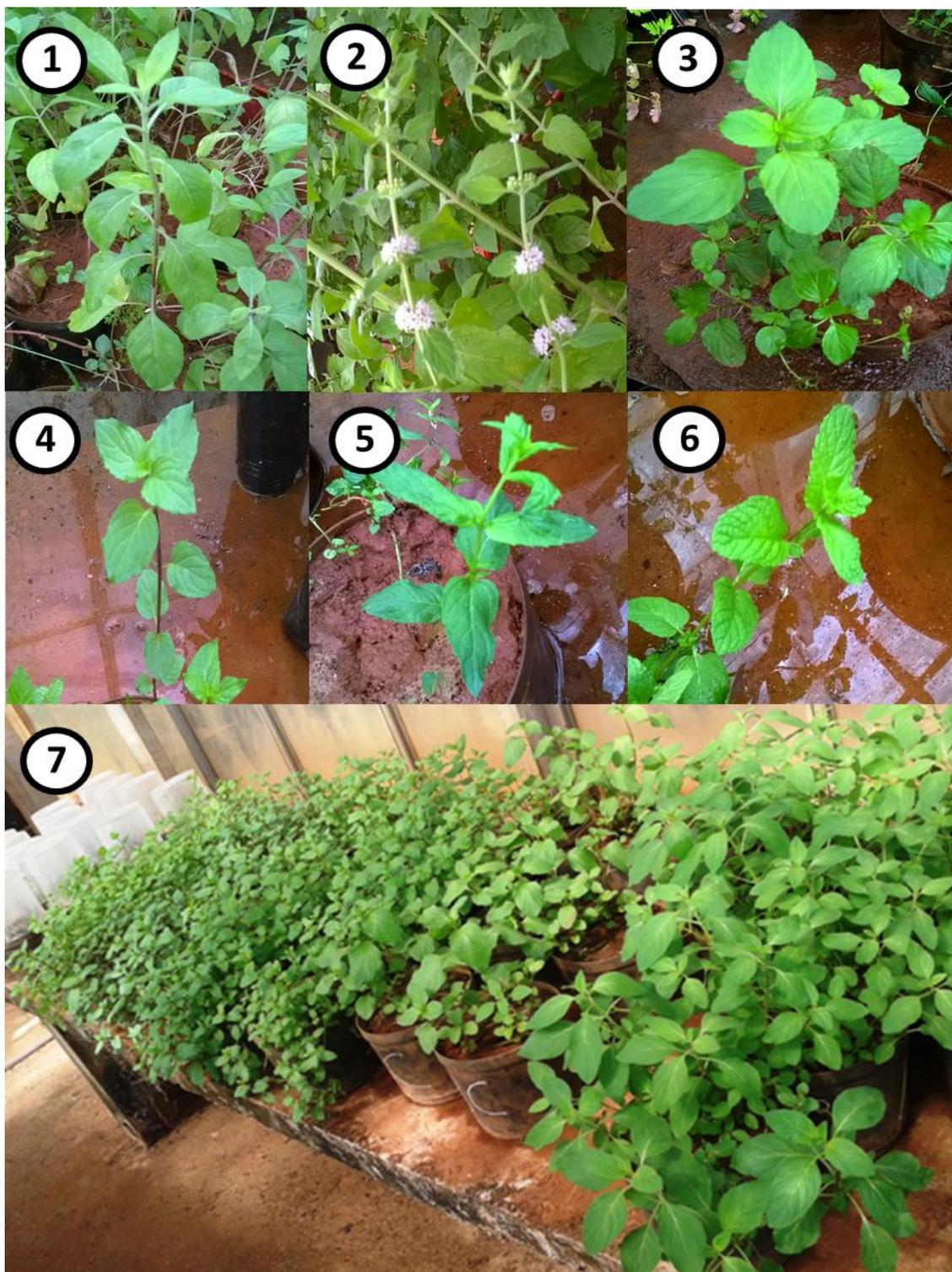


Figura 11. 1- *Mentha arvensis*; 2- *M. arvensis* florida. 3- *Mentha citrata*. 4- *Mentha piperita*; 5- *M. spicata*; 6- *M. x villosa*. 7- vista geral da produção de biomassa dos cinco acessos.



Figura 12. 1- corte da amostra seca; 2- pesagem da amostra; 3- colocação da amostra seca no balão; 4- hidrodestilação em curso.

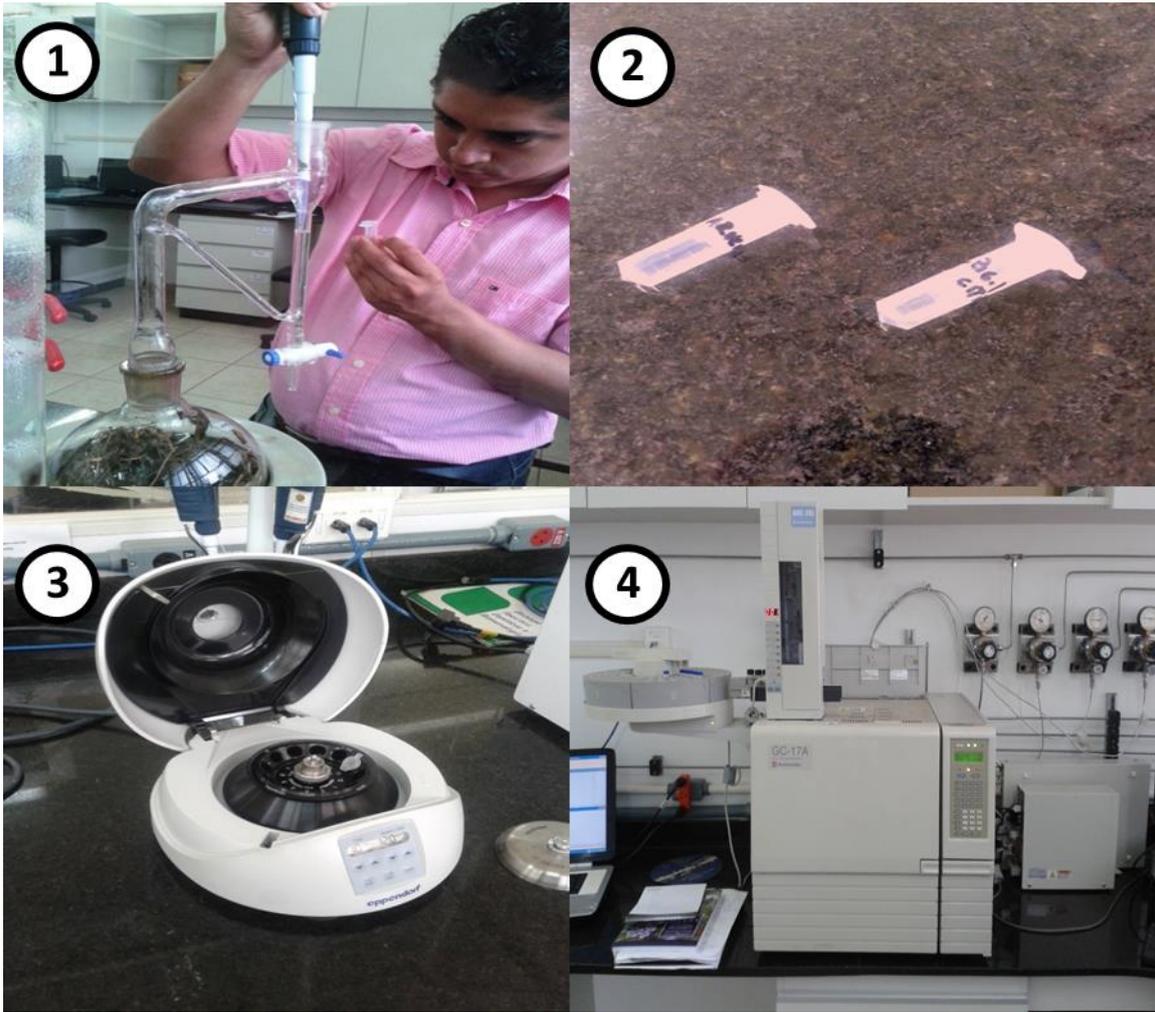


Figura 13. 1- coleta do óleo essencial; 2- eppendorfs contendo o óleo essencial; 3-minicentrífuga; 4-cromatógrafo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente ensaio encontram-se representados nas tabelas 2 (Médias da massa fresca, massa seca e rendimento em óleo essencial de cinco acessos de *Mentha spp*) e 3 (Valores médios percentuais de dez compostos majoritários (>1%)¹ encontrados no óleo essencial de cinco acessos de *Mentha spp* cultivados em casa de vegetação em Brasília-DF) .

Nas condições do ensaio, dos acessos testados, *Mentha citrata* apresentou os maiores números em massa fresca e massa seca seguido por *M. spicata*, *M. piperita* e *M. arvensis*, tendo a *Mentha x villosa* apresentado os menores valores. Apenas *M. citrata* diferenciou-se estatisticamente de *M. arvensis* e *M. x villosa* para massa fresca, e de *M. x villosa* para massa seca. (Tabela 2)

Tabela 2. Médias da massa fresca, massa seca e rendimento em óleo essencial de cinco acessos de *Mentha spp*.

Tratamentos	Massa fresca (g)	Massa seca (g)	Rendimento (%)
<i>Mentha citrata</i>	254,00 a	43,17 a	1,99 a
<i>Mentha spicata</i>	196,66 ab	35,16 ab	0,47 b
<i>Mentha piperita</i>	164,33 ab	24,65 ab	1,14 b
<i>Mentha arvensis</i>	152,66 b	28,78 ab	1,98 a
<i>Mentha x villosa</i>	147,33 b	20,80 b	1,60 ab
CV	20,43	26,55	16,28
DMS Tukey	100,37	21,75	0,67

Obs.: médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Quanto ao rendimento de óleo essencial, observou-se que *M. citrata* e *M. arvensis* apresentaram os maiores rendimentos em relação a *M. spicata* e *M. piperita* que foram as menos produtivas, ficando *M. x villosa* em situação intermediária.

O rendimento e a composição do óleo essencial de uma planta aromática dependem fundamentalmente do potencial genético do acesso envolvido, mas sobretudo da interação com o meio ambiente. Espécies heliófilas facultativas podem produzir bem à meia sombra. O horário da colheita, foi observado, pode interferir no rendimento em óleo essencial, assim como os procedimentos de extração, notadamente o tempo gasto no aparelho Clevenger. Oliveira et al (2012) verificaram em Ilhéus, que o tempo de hidrodestilação e o horário de

colheita interferiram no rendimento de óleo essencial. Encontraram para *M. piperita* var. *citrata* que o melhor rendimento foi o da colheita das 13 horas, de 1,33%, para um tempo de destilação de 60 minutos.

Técnicas agronômicas podem influir no rendimento em óleo essencial das mentas. Maia et al. (2009) comparando culturas solteiras e consorciadas de *Mentha x villosa* Huds., obtiveram rendimentos em óleo essencial variando de 0,46 a 0,56%.

O ambiente de cultivo pode interferir, mas o sombreamento e as temperaturas próprias de uma em casa de vegetação não vão necessariamente deprimir o rendimento. Costa et al (2012) verificaram que plantas de *M. piperita* cultivadas sob pleno sol produziram biomassa seca de folhas e rendimentos de óleo essencial semelhantes àquelas sob sombreamento com malhas preta e vermelha. Chagas et al. (2009), no entanto, encontrou que os melhores rendimentos de *Mentha arvensis* foram obtidos em cultivos a pleno sol.

Chagas et al (2010) testaram o cultivo de plantas de *Mentha arvensis*, com dois tipos de malha e diferentes níveis de sombreamento: 30%, 50% e 70%. Verificaram que o tipo de malha não influenciou o acúmulo de biomassa seca. No entanto o sombreamento promovido pelas malhas diminuiu o acúmulo de biomassa seca das plantas. As plantas sombreadas produziram em média, 38g de massa seca individualmente, aos 90 dias após transplante para vasos de 10 L de capacidade, contendo solo, areia e esterco bovino curtido (3:1:1), resultados que guardam semelhança com os obtidos no presente trabalho.

Os rendimentos em óleo essencial encontrados por outros autores no Brasil, notadamente para as espécies *M. piperita* var. *citrata* e *Mentha x villosa* 1,33% e 0,56% respectivamente (MAIA et al. (2009), também sugerem a coerência dos resultados relatados.

Os resultados dos teores percentuais médios dos compostos majoritários dos cinco acessos de *Mentha* spp estão apresentados (tabela 3).

Tabela 3. Valores médios percentuais de dez compostos majoritários (>1%)¹ encontrados no óleo essencial de cinco acessos de *Mentha* spp cultivados em casa de vegetação em Brasília-DF.

Acessos	Opt	AL	Ca	Lim	LoI	MFu	Mtol	Mtona	Opona	Pul
<i>M. x villosa</i>	-	-	51,20	18,98	-	-	-	-	-	-
<i>M. arvensis</i>	-	-	-	-	1,40	-	83,91	3,41	-	-
<i>M. citrata</i>	-	35,32	-	-	44,01	-	-	-	-	-
<i>M. spicata</i>	55,30	-	-	3,50	-	-	-	-	17,38	-
<i>M. piperita</i>	-	4,49	3,75	0,98	-	23,31	6,68	24,65	-	25,70

Notações: Opt= óxido de piperitenona; AL= acetato de linalila; Ca= carvona; Lol=linalol; Mfu= mentofurano; Mtol=mentol; Mtona=mentona; Opona= óxido de piperitona ; Pul= pulegona

Os resultados obtidos com a *M. citrata* apresentaram alta semelhança com os resultados de outros autores, tais como Ferreira (2008) em Brasília, que encontrou linalol (42,78%) e acetato de linalila (33,12%) além de limoneno (0,45%). No presente ensaio a percentagem de limoneno do acesso não atingiu 1%. Para acetato de linalila encontrou-se 35,32% e para linalol 44,01%. Somados, os dois principais constituintes do óleo essencial perfazem 79,33 %, praticamente 80% do óleo essencial, bem próximo do resultado encontrado por Spencer et al. (1993), de 90%, em plantas transformadas com *Agrobacterium tumefaciens*. O rendimento em óleo essencial obtido no presente ensaio, 1,99%, praticamente 2%, não está muito distante do obtido por Ferreira (2008) também em Brasília em condições semelhantes, de 2,52%.

A *M. arvensis* apresentou um elevado teor de mentol, 83,91%, o que era esperado, pois esta é uma característica que define os acessos de *M. arvensis*. Lorenzi et Matos (2008), citam que o rendimento em óleo de *M. arvensis* situa-se em torno de 2%, compatível com o rendimento obtido no presente ensaio, de 1,98%. Os mesmos autores mencionam que o óleo essencial apresenta em torno de 70% de *l*-mentol acompanhado de menores quantidades de outros alcoóis, cetonas e hidrocarbonetos terpênicos. No presente ensaio observou-se também a presença de mentona, 3,41% e linalol, 1,40%. Lorenzi et Matos (2008) ainda advertem que o tradicional tratamento de aspiração lenta do cheiro de folhas e do óleo essencial de *M. arvensis* para alívio da congestão nasal deve ser parcimonioso, pois em excesso pode provocar paralisia respiratória em virtude do alto teor de mentol.

M. spicata no presente ensaio apresentou-se como do quimiotipo óxido de piperitenona-óxido de piperitona (55,30 e 17,38% respectivamente), apresentando ainda limoneno a 3,50% no óleo essencial.

Chauhan et al., (2009) analisaram acessos de *Mentha spicata* L. coletados das zonas sub-tropical e temperada da região do Himalaia no noroeste de Índia. Verificaram que carvona era o principal componente do óleo essencial tendo variado entre 49.62%-76.65%, sendo o segundo componente o limoneno, que variou entre 9.57%-22.31%.

Tuker & Debaggio (2009) também citam *M. spicata* como dos quimiotipo carvona-linalol bem como carvona-limoneno mas também citam alguns clones denominados “minty fruit-scented” do quimiotipo óxido de piperitenona, apresentando ainda óxido de piperitona mais germacreno D. Ou ainda óxido de piperitenona-acetato de 1,2 epoximentil. Menciona ainda os clones do tipo “pennyroyal-scented” com 26 a 31% de pulegona e os clones do tipo “eucalyptus-scented” do quimiotipo 1,8 cineol-óxido de piperitenona. Também citam os

clones do tipo “peppermint-scented” do quimiotipo isomentona-piperitona. Os autores ressaltam a grande variabilidade da espécie.

Adjuto (2008) em Brasília, analisou três acessos de *M. spicata*, dois de *Mentha sp x M. x villosa* e um de *M. spicata x M. suaveolens*. Como resultado, dois acessos de *M. spicata* e o acesso de *M. spicata x M. suaveolens* apresentaram-se ricos em óxido de piperitenona, com 55,15, 73,77 e 75,39%, respectivamente. Os demais foram identificados como do quimiotipo carvona-limoneno, com carvona em torno de 56% e limoneno em torno de 11%. Observou ainda que o híbrido *M. spicata x M. suaveolens* apresentou também 11,45% de germacreno D, definindo-se seu quimiotipo como “óxido de piperitenona-germacreno D”.

M. spicata é descrita como tendo provavelmente se originado de um cruzamento entre *M. longifolia* e *M. suaveolens*. A grande variabilidade da *M. spicata* levou vários pesquisadores a estabelecer uma subdivisão deste híbrido, e dois subgrupos foram descritos com base em duas características. Estudos citológicos (RUTTLE, 1931; MORTON, 1956) levaram à conclusão de que para *M. spicata* dois citotipos existem, com $2n = 36$ e $2n = 48$ cromossomos.

Plantas de *Mentha spicata*, introduzidas e distribuídas em todo o mundo, muitas vezes são encontradas como escapes de jardins. Lebeau (1974) relata que foi essencial distinguir duas subespécies de *M. spicata*: *M. spicata subsp. spicata* e *M. spicata subsp. glabrata*, com e sem tricomas não secretores, respectivamente, pois a presença ou ausência de tricomas não secretores levou a um aspecto diferente e acentuada diferença de fragrância e diferença de habitats. A espécie propaga-se quase que inteiramente por via vegetativa. Lebeau (1974) e Harley & Brighton (1977) descrevem alguns indivíduos de *M. spicata* que são próximos na aparência das espécies suas progenitoras diploides. Eles observaram que *M. spicata* segrega caracteres dos pais em sua descendência por autopolinização, que eram impossíveis de distinguir de híbridos que ela forma frequentemente com seus parentais *M. suaveolens* e *M. longifolia*. Em alguns casos, tais plantas de *M. spicata* pilosas foram confundidas com *M. longifolia*.

Às vezes é difícil distinguir *M. spicata* de *Mentha x villosa* Huds, em virtude da origem de *M. x villosa*, que é um híbrido de retrocruzamento de *M. spicata* com *M. suaveolens*. A espécie *M. spicata* é descrita como tendo provavelmente se originado de um cruzamento entre *M. longifolia* e *M. suaveolens*. (GOBERT *et al.*, 2002). Os resultados sugerem a necessidade de novas pesquisas com os acessos em questão.

Os resultados obtidos com *M. x villosa*, carvona 51,20% e limoneno 18,98, assemelham-se àqueles relatados para *M. spicata* por Chauhan et al., (2009) e Toker & DeBaggio (2009). Encontram-se referências para *Mentha x villosa alopecuroides* apresentando 60 a 70% de (R)(+) carvona e 9 a 13% de limoneno (TUKER & DEBAGGIO, 2009), composição bastante aproximada daquela supramencionada obtida no presente ensaio para *M. x villosa*.

Mentha x villosa é um híbrido de retrocruzamento de *M. spicata* com *M. suaveolens*. A espécie *M. spicata* é descrita como tendo provavelmente se originado de um cruzamento entre *M. longifolia* e *M. suaveolens*. GOBERT et al., 2002). A *Mentha x villosa* é referida também como *Mentha alopecuroides* Hull; *Mentha nemorosa* Willd. e *Mentha x villosa* Huds. (pro sp.) var. *alopecuroides* (Hull) Briq. (pro nm.), de acordo com o USDA- Natural Resources Conservation Service. (Plants Database, 2007). O nome *Mentha crispa* já foi adotado como nome botânico da espécie (SILVA, 2005). Matos (1998) aponta *Mentha x villosa* como sendo o tipo comprovadamente ativo contra protozoários.

Os pesquisadores de *Mentha spp* estão sempre enfrentando as dificuldades de identificação botânica porquanto formas intermediárias dos diversos genótipos de *Mentha spp* estão facilmente disponíveis. Matos (1998) tentou associar algumas características morfológicas para facilitar a identificação do que ele denominou “tipo ativo” de *M. x villosa* contra protozoários, provavelmente devido à presença de alta concentração de óxido de piperitenona no óleo essencial. Mencionou que as folhas da planta em questão apresentam um pequeno pecíolo de 2 a 3 mm que permite distingui-la de outros tipos de hortelã-rasteira e que a planta raramente floresce a quando o faz apresenta flores branco violáceas, contidas em pequenos glomérulos terminais, observáveis somente quando a espécie é cultivada em serras úmidas.

Os resultados do presente ensaio para o acesso de *M. piperita*, registram mentona 24,65%, mentofurano 23,31, pulegona 25,70, mentol 6,68%, acetato de linalila 4,49, carvona 3,75 e linalol 0,98%. O rendimento em óleo essencial foi 1,14%. Estes resultados são grosso modo coerentes com o perfil ordinário de *Mentha piperita*. Scavroni et al. (2005) encontraram em plantas de *Mentha piperita* de 90 dias pós plantio, mentol 42,32%; mentilacetato 35,01%; mentofurano 4,56% e mentona 4,05%.

Rohloff et al. (2005) citam como componentes majoritários do óleo essencial da *M. piperita* o mentol e a mentona, que podem variar de 43-54% e 12-30% respectivamente, conforme o acesso, ao momento do pleno florescimento. Toker & DeBaggio (2009)

mencionam a variedade Mitcham de *M. piperita* que apresenta um óleo essencial dominado por 16 a 61 % de mentol, 2 a 34% de mentona, traços a 20% de mentilacetato, traços a 14% de pulegona. Estas percentagens apresentam dependência de pequena variação genética, época de colheita e da percentagem de flores utilizadas na destilação. O mentol, a mentona e a pulegona estão relacionados. A mentona apresenta forte tendência a interconversão em mentol e o mentofurano é um metabólito da pulegona (THOMASSEN et al. 1992; PUC-RS, 2016; BAUER et al. 1990).

6. CONCLUSÕES

O quimiotipo do acesso de *M. piperita* foi mentona-mentofurano-pulegona, tendo o resultado sido considerado coerente com a vocação da espécie.

A *Mentha citrata* apresentou o quimiotipo linalol-acetato de linalila conforme esperado, assim como *M. arvensis* com o quimiotipo mentol.

Os quimiotipos de *M. spicata* (óxido de piperitenona-óxido de piperitona) e *M. villosa* (carvona limoneno) apresentaram alguma discrepância quanto ao padrão esperado sugerindo a necessidade de mais ensaios com estes acessos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, A.F **Farmacognosia. I volume. 6 edição**, FUNDAÇÃO CALOUSTE GULBENKIAN /LISBOA 2002. 486p.

ADDOR, R.W. Insecticides. In: Simões et al. (2007). **Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed.** Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC. 1994. 1102p.

ADJUTO, E. N. P. **Caracterização morfológica e do óleo essencial de seis acessos de hortelanzinho (Mentha spp)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)-Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

ALMEIDA FILHO, C. **Estudo experimental e teórico de coeficientes de difusão binários envolvendo componentes de óleo essenciais em dióxido de carbono supercrítico**. UFSC. **Curso de pós Graduação em engenharia química**. Tese de Doutorado. .2003. 108 p.

ATSMA, A. A. Theoi Project Copyright © 2000-2015 New Zeland
<http://www.theoi.com/Nymphe/NympheMinthe.html>.

AZAMBUJA, W. Limoneno. <http://www.oleosessenciais.org/limoneno/> Acesso em 30/11/2015.

BALMÉ, F. Plantas Medicinais. Brasil: Hemus, 2004. 298 p.

BARROS, T.I.T. **Atuação do acetato de linalila enquanto inibidor de corrosão do aço-carbono em meio etanólico**. Trabalho de conclusão junto a atividades de ensino do projeto tecnológico do curso de química industrial para obtenção de grau de químico industrial.UFRGS. 2013. 42p.

BAUER, K., GARBE, D., SURBURG, H. Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. **VCH, Weinheim, Germany**. 1990. 330 p.

BIASI, L.A.,DESCHAMPS,C. Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial. 1 Ed. Curitiba : **Layer studio Grafico e editora Ltda**, 2009.10p.

BUSTAMANTE, F. M. L. **Plantas medicinales y aromaticas**. Madrid. Mundiprensa. 1996. 365 p.

BUNSAWAT, J.; ELLIOTT, N.E.; HERTWECK, K.L.; SPROLES, E. & ALICE, L.A. Phylogenetics of *Mentha* (Lamiaceae): Evidence form Chloroplast DNA Sequences. Systematic Botany. **American Society of Plant Taxonomists**, 959-964 2004.

CARRICONDE, C. MORES, D.; FRITSCHEN, M. VON; CARDOZO, JR.; E.L. **Plantas medicinais e plantas alimentícias**. v. 1, Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular, UFPe, 1995, 153p.

CASTRO DM. 2001. **Efeito da variação sazonal, colheita selecionada e temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais de folhas de *Lippia alba* (Mill.)N. E. Br ex Britt. & Wilson (Verbenaceae).** Botucatu: UNESP. 132 p. (Tese Doutorado).

CHAGAS, J. H. **Crescimento de plantas, teor e composição química volátil de *Mentha arvensis* L. em função da intensidade e qualidade de luz, métodos de secagem e tempos de extração.** Universidade Federal de Lavras. 2009. 126 p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia).

CHAGAS, J.H.; RIBEIRO, A.S.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; SANTOS, F.M.; BOTREL, P.P.. Acúmulo de biomassa seca em plantas de *Mentha arvensis* L. cultivada sob diferentes malhas e níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira** v. 28: p:3457-3463. 2010.

CHAUHAN, R. S., KAUL, M. K., SHAHI, A. K., KUMAR, A., RAM, G., & TAWA, A. .Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIM (J) 26] from North-West Himalayan region, India. **Industrial crops and products**, v.29, n.2, p: 654-656. 2009.

COSTA, A.G., CHAGAS, J.H., PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortelã-pimenta cultivada sob malhas. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.4, p.534-540, 2012 .

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M. LEWIS, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24 - In- Biochemistry & Molecular Biology of Plants, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds. © 2000, **American Society of Plant Physiologists**. p: 1250-1318. 2000.

CUNHA, A. P., RIBEIRO, J. A. E ROQUE, O. R., **Plantas Aromáticas em Portugal – Caracterização e Utilizações**, Ed. Fundação Calouste Gulbenkian. 2007. 200 p.

DE SOUSA D. P., JÚNIOR E. V. M., OLIVEIRA F. S., ALMEIDA R. N., NUNES X. P.; BARBOSA-FILHO J. M. Antinociceptive activity of structural analogues of rotundifolone: structure-activity relationship. **Z. Naturforsch.** 62c, p:39-42. 2007.

DE SOUSA, D.P., NÓBREGA, F.F.F., LIMA, M.R.V.; ALMEIDA, R.N. Pharmacological Activity of (R)-(+)-Pulegone, a Chemical Constituent of Essential Oils **Z. Naturforsch.** 66 c, p353 -359. 2011.

DIAS, G.O.C., MOREL, A. F., ILHA, V. **Isolamento e identificação do principal constituinte químico do óleo essencial de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds e suas possíveis aplicações.** 63ª. Reunião da SBPC. Goiânia-GO. 2011. Resumo.

DI STASI, L.C. Plantas Mediciniais: Arte e Ciência. **Um guia de estudo inter-disciplinar.** São Paulo/SP: Editora UNESP, 1996. 230 p.

ECCLES, R. Menthol and Related Cooling Compounds *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 46:pp: 618-630. 1994.

ERMAN, W.F. Chemistry of the Monoterpenes. **In Encyclopedic Handbook**. Part A. New York/USA: Marcel Dekker, 1985. 814 p.

FERREIRA, C. P. **Caracterização química e morfológica de genótipos de *Mentha spp.*** Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) -Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 97 f.

GARLET, T M B. **Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de *Mentha L.*(Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio.** 2007. Tese de Doutorado. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2007. 113p.

GOBERT, V.; MOJA,S.; COLSON, M. & TABERLET, P. Hybridization in the section *Mentha* (LAMIACEAE) inferred from AFLP markers. **American Journal of Botany**, v. 89,n.12, p. 2017 - 2023. 2002.

GUPTA, R. Agrotechnology of medicinal plants. In: WIJESSEKERA, R. O. B. (ed.). **The Medicinal Plant Industry**. CRC Press, Boca Raton, Flórida, USA, p.43-57. 1991.

HARLEY R. M. C. A. BRIGHTON. Chromosome numbers in the genus *Mentha L.* **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 74, p: 71-96. 1977.

IKAN, R. **Select topics in the chemistry of natural products**. World Scientific Publication Co. Pte. Ltd. 2008. 581 p.

HENSEL, H. **Thermal Sensations and Thermoreceptors in Man**. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois 1982.187 p.

KÄMPF, A.N. **Análise física de substratos para plantas**. Viçosa: SBCS, v.26, pp:5-7.2001. (Boletim Informativo).

KELSEY, R.G., REYNOLDS, G.W., RODRIGUEZ, E. Biology and chemistry of plant trichomes, Rodriguez E, Healey PL, ***Mentha I.***; ed.; Plenum Press, New York. 1984. 394 p.

KOCOVSKÝ P., TURECEK F., AND HÁJÍČEK J. Synthesis of Natural Products: Problems of Stereoselectivity. CRC Press, Boca Raton, p. 186.1986.

LAL, R.K., SHARMA, J.R., SHARMA, S., Variability and stability pattern in economic traits of chamomile (*Chamomila recutita*). **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences** 22, 219–222. 2000.

LÁSZLÓ, F. Curso de aromaterapia. **Uma abordagem científica**. Brasília. 2005. 85p.

LAWRENCE, B. M . **A review of the world production of essential oils**. Perfume and Flavorist, 10 (5): 1-16. 1985.

LEBEAU J. Nouvelles mises au point dans le genre *Mentha*. *Natura Mosana* v.27: p.109-141.1974.

LOEWENFELD, C.; BACK, F. **Guia de hierbas y especias**. Ediciones Omega, SA., Barcelona, Espanha. 1980.364pp.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: **nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa-SP. Instituto Plantarum. 2008. 544p.

MAIA, J.T.L.S.; MARTINS, E.R.; COSTA, C.A.; FERRAZ, E.O.F.; ALVARENGA, I.C.A.; SOUZA JÚNIOR, I.T.; VALADARES, S.V. Influência do cultivo em consórcio na produção de fitomassa e óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) e hortelã (*Mentha x villosa* Huds.) **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.11, n.2, p.137-140, 2009.

MARTINS, M.B.G. Optical microscopy studies and scanning electron microscopy in leaf the *Mentha spicata* and *Mentha spicata x suaveolens* (Lamiaceae). **Bragantia** [online], vol.61, n.3, pp. 205-218. 2002.

MATOS, F.J.A., MACHADO, M.I., CRAVEIRO, A.A., BARBOSA-FILHO, J.M., ALENCAR, J.W., CUNHA, E.V.L., HIRUMA, C.A. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. An antiparasitic medicinal herb from Nordeste Brazil. **J Essent Oil Res** v.11: pp: 41-44. 1999.

MATOS, F.J.A. Plantas medicinais: **guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 3.ed. Fortaleza: IU, 2007.394p.

MOREIRA, A.L.M.; PEREIRA, R.C.A.; CASTRO, J.C.M. BEZERRA, F.C.. Cultivo de *Mentha x villosa* Huds. na região litorânea do Ceará. Congresso Brasileiro de Olericultura, 50, **Horticultura Brasileira**, v.28, n.2, pp-3569-3572. 2010.

MORTON J. K. **The chromosome numbers of the British *Menthae***. *Watsonia* v.3: p. 244-252. 1956.

MURRAY, M.J., LINCOLN, D.E. The genetic basis of acyclic oil constituents in *Mentha citrate* Ehrh. **Genetics**, v. 65, p. 457-471, 1970.

OLIVEIRA, A.R.M.F.; JEZLER, C.N.; OLIVEIRA, R.A.; MIELKE, M.S.; COSTA L.C.B. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Horticultura Brasileira** v.30: pp:155-159. 2012.

PAGE M.; STEARN, W. T. Hierbas para cocinar. **The Royal Horticultural Society**. Manuales Jardim Blume. 1992. 62 p.

POTZERNHEIM M.L.; COSTA, A.F.; BIZZO, H.R.; CARVALHO-SILVA M.; VIEIRA RF. Essential Oil of *Piper xylosteoides* (Kunth) Steud. from Federal District, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v 18: 523-524. 2006.

PUC-RS. **Síntese da l-mentona a partir do mentol**
<http://www.pucrs.br/quimica/professores/arigony/praticas/mentona/mentona.htm> (acesso em 2016).

RADÜNZ, L.L. **Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e hortelã-comum (*Mentha x villosa* Huds)**. Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa. 2004. (Tese de Doutorado em Engenharia Agrícola).

RAM, M., RAM, D. & SINGH, S. Irrigation and nitrogen requirements of Bergamot mint on a sandy loam soil under sub-tropical conditions **Agricultural Water Management**, v.27 n.1, 1995, 45-54 p.

RUTTLE, M. L. 1931 Cytological and embryological studies of the genus *Mentha*. **Gartenbauwissenschaft**. v.44: p.428-468

ROHLOFF, J.; DRAGLAND, S.; MORDAL, R.; IVERSEN, T. Effect of Harvest Time and Drying Method on Biomass Production, Essential Oil Yield, and Quality of Peppermint (*Mentha × piperita* L.) **J. Agric. Food Chem.**, v. 53 n.10, p 4143–4148. 2005.

SANTOS, M.R.A.; INNECCO, R.; SOARES, A.A.. Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. em função do horário de colheita nas estações seca e chuvosa. **Revista Ciência Agronômica** 35: 37-383. 2004.

SCAVRONI, J., BOARO, C. S. F., MARQUES, M. O. M., & FERREIRA, L. C. . Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L.(Lamiaceae) grown with biosolid. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.4, p: 345-352. 2005

SILVA, R.L.C. **Desenvolvimento de comprimidos flutuantes de libertação modificada contendo um parasiticida**. Tese do 3º Ciclo de Estudos (Doutorado). Universidade do Porto – Porto Portugal: 2014. 201 p.

SIMÕES, C.M.O.;SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.;MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2ª. Edição. Editora da UFSC. 2000. 747 p.

SOARES, L. **Estudo tecnológico, fitoquímico e biológico de *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown ex Britt. & Wils. (falsa-melissa) Verbenaceae / Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis, 2001. 189 p. Dissertação de Mestrado.**

SOUSA, P.J.C.; MAGALHÃES, P.J.C., LIMA, C.C., OLIVEIRA V.S., LEAL-CARDOSO, J.H. Effects of piperitenone oxide on the intestinal smooth muscle of the guinea pig. **Brasilian J. Med. Biol. Res.** v 30: p: 787-791. 1997.

SPENCER, A; HAMILL, J.D.; RHODES, M.J.C. In vitro biosynthesis of monoterpenes by *Agrobacterium* transformed shoot cultures of two *Mentha* species. **Phytochemistry-Oxford**. Oxford ; New York : **Pergamon Press**, v. 32 (4) p. 911-919. 1993.

STASHENKO, E.E., JARAMILHO, B.E., MARTINEZ, J.R. Comparacion de la composicion química y de la actividad in vitro de los metabolitos secundários volátiles de plantas de la familia Verbenáceas. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias, Exactas, Físicas y Naturales**, v. 27, p:579-597. 2003.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 3.ed. Massachusetts/USA: Sinauer Associates, 2004. 792 p.

TUCKER A. O. ; DEBAGGIO, T. **The Enciclopedia of herbs**. London. Timber Press. 604 p.

THOMASSEN, D.; KNEBEL, N. SLATTERY, J.T., MCCLANAHAN, R.H., NELSON, S.D. **Reactive intermediates in the oxidation of menthofuran by cytochromes P-450** Chem. Res. Toxicol., v.5, n.1, pp 123–130.1992.

U.S.-D.H.H.S. (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES) **National carcinogenesis studies of food grade geranyl acetate (71% geranyl acetate, 29% citronellyl acetate) (CAS no. 105-87-3) in rats and B6C3F1 mice(gavage study)**. Technical Report Series No. 252 National Toxicology Program. 1987. 162 p.

USDA- Plant Database.USDA- Plant Database. *Mentha x villosa* Huds (pro-sp) [*spicata* × *suaveolens*] **mint**. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MEVI6>. 2007.

VÁZQUEZ, A.M. , AIMAR, M.L. , DEMMEL, G.I. , CABALEN, M.E. , DECARLINI, M.F. CANTERO, J.J. , CRIADO, S.G. & RUIZ, G.M. **Identification of volatile compounds of *Clinopodium odorum* (Lamiaceae):** A comparison between HS-SPME and classic hydrodistillation Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas v. 13, n.3, pp: 285 - 296 2014.

YAMAHARA J., MATSUDA H., WATANABE H., SAWADA T., & FUJIMURA H. **Biologically active principles of crude drugs.** Analgesic and anti-inflammatory effects of “Keigai (*Shizonepeta tenuifolia* Briq)”. Yakugaku Zasshi, v. 100, p: 713 – 717. 1980

YASEEN, M., TAJUDDIN, A., KUMAR, B., KUMAR, S., Evaluation of menthol mint varieties under row spacing in north Indian plains. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v. 22, p: 205–207. 2000.

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

CAPÍTULO 2. ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ESTOLÕES AÉREOS DE *Mentha piperita* DE DIFERENTES TAMANHOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS

RESUMO

A *Mentha piperita* é uma das mentas mais importantes no universo das plantas medicinais e aromáticas. A planta é propagada preferencialmente via estacas da parte aérea e de estolões aéreos e subterrâneos. As estacas enraízam facilmente permitindo que se especule sobre modos de aumentar a eficiência da produção de mudas variando tipos e tamanhos de estacas e os substratos de enraizamento. Foram realizados dois ensaios em casa de vegetação. Os ensaios estudaram a possibilidade de otimização do método, reduzindo o tamanho do propágulo e ampliando as opções para meios de enraizamento. Foram quatro tipos de estacas de estolão aéreo de *M. piperita* quanto ao número de nós (0,5; 1; 2 e 3). O enraizamento das estacas foi feito com dois meios de enraizamento: água em placas de Petri e substrato artesanal confeccionado na própria estação experimental, em vasos. Os melhores resultados foram obtidos com estacas de três nós, enraizadas previamente em substrato artesanal, embora mudas de todos os tratamentos tenham-se apresentado como viáveis. Também foram testados cinco meios de enraizamento em estacas de três nós: substrato artesanal; substrato comercial; areia adubada; areia comum e câmara úmida. As massas secas das mudas enraizadas no substrato artesanal e na areia adubada não diferiram estatisticamente entre si, tendo sido superiores às dos demais tratamentos.

PALAVRAS-CHAVE: Menta, Propagação Vegetativa, Estaquia, Estolões, Substratos

CHAPTER 2. ROOTING OF CUTS OF DIFFERENT SIZES FROM AERIAL STOLONS OF *Mentha piperita* IN DIFFERENT SUBSTRATA.

ABSTRACT

Mentha piperita is one of the most important mints in the universe of the medicinal and aromatic plants. The plant is propagated preferential by cuts of the aerial part and underground stolons. The cuts take root easily allowing people to speculate on ways to increase the efficiency of the method asking for types and sizes of cuts and rooting media. Two assays had been carried out under glasshouse conditions to study the possibility of improving the method, reducing the size of the cut and extending the options for rooting media. Four types of cuts of aerial stolons of *M. piperita* varying the number of nodes (0,5; 1; 2 and 3). The rooting of the cuts was made with two media of rooting: water in plates of Petri and the homemade substratum confectioned in the proper experimental station, in vases. The best results had been gotten with cuts of three nodes, previously taken root in the homemade substratum, even all the treatments have been presented as viable. Five rooting media in three nodes cuts were tested also: homemade substratum; commercial substratum; fertilized sand; common sand and humid chamber. The dry masses of the cuts taken root in the homemade substratum and in the fertilized sand had not differed statistically between themselves, having been superior to the remaining treatments.

KEYWORDS: Mint, Vegetative Propagation, Cuts, Stolons, Substrata

1. INTRODUÇÃO

A *Mentha x piperita* (hortelã-pimenta) É uma das mentas mais importantes no universo das plantas medicinais e aromáticas. Trata-se de um híbrido que se deriva do cruzamento entre *M. aquatica* e *M. spicata* (HARLEY & BRIGHTON, 1977).

A *Mentha x piperita* é valorizada pelo *buquet* de seu óleo essencial e pela produção de mentol, componente de seu óleo essencial largamente utilizado na indústria de alimentos, bebidas e cigarros como aromatizante e na farmacologia por suas propriedades medicinais. O Brasil já foi o maior exportador mundial de óleo essencial de menta (*Mentha piperita* L.), entretanto passou à grande importador, devido ao baixo nível tecnológico de produção empregado na região sul do país onde era cultivada em larga escala (MATOS *et al.*, 2003).

As mentas podem ser multiplicadas por sementes ou por estaquia. No caso de híbridos estéreis resta apenas a multiplicação por estacas que pode ser de haste ou de estolão. Entretanto as características da raiz e peso fresco são dependentes no tipo de estacas a utilizar, com os rizomas estiolados apresentando por vezes valores máximos e os valores mais baixos tendo sido das estacas da haste que diminuem na ordem: meio da haste > basal > apical (EL-KELTAWI & CROTEAU, 1986).

Podem se tornar invasoras, estendendo seus estolões tanto à flor da terra quanto subterrâneos, estes últimos também chamados de “estiolados”. Em presença de sol, toda a planta desenvolve a cor púrpura (PAGE & STEARN, 1985)

Via de regra recomenda-se utilizar como material de multiplicação de *Mentha spp*, os rizomas (estolões) de plantas adultas cortados, com duas a três gemas (DUARTE *et al.*, 1998).

Artefatos têm sido testados no sentido de agilizar o enraizamento de *explants* na ausência de solo com sucesso, incluindo a publicação de patentes (THOMAS, 2009; SANGWAN *et al.*, 2009).

O presente trabalho estudou a otimização do método de propagação vegetativa, variando o tamanho do propágulo e ampliando as opções para meios de enraizamento.

2.OBJETIVO

Estabelecer a relação entre o enraizamento de estacas de estolões de *Mentha piperita* de vários tamanhos em diferentes meios de enraizamento e estudar o desenvolvimento posterior de mudas de um acesso em casa de vegetação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Duarte et al. (1998) ao escrever instruções para o plantio a cultivar: IAC 701 de *M. arvensis* em São Paulo, recomenda utilizar como material de multiplicação rizomas de plantas adultas cortados, com duas a três gemas, sendo necessários 100 a 160 kg de rizomas em 100 a 120m² de canteiro, para produção de mudas para 1 ha.

El-Keltawi & Croteau (1986) não encontraram diferenças significativas entre várias espécies de *Mentha* testadas em estaquia uninodal da haste, de estolões verdes e de rizomas estiolados para porcentagem de enraizamento, comprimento de raízes produzidas e massa fresca de tecido desenvolvido. Observaram ainda que o comprimento da raiz e a massa fresca eram altamente dependentes no tipo de estaca, sendo que os rizomas estiolados apresentaram valores máximos. Os valores mais baixos foram apresentados pelas estacas da haste. O posicionamento das estacas na planta também influenciou na *performance* na seguinte sequência decrescente: meio da haste>basal>apical. Substâncias de crescimento (ácido indol-3-butirico e ácido α -naftilacetico também foram testadas no ensaio.

Azevedo & Chagas (2011) encontraram que em cinco semanas pós-transplante para em ensaio semelhante, a massa fresca de estacas de *Mentha x villosa* apresentou resultados de 60, 30 e 20g respectivamente para estacas de 3 nós, 1 nó e ½ nó. Em outro ensaio, Bandeira (2013) estudou a produção de massa fresca da parte aérea de estacas uninodais de um acesso de *Mentha piperita*, sendo a média da massa fresca da parte aérea (MFPA) de 45g em média por planta.

Chagas et al. (2008) avaliaram quatro diferentes tipos de estacas *Mentha arvensis* em substrato comercial Plantmax: estacas apicais retiradas da parte aérea; estacas retiradas da parte aérea mediana; estacas retiradas da ponteira do estolão e estacas retiradas da parte mediana dos estolões. Os autores observaram que aos 25 e 40 dias após o plantio, as estacas apicais da parte aérea apresentaram maior enraizamento, melhor crescimento, desenvolvimento e precocidade.

Amaro et al. (2013) verificaram que a interação entre os fatores estacas e substratos não foi significativa, tendo-se decidido a estudar o efeito isolado de cada fator. Verificaram que a propagação de *Mentha arvensis* pode ser realizada tanto por estacas apicais como medianas, utilizando o substrato solo + areia + esterco bovino (2:1:1) para a obtenção de mudas de qualidade.

Rech & Pires (1986) utilizaram segmentos nodais de plantas de um ano de idade de *Mentha sp.* em meio de Murashige e de Skoog (BMS), suplementado com o BAP (1.0; 2.0 mg/l) e KIN (1.0 mg/l) e mantido a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ sob a luz fluorescente por 30 dias, visando obtenção de brotos. Após este período, diversos brotos com raízes foram produzidos, (15-20 brotos por *explant*). Posteriormente, os brotos obtidos foram colocados no solo para desenvolverem.

Zheljzakov et al (1996) observaram que os rendimentos em óleo essencial e o índice do mentol de seleções clonais de *M. piperita* e *M. arvensis* variaram de acordo método da propagação. Observaram também que todas as seleções clonais testadas se excetuando uma, produziram os mais elevados rendimentos de biomassa fresca quando propagadas por estacas enraizadas e não por rizomas de verão e outono.

Shasany et al (1998) demonstraram que o tecido internodal de acessos das cvs Himalaya e Kalka de *M. arvensis* pode ser induzido para se obter brotos regenerantes diretos com elevada eficiência.

Silva et al. (2003) avaliaram o método de propagação vegetativa por estaquia de *Mentha arvensis* em bandejas multicelulares e verificaram que a melhor estaca para propagação de *Mentha arvensis* é o rizoma em bandejas de poliestireno de 72 ou 128 células.

Oliveira et al (2011) experimentaram para produção de mudas de *Mentha arvensis* L, quatro tipos de substratos: T1 (solo+areia+ esterco na proporção 2:1:1); T2 (solo e areia na proporção 1:1), T3 (solo) e T4 (substrato comercial Plantmax). Foram analisadas em estacas apicais e medianas, as variáveis comprimento de parte aérea e de raízes (cm), massa seca de parte aérea e raízes (g). Concluíram os autores que o substrato solo+areia+ esterco é o mais recomendado para o enraizamento de mudas de menta, utilizando estacas apicais e medianas nas condições do norte de Minas Gerais.

Paulus et al. (2003) avaliando o efeito de diferentes tipos de substrato para cultivo hidropônico através do método de propagação vegetativa por estaquia de *Mentha x villosa*, verificaram que o substrato espuma fenólica apresentou os melhores resultados na produção de fitomassa fresca e seca total.

Mattos et al. (2003) verificaram que acessos de diferentes espécies de *Mentha* podem apresentar resultados díspares ao serem propagados por miniestaquia, e que o vigor da matriz fornecedora das estacas é fundamental para o sucesso do método.

Em ensaio realizado por Modak et al. (1989), talos apicais foram cortados e colocados durante 24 horas em soluções de seis diferentes vitaminas em diferentes concentrações, e depois de plantados resultou em que a maior biomassa foi obtida com a aplicação 100 ppm de ácido ascórbico, seguida de 25 ppm de tiamina.

Benvenido (2012) verificou que soluções homeopáticas de ácido salicílico em potências ímpares permitem a formação e o crescimento de raízes em estacas de caules aéreos de *Mentha spicata*, em magnitude semelhante ou superior aos controles.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Ensaio 1

O primeiro ensaio foi realizado em condições de casa de vegetação do tipo *glasshouse* localizada na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília UnB, em Brasília-DF, a margem do Lago Paranoá, de 19.11.2014 a 13.12.2014. A temperatura média da casa de vegetação durante ao ensaio foi em média de 27°C, com média das mínimas de 16,2°C e das máximas de 38°C. O índice de sombreamento foi de aproximadamente 50%.

Foram testados quatro tipos de estacas de estolão aéreo de *M. piperita* quanto ao número de nós (0,5; 1; 2 e 3). O tratamento “estaca seminodal” é obtido a partir da estaca uninodal. Os nós de *Mentha* apresentam cada uma duas gemas que podem brotar e enraizar de forma independente. Secciona-se então a estaca uninodal ao meio, separando-se as duas gemas botadas e enraizadas que serão as estacas semi-nodais.

O enraizamento das estacas foi feito em 2 substratos: água em placas de Petri e substrato composto (Mistura EEB) em vasos de 2,5 L de capacidade. Na fase de enraizamento os vasos foram cobertos com campânulas de plástico transparente para manter a umidade e o calor.

As estacas de 0,5 nó foram obtidas mediante divisão ao meio das estacas de 1 nó, após o seu enraizamento.

A Mistura EEB constou de latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico respectivamente na proporção 3:1:1:1, mais a formulação 4-14-8, na dose

de 100g para cada 40 L da mistura. A Mistura EEB em análise por amostragem apresentou a seguinte composição média: matéria orgânica, 8,2%; nitrogênio, 0,52%; fósforo total 0,21%; potássio 0,46%; carbono orgânico 4,8%; relação C/N, 9,2; pH= 6,2.

Após enraizadas, as mudas de 21 dias de idade foram transplantadas individualmente para vasos de 2,5 L de capacidade, preenchidos com a mistura EEB. Na terceira semana as plantas foram adubadas em cobertura mediante o fornecimento de 1 g da formulação NPK 10-10-10 por vaso.

O ensaio teve a duração de sete semanas, sendo a fase de enraizamento de três semanas e a fase de desenvolvimento sobre a mistura, de quatro semanas, quando então foi avaliada a biomassa fresca e seca das plantas e o número e o comprimento das ramas.

4.2 Análises dos dados Ensaio 1

Os dados foram processados estatisticamente com a Análise da Variância e o teste de Scott-Knott para separação das médias.

4.3 Ensaio 2

O segundo ensaio foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília em condições de casa de vegetação tipo *glasshouse* com 50% de sombra, medida por fotômetro Asahi Pentax SP-500. A temperatura média do ambiente no período do ensaio (15/06/2015 a 15/08/2015), com termômetro de máxima e mínima com a média das temperaturas máximas de 36,72°C e média das temperaturas mínimas 12,72 °C. Média geral, 24,72 °C.

Estacas de estolões aéreos de um acesso de *Mentha piperita* com três nós foram colocadas em vasos de 2,5 L sobre 4 substratos sólidos, na posição horizontal, levemente pressionadas sobre a superfície dos substratos visando melhor contato. Algumas estacas foram colocadas numa câmara úmida de saco plástico transparente que foi colocada ao lado dos demais vasos.

Os tratamentos foram: M= mistura EEB; S= Substrato Comercial; AA= Areia adubada; A = Areia; SP= Saco plástico (câmara úmida)

A Mistura EEB constou de latossolo vermelho de cerrado mais areia, vermiculita e composto orgânico respectivamente na proporção 3:1:1:1, mais a formulação 4-14-8, na dose de 100g para cada 40 L da mistura. A Mistura EEB em análise por amostragem apresentou a seguinte composição média: matéria orgânica, 8,2%; nitrogênio, 0,52%; fósforo total 0,21%; potássio 0,46%; carbono orgânico 4,8%; relação C/N, 9,2; pH= 6,2.

O Substrato Comercial é uma mistura de casca de *Pinus* bio-estabilizada, vermiculita, moinha de carvão vegetal, água e espuma fenólica. Foi utilizado o substrato Vivatto Slim ® (Tabela 4).

Tabela 4. Características gerais do Substrato Comercial Vivatto Slim ® conforme fabricante.

Diluição 1:5 v/v		Massa/massa		Densidade	Aditivos (massa/massa)	
pH	C.E.(mS/cm)	C.R.A.	Umidade	(base seca)	Fertilizante	Corretivo
5 ± 0,5	1,2 ± 0,3	200%	48%	260 kg/m ³	1,50 %	0,20%

C.E.=Condutividade elétrica em miliSiemens/cm.; C.R.A.=Capacidade de Retenção de Água.

A areia adubada recebeu suspensão homogênea fluida (fertilizante líquido) do tipo “Raiz” da marca Vitaplan Slim®, formulação 4-14-8 (N; P₂ O₅; K₂O). Conforme instruções do fabricante, diluíram-se 5 ml do formulado em 1 litro de água destilada. Quinze mililitros (15 ml) da diluição foram colocados nos vasos com areia para criar o tratamento Areia Adubada.

Os vasos com os substratos sólidos foram cobertos com campânulas de plástico rígido transparente com três furos de 1 cm de diâmetro na parte de cima, para facilitar a circulação do ar. As estacas do tratamento 5 (câmara úmida), foram colocadas no saco plástico transparente e dispostas na mesma bancada. Decorridos 28 dias a partir da implantação as estacas enraizadas e brotadas foram transplantadas para vasos de 2,5 L de capacidade preenchidos com a Mistura EEB, estes sem a campânula, onde cresceram por mais 35 dias, quando então foi processada a avaliação da massa fresca e seca de cada planta.

4.4 Análises dos dados ensaio 2

Os dados foram submetidos à Análise da Variância e as médias distinguidas pelo teste de Scott-Knott



Figura 14. Ensaio 1 de propagação: 1- aspecto geral do ensaio 1. 2- estacas de *Mentha* spp sobre substrato sólido para enraizamento sob estufim. 3- estacas brotadas após 28 dias sob estufim.



Figura 15. Ensaio 1 de propagação: 1- estaca enraizada de dois nós. 2- estacas de um nó enraizadas em água. 3- separação das gemas brotadas na estaca de um nó para obter duas estacas enraizadas de meio nó (à direita).



Figura 16. Ensaio 1 de propagação: aspecto das plantas de *M. piperita* com dois meses de idade do acordo com os diversos tratamentos. No alto, da esquerda para a direita: enraizamento em água (AR): estacas de 3, 2, 1 e 0,5 nós. Em baixo, da esquerda para.

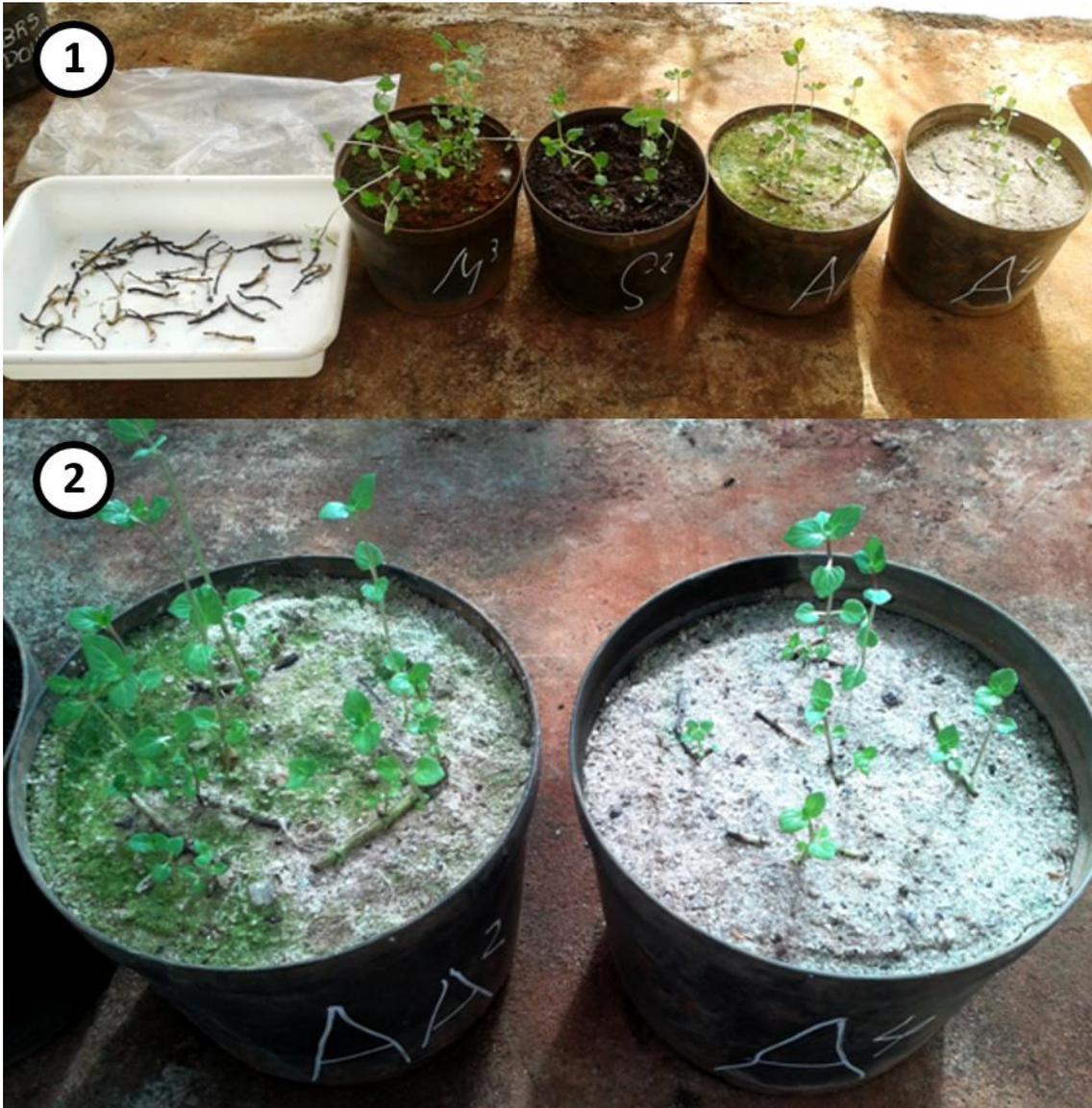


Figura 17. Ensaio 2 de propagação. 1- mudas de *Mentha piperita* de três nós com 28 dias, ao momento do transplante, de acordo com os tratamentos (meios de enraizamento). 2- Mistura EEB, Substrato Comercial, Areia Adubada, Areia Sem a



Figura 18. Mudanças de três nós de *Mentha piperita* com 28 dias, ao momento do transplante, de acordo com os tratamentos (meios de enraizamento): da esquerda para a direita: Mistura EEB, Substrato Comercial, Areia Adubada, Areia Sem Adubo e Câmara úmida.



Figura 19. Ensaio 2 propagação.1- aspecto geral do ensaio. 2- pesagem das plantas na colheita. Em baixo, aspecto das plantas na colheita, conforme o tratamento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio 1

Analisando-se os resultados, observa-se que houve interação entre tamanho de estaca e meio de enraizamento para número de ramos, sempre com vantagem para Mistura EEB e maiores tamanhos de estaca. Para número de ramos, na presença de água o melhor tamanho de estacas foi de dois nós. Na presença da Mistura EEB o melhor resultado foi para estaca de três nós seguido dos resultados para dois nós e um nó, restando o resultado para meio nó como o menor (Tabela 5). Estacas de dois nós e meio nó, não diferiram se enraizadas em água ou na Mistura EEB.

Tabela 5. Médias do número de ramos de *Mentha piperita* aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.

Meio de enraizamento	Tamanho da estaca- número de nós			
	3	2	1	0,5
Água	3,00 Bb	5,00 aA	1,60 bB	1,00 Ab
Mistura	8,40 aA	6,60 aB	5,40 aB	2,80 Ac

Nota: as médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna e pelas mesmas letras maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5%.

Para tamanho da ramagem os resultados foram semelhantes aos de número de ramos, diferindo apenas no referente à estaca de dois nós enraizadas em água, que produziram ramagem inferior às plantas cultivadas na Mistura EEB (Tabela 6).

Tabela 6. Médias do tamanho da ramagem (cm) de *Mentha piperita* aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.

Meio de enraizamento	Tamanho da estaca- número de nós			
	3	2	1	0,5
Água	34,70 bA	56,20 bA	17,80 bB	10,60 aB
Mistura	113,40 aA	87,80 aA	58,80 aB	29,30 aC

Nota: as médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna e pelas mesmas letras maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5%.

Para massa fresca da planta, os resultados das estacas de três e dois nós enraizadas em água diferiram estatisticamente entre si. Os resultados para estacas de dois, um e meio nós enraizados em água não diferiram daqueles de dois, um e meio nós enraizados na Mistura EEB. As estacas de três nós enraizadas na Mistura EEB, foram superiores às mesmas estacas enraizadas em água. As estacas de três nós enraizadas na Mistura EEB foram estatisticamente semelhantes às estacas de dois nós e superiores às estacas de um e meio nó enraizadas a mesma mistura. (Tabela 7).

Tabela 7. Médias de massa fresca(g) de plantas de *Mentha piperita* aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.

Meio de enraizamento	Tamanho da estaca- número de nós			
	3	2	1	0,5
Água	6,00 bB	10,00 aA	3,20 aB	2,40 aB
Mistura	14,40 aA	12,00 aA	6,80 aB	5,60 aB

Nota: as médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna e pelas mesmas letras maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5%.

Para massa seca de plantas, estacas de três nós enraizadas em água não diferiram das estacas de dois nós, o mesmo ocorrendo com as estacas enraizadas na Mistura EEB. Estacas de três, um e meio nós enraizados na Mistura EEB foram superiores às mesmas estacas enraizadas em água. As estacas de dois nós. As estacas de dois nós não diferiram estatisticamente se enraizadas em água ou na Mistura EEB (Tabela 8).

Tabela 8. Médias de massa seca (g) de plantas de *Mentha piperita* aos 50 dias de cultivo referentes a dois meios de enraizamento e quatro tamanhos de estacas de rizoma aéreo.

Meio de enraizamento	Tamanho da estaca- número de nós			
	3	2	1	0,5
Água	0,53 bA	0,75 aA	0,21 bB	0,22 aB
Mistura	1,22 aA	0,99 aA	0,54 aB	0,42 aB

Nota: as médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna e pelas mesmas letras maiúsculas na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5%.

6. CONCLUSÃO ENSAIO 1

Os resultados indicam que, de um modo geral, o enraizamento prévio de estacas maiores de dois e três nós na Mistura EEB garantiu a melhor qualidade da muda em relação ao enraizamento prévio em água destilada, confirmando resultados anteriores obtidos por Duarte (1998); Oliveira et al. (2011) e Amaro et al (2013). No entanto, mudas viáveis foram produzidas em todos os tratamentos, incluindo o pré-enraizamento em água confirmando dados de Benvenido (2012), que enraizou estacas de *Mentha spicata* em soluções homeopáticas e em água destilada.

O enraizamento de estacas de estolões aéreos de *Mentha piperita* de diferentes tamanhos em água destilada e em substrato artesanal mostrou-se viável.

7. ENSAIO 2

Os resultados do Ensaio 2 encontram-se representados na Tabela 9 que apresenta as médias das massas fresca e seca de estacas de *Mentha piperita* aos 35 dias pós transplante, previamente enraizadas por 28 dias em cinco meios de enraizamento.

Tabela 9. Médias das massas fresca e seca de estacas de *Mentha piperita* aos 35 dias pós-transplante, previamente enraizadas por 28 dias em cinco meios de enraizamento.

Tratamentos	% de estacas brotadas	Massa fresca (g)	Massa seca (g)
		aos 63 dias	aos 63 dias
1. Mistura EEB	90	54,20 a	7,72 a
2. Areia Adubada	90	60,20 a	7,37 a
3. Substrato Comercial	90	43,00 a	5,75 b
4. Areia	80	40,40 a	3,25 b
5. Câmara Úmida	56	16,00 b	2,14 b
CV	-	18,89%	17,71%

Obs.: as médias seguidas das mesmas letras não diferem na coluna pelo Teste Scott-Knott (1974) a 5%. Para efeito de análise os dados originais foram transformados em $x^{0,5}$

O tratamento Câmara Úmida teve o desempenho mais fraco para percentagem de estacas brotadas e massa seca. Para massa seca, foi seguido por Areia e Substrato Comercial, no mesmo grupo de médias, todas inferiores às dos tratamentos Areia Adubada e Mistura EEB. Para massa fresca, apenas o tratamento Câmara Úmida diferiu estatisticamente dos demais como mais fraco.

A massa seca é mais adequada para a comparação de tratamentos pois não está sujeita ao efeito da umidade dos tecidos somada a alguma umidade residual, uma vez que as plantas são lavadas dos resíduos de solo e mesmo que se efetue seu enxugamento com tecido de algodão seco antes da pesagem, alguma umidade residual pode restar e aumentar o erro experimental para peso fresco.

O enraizamento prévio ao transplante em meios mais férteis obviamente garante melhor desenvolvimento da estaca que tão logo emita as raízes já começa a absorver os nutrientes e a fabricar matéria seca. Daí o fraco desempenho do tratamento Câmara Úmida no qual a brotação e o enraizamento da estaca ocorrem às expensas apenas da reserva energética da estaca. A Mistura EEB e a Areia Adubada com solução NPK possibilitaram, conforme esperado, os melhores resultados.

O resultado modesto referente ao Substrato Comercial não surpreendeu, uma vez que a característica principal do produto é a facilitação do enraizamento sendo frequentemente suplementado com fertilizantes nos viveiros desta região visando melhor desenvolvimento das mudas, conforme relatado por Vilella (2011).

Apenas nos vasos do tratamento Areia Adubada, observou-se uma evidente proliferação de algas, certamente clorofíceas, na forma de uma mancha esverdeada na superfície do meio de enraizamento. A proliferação de tais algas em coleções d' água por exemplo, é um indicativo do fenômeno da eutrofização que se dá pelo aporte de nitrogênio e fósforo indicando a riqueza nutritiva do ambiente, de acordo com Baptista & Araujo Neto (1994).

Segundo Mattos (1996), o sucesso da estaquia depende fatores intrínsecos à planta tais como a turgência, a reserva energética e as substâncias de crescimento, bem como de fatores externos relacionados à composição do meio de enraizamento que deve prover umidade e oxigênio além de uma temperatura adequada em ambiente iluminado.

Segundo Amaro et al. (2013) e Oliveira et al (2011), os trabalhos de pesquisa com estaquia tomam em geral a areia como referência de melhor meio de enraizamento criando misturas que visam corrigir a sua principal desvantagem qual seja a baixa retenção de umidade, não esquecendo a sua pobreza em nutrientes.

Alguns autores preferem investir na multiplicação e alongamento celular dos tecidos da estaca, tratando o material propagativo com substâncias de crescimento, tais como o ácido indol-3-butírico e o ácido α -naftilacético (EL-KELTAWI & CROTEAU, 1986). Resultados interessantes também têm sido relatados, mediante o tratamento das estacas com soluções de vitaminas (MODAK et al., 1989) e enraizamento de estacas em soluções homeopáticas de ácido salicílico (BENVENIDO, 2012).

Mais recentemente tem-se observado que os substratos comerciais formulados contendo espuma fenólica, conforme utilizado no presente ensaio, têm apresentado resultados promissores, porém frequentemente seus resultados são secundários em relação a alguns

substratos elaborados artesanalmente, encontrando-se nossos resultados em consonância com os obtidos por Chagas et al. (2008) e Oliveira et al (2011).

Alguns trabalhos com hidroponia, também relativamente recentes, têm contemplado o gênero *Mentha* pela facilidade com que as espécies do gênero se adaptam ao cultivo sem solo. As pesquisas de enraizamento de estacas de *Mentha spp* em meio líquido não são muito populares. No entanto, algumas propostas obtiveram resultados positivos, na esteira dos cultivos hidropônicos (PAULUS et al., 2003)

Minimizar o tamanho do propágulo para enraizamento em meio líquido sem investir na dispendiosa micropropagação laboratorial tem um apelo bastante acadêmico ainda. No entanto, a técnica é útil para aumentar o número de mudas produzidas, notadamente quando a disponibilidade do material propagativo é pequena (RECH & PIRES, 1986; EL-KELTAWI & CROTEAU 1986; AZEVEDO & CHAGAS, 2011). Neste campo, artefatos têm sido criados para incrementar o método com projetos patenteados (THOMAS, 2009; SANGWAN et al., 2003)

Os resultados do presente trabalho ampliam as opções de propagação de mentas mediante a seleção dos meios de enraizamento, incluindo a inovação da câmara úmida, a eleição da parte da planta a ser trabalhada e a redução do tamanho do propágulo, enfoques que têm gerado resultados diversos entre os pesquisadores da matéria.

8. CONCLUSÕES ENSAIO 2

- Estacas de três nós enraizadas em areia suplementada com adubo líquido e em substrato artesanal orgânico-mineral apresentaram resultados superiores produzindo mudas de melhor qualidade.

- Todos os tratamentos produziram mudas viáveis.

9. CONCLUSÃO GERAL

Consoante o objetivo geral de presente trabalho que foi identificar os quimiotipos de cinco acessos de *Mentha spp* populares no Brasil e no comércio de Brasília e também estabelecer a relação entre o enraizamento de estacas de estolões de *Mentha piperita* de vários tamanhos em diferentes meios de enraizamento, tivemos que três acessos apresentaram o quimiotipo esperado para a espécie, ou sejam mentol para *M. arvensis* e *M. piperita* e linalol-acetato de linalila para *M. piperita var. citrata*. O acesso da espécie *M. x villosa* apresentou o quimiotipo carvona-limoneno e o da espécie *M. spicata* apresentou o quimiotipo óxido de piperitenona-óxido de piperitona, atípicos para as estas espécies, sugerindo-se que integrem futuros elencos para pesquisa de quimiotipo. Quanto ao estudo da propagação vegetativa de *Mentha piperita*, os melhores resultados foram obtidos com estacas de três nós, enraizadas previamente em substrato artesanal, embora mudas de todos os tratamentos, inclusive o enraizamento em água destilada, tenham-se apresentado como viáveis. Dos cinco meios de enraizamento testados com estacas de três nós em ensaio próprio, obteve-se que, em geral, o substrato artesanal e a areia adubada apresentaram os melhores resultados embora o enraizamento das estacas em substrato comercial, areia comum e em câmara úmida tenham produzido mudas viáveis embora menos desenvolvidas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARO, H.T.R.; SILVEIRA, J.R.; DAVID, A.M.S DE S; RESENDE, M.A.V DE; ANDRADE, J.A.S. Tipos de estacas e substratos na propagação vegetativa da menta (*Mentha arvensis* L.). **Rev. bras. plantas med.**[online]. v.15, n.3, pp: 313-318. 2013.
- AZEVEDO, G. R.; CHAGAS, R. D. T. **Curva de produção de biomassa fresca de três tipos de mudas de *Mentha x villosa* Huds. em condições de estufa.** Universidade de Brasília 2011. 13 f. Trabalho Final de Graduação em Agronomia.
- BANDEIRA, R. A. . **Produção de biomassa de *Mentha piperita* L. em casa de vegetação do tipo “glasshouse”.** Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 26p. Monografia de Graduação em Agronomia.
- BAPTISTA, G.M.M.; ARAÚJO NETO, M.D. **O processo de eutrofização artificial do Lago Paranoá *Geonomos*,** v.2 n.2: 31-39. 1994.
- BENVENIDO, R. P. L. **Enraizamento de estacas de hortelã (*Mentha spicata* L.) em função de soluções homeopáticas centesimais ímpares derivadas de ácido salicílico.** Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". TCC da Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2012. 33p.
- CHAGAS J.H., PINTO J..B.P., BERTOLUCCI, S.K.V. & NALON, F.H. **Produção de mudas de hortelã-japonesa em função da idade e de diferentes tipos de estaca.** Ciência Rural, Santa Maria, v.38, n.8, pp:2157-2163. 2008.
- DUARTE, F.R., MAIA, N.B., CALHEIROS, M. B. P., BOVI, O. A. **Menta ou Hortelã. *Mentha arvensis* L.** Boletim IAC - 200, p.20.1998.
- EL-KELTAWI, N E., CROTEAU, R. Single-node cuttings as a new method of mint propagation. **Scientia Horticulturae.** v. 29, pp:101-105. 1986.
- HARLEY R. M.; BRIGHTON C. A. Chromosome numbers in the genus *Mentha* L. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 74 n.1 pp: 71-96. 1977.
- MATTOS, J.K.A. **Plantas Medicinais.** Aspectos Agronômicos. Edição do Autor. 1996. 51 p.
- MATTOS, J. K. A. ; MACHADO, R. M. ; SILVA, W. E. R. R. . **Propagação rápida de cinco espécies de hortelã mediante dois tipos de propágulo.** In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 2003, Recife. **43 Congresso de Olericultura.** Brasília DF: Horticultura Brasileira, v. 21. P : 411-411. 2003.
- MODAK, S. B.; HATI, A. P.; DUTTA, P. K.; BASU, P. K. **Effect of vitamins on cuttings of *Mentha arvensis* var. *piperascens* Holmes with emphasis on biomass production.** Environment and Ecology v.7,n.2, p: 404-406.1989
- OLIVEIRA, M.B., AMARO, H.T.R., SILVA NETA, I.C., ASSIS, M.O., DAVID, A.M.S.S., CUNHA, L.M.V. **Qualidade de mudas de menta (*Mentha arvensis* L.) enraizadas em diferentes substratos, no norte de Minas Gerais.** Congresso Brasileiro de Agroecologia. Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE – 12 a 16/12/2011 p 1 a 6.

PAGE, M.; STEARN, W. T. Hierbas para cocinar. Manuales Jardim Blume. **The Royal Horticultural Society**. 1992. 61 p.

PAULUS, D.; SEGATTO F.B.; BORCIONE, E.; PUNTEL, RM; SANTOS,O. **Efeito de diferentes substratos na produção de mudas de hortelã para cultivo hidropônico**. Congresso Brasileiro de Olericultura. 2003. Resumo expandido.

RECH, E. L. PIRES, M. J. **Tissue culture propagation of *Mentha spp.*** by the use of axillary buds. *Plant Cell Rep* Feb;5(1):17-18. 1986

SANGWAN, R.S., SANGWAN, N.S., KUMAR, S. **Process for the induction of normal roots on nodes and internodes of stem segments without using hormone and/or chemical treatments in *Mentha species***. US 6586248 B2. Council of Scientific & Industril Research 2003. Patente.

SHASANY, A. K.; KHANUJA, S. P. S.; DHAWAN, S.; YADAV, U.; SHARMA, S.; KUMAR, S. High regenerative nature of *Mentha arvensis* internodes. **Indian Academy of Sciences**, n.5, p. 641-646,1998.

SILVA R. et al. **Propagação vegetativa de estacas de hortelã-rasteira (*Mentha villosa* Huds) em bandejas multicelulares**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 41., 2001, Brasília, DF. Anais. Brasília: Sociedade de Olericultura do Brasil, 2001. V..19, n.2, Suplemento.

THOMAS,P.E.L. **A Rhizome Germinating Technique for Glasshouse Propagation**. Pest Articles & News Summaries. Section C. Weed Control v.13,n.3. 221-222. 2009. Reprint.

VILLELA, J. G. A. **Resistência de cultivares comerciais de maracujazeiro azedo a isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em condições de casa de vegetação**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília; 2011. 36 p. Monografia de Graduação em Agronomia.

ZHELJAZKOV, V., YANKOV, B., TOPALOV, V. Comparison of Three Methods of Mint Propagation and Their Effect on the Yield of Fresh Material and Essential Oil. **Journal of Essential Oil Research**; v.8, n.1,pp:35-45.1996