

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

**ÁGUA DE REUSO E SEU EFEITO SOBRE PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

DAYANNE FABRÍCIO BRESSAN

Tese apresentada a Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutora
em Agronomia (Irrigação e Drenagem)

BOTUCATU-SP

Novembro – 2015

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

**ÁGUA DE REUSO E SEU EFEITO SOBRE PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

DAYANNE FABRÍCIO BRESSAN

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp – Câmpus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutora em
Agronomia (Irrigação e Drenagem)

BOTUCATU - SP

Novembro – 2015

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

B843a Bressan, Dayanne Fabrício, 1980-
Água de reuso e seu efeito sobre parâmetros fisiológicos em manjerição (*Ocimum basilicum* L.) / Dayanne Fabrício Bressan. - Botucatu : [s.n.], 2015
xiii, 129 f. : fots. color.; grafs., ils. color., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2015
Orientador: Fernando Broetto
Inclui bibliografia

1. Salinidade. 2. Efluente. 3. Essências e óleos essenciais. 4. Plantas aromáticas. I. Broetto, Fernando. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ÁGUA DE REUSO E SEU EFEITO SOBRE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)

AUTORA: DAYANNE FABRÍCIO BRESSAN

ORIENTADOR: Prof. Dr. FERNANDO BROETTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA
(IRRIGAÇÃO E DRENAGEM), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu

Prof. Dr. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS
Dep de Solos e Recursos Ambientais / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof. Dr. RODRIGO MÁXIMO SÁNCHEZ ROMÁN
Dep de Engenharia Rural / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Prof. Dr. MARCELO LEONARDO
Casa da Agricultura/ Cati - Coordenadoria de Assistência Técnica Integral

Profa. Dra. MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos / Instituto Agrônômico de
Campinas

Data da realização: 26 de novembro de 2015.

*“Feliz aquele que transfere o que sabe
e aprende o que ensina”*

Cora Coralina

*Dedico, a Deus,
aos meus pais, ao meu irmão,
e ao meu noivo fonte inesgotável do meu amor!*

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado forças e iluminado meu caminho acompanhado de coragem para enfrentar os desafios da vida nos caminhos que escolhi.

Ao meu orientador Professor Dr. Fernando Broetto, pelos seus ensinamentos, orientação, por sua disponibilidade em ensinar que sempre manifestou, a empatia com que recebeu minhas dúvidas, idéias e necessidades, pelo modo como me apoiou nesta jornada, sempre estimulando as nossas capacidades, pelas confraternizações em sua casa com suas refeições deliciosas que nos fazem matar um pouquinho da saudade da casa de nossos pais além de proporcionar momentos de alegria com os amigos do lab. Mais que um orientador, você é uma grande pessoa, um grande amigo. Obrigada por acreditar em mim!

Aos meus pais, de quem recebi o dom mais precioso a “vida”, revestida de carinho, amor e dedicação, sempre me apoiando, ensinando, compreendendo, tendo sempre o estudo e o meu bem estar em primeiro lugar. Mesmo com dificuldades, vocês me ensinaram que na vida o que temos de mais precioso é a perseverança nos estudos. Sem os seus esforços e seus exemplos de humildade e dignidade eu não teria chegado até aqui! Serei grata eternamente! Amo Vocês

Ao meu irmão, exemplo de força, coragem e perseverança, para nunca desistir diante do primeiro obstáculo encontrado. Motivo dessa persistência e desta obra. Amo você!

Ao meu noivo Diogo Capelin, que por mais que eu tentasse, novamente eu não conseguiria terminar esse trabalho sem sua ajuda. Pelos dias e madrugadas que passou me auxiliando no projeto e na tese. Do seu tempo e sua sabedoria que compartilhou horas e horas de estudo para me ajudar, sempre acreditando no meu potencial. Juntos dividimos as lágrimas e os momentos felizes que passamos. Sou muito grata a você, ter sua companhia é o mesmo que estar vivendo com a certeza que existem pessoas que realmente se importam conosco, as quais sabem dizer palavras certas em momentos mais difíceis. Obrigada por ser parte da minha vida. Te amo!.

A família Bressan, Nogueira e Capelin pelo exemplo de perseverança e incentivo em minhas conquistas. Em especial ao meu avó João Bressan, pelo carinho e incentivo a busca pelos estudos. Aos demais avós in-memorian.

A minha grande amiga Catarine dos Santos, pela verdadeira e duradoura amizade, que ao longo desses 22 anos, compartilhou junto os momentos das grandes conquistas, alegrias, tristezas e dificuldades, demonstrando que as verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias. Agradeço pelo apoio, pelas palavras árduas, de incentivos e amáveis nos momentos difíceis e por sempre acreditar no meu potencial, na

minha profissão, nas minhas idéias, nos meus devaneios, principalmente quando nem eu mais acreditava.

Aos amigos do lab agradeço imensamente ao Fernando, Renata, Edilson, Érica, Bettini, Ricardo, Henrique, Luz Maria, Jéssica, Eduardo e Chiara. Obrigada pelo apoio, carinho, amizade, entusiasmo e pelos muitos momentos de alegria que passamos juntos como bons e velhos amigos. Quero que saibam que sem os esforços de vocês o apoio e a solidariedade, eu não teria chegado até aqui. E lembrem-se, que mesmo que a vida nos leve a caminhos diferentes, a nossa amizade ficará gravada sempre em minha memória e no meu coração!!

Aos amigos da pós-graduação, Franciana, Raimundo, Jéssica Lima, Joselina, Clescy, Aline, Talita, Bruna, João Queluz e Rigléia por todo carinho, amizade, companheirismo, incentivo e ajuda durante esses anos. Com certeza vocês fizeram a diferença e tornaram meus dias mais alegres.

Agradeço a Quechu, Sara, Maria José, Maria Fer, Rosalia, José Alarcón, José Ramón da equipe do CEBAS do centro de pesquisa da Espanha pela receptividade, carinho, amizade, troca de conhecimento profissional e por toda a experiência adquirida durante a minha estadia.

À professora Márcia Ortiz e Danielle pelo tempo disponibilizado nas análises do óleo, pelo carinho e amizade e por seus ensinamentos que contribuíram muito para o meu crescimento.

Aos demais membro da banca

A UNESP/FCA/IBB

A CAPES, pela bolsa de auxílio.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	1
SUMMARY	3
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 Aspectos da cultura de <i>Ocimum basilicum</i> L.	7
2.1.1 Crescimento e desenvolvimento de <i>O. basilicum</i> L.....	8
2.1.2 Óleo essencial de <i>O. basilicum</i> L.....	10
2.2 Água de reuso	11
2.2.1 Aspecto gerais.....	11
2.2.3 Utilização da água de reuso para irrigação.....	12
2.3 Respostas fisiológicas e bioquímicas ao estresse salino	14
2.3.1 Efeitos gerais da salinidade sobre as plantas	14
2.3.2 Tolerância a salinidade pelas plantas	17
2.3.3 Estresse oxidativo decorrente do estresse salino	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Caracterização da área experimental	22
3.1.1 Local de estudo	22
3.1.2 Clima	22
3.2 Produção do material vegetal e condições experimentais	23
3.3 Análise e condicionamento do Solo	24
3.3.1 Característica química do solo.....	24
3.3.2 Curva de retenção de água no solo.....	25
3.4 Análise e condicionamento da água de reuso	26
3.4.1 Origem e característica da água de reuso	26
3.4.2 Processo de decantação, filtração e ozonização da água de reuso.....	28
3.4.2.1 Decantação.....	29
3.4.2.2 Filtração.....	30
3.4.2.3 Ozonização da água de reuso.....	32
3.4.3 Análise físico-química da água de reuso.....	32
3.4.4 Análise microbiológica da água de reuso.....	34

3.4.5 Contagem de ovos de helmintos na água de reuso	35
3.5 Irrigação.....	35
3.5.1 Sistema de irrigação	35
3.5.2 Teste de uniformidade do sistema.....	36
3.5.3 Determinação da lâmina de irrigação.....	37
3.5.4 Monitoramento do solo	37
3.6 Fatores ambientais na estufa	39
3.7 Delineamento experimental.....	41
3.7.1 Tratamentos	42
3.7.2 Épocas de amostragem	42
3.8 Análises estatísticas.....	43
3.9 Parâmetros avaliados	43
3.9.1 Relações hídricas.....	43
3.9.1.1 Determinação do potencial hídrico	43
3.9.1.2 Determinação do conteúdo relativo de água (CRA)	44
3.9.2 Variáveis físicas do solo	45
3.9.3 Parâmetros de crescimento e biomassa.....	46
3.9.3.1 Altura das plantas	46
3.9.3.2 Diâmetro do caule	46
3.9.3.3 Área foliar	46
3.9.3.4 Biomassa vegetal.....	47
3.9.3.5 Índices de crescimento	47
3.9.4 Análise dos nutrientes.....	48
3.9.4.1 Análise dos nutrientes foliar	48
3.9.4.2 Análise dos nutrientes da raiz	48
3.9.4.3 Composição mineral da solução do solo	49
3.9.5 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila.....	50
3.9.5.1 Trocas gasosas: Fotossíntese e condutância estomática.....	50
3.9.5.2 Fluorescência da clorofila no fotossistema II - FSII (F_v/F_m).....	51
3.9.6 Índices relativo de clorofila (IRC).....	51
3.9.7 Análises Bioquímicas	52
3.9.7.1 Coleta e armazenamento do material vegetal	52
3.9.7.2 Procedimento para obtenção do extrato bruto	52

3.9.7.3 Determinação do teor de proteína solúvel total	53
3.9.7.4 Determinação do teor de L-prolina	53
3.9.7.5 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD;EC 1.15.1.1).....	53
3.9.7.6 Atividade da enzima catalase (CAT; EC. 1.11.1.6)	54
3.9.7.7 Nível de peroxidação de lipídeos	54
3.9.8 Óleo essencial	54
3.9.8.1 Coleta e armazenamento do material vegetal	55
3.9.8.2 Extração do óleo essencial.....	55
3.9.8.3 Rendimento do óleo essencial nas folhas de <i>O. basilicum</i> L.....	56
3.9.8.4 Composição química do óleo essencial nas folhas de <i>O. basilicum</i> L.....	56
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	58
4.1 Relações hídricas	58
4.1.1 Potencial hídrico	58
4.1.2 Conteúdo relativo de água – CRA	61
4.2 Variáveis físicas do solo	63
4.3 Biometria	65
4.3.1 Crescimento: Altura de plantas, Diâmetro do caule, Área foliar e Número de folhas.....	65
4.3.2 Biomassa vegetal.....	67
4.3.4 Índices de crescimento	74
4.4 Composição dos nutrientes.....	76
4.4.1 Composição dos nutrientes foliares	76
4.4.2 Concentração de nutrientes na raiz de <i>O. basilicum</i> L.....	80
4.4.3 Composição mineral da solução do solo	83
4.5 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila.....	84
4.5.1 Trocas gasosas: Fotossíntese e condutância estomática	84
4.5.2 Fluorescência da clorofila no fotossistema II - FSII (F_v/F_m)	88
4.6 Índice relativo de clorofila.....	90
4.7 Análises bioquímicas	92
4.7.1 Determinação do teor de proteína solúvel total (PST).....	92
4.7.2 Determinação do teor de L-prolina	94
4.7.3 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD;EC 1.15.1.1)	96
4.7.4 Atividade da enzima Catalase (CAT; EC.1.11.1.6)	98

4.7.5 Nível de peroxidação de lipídeos.....	100
4.8 Óleo essencial.....	102
4.8.1 Rendimento e produção do óleo essencial em folhas de <i>O. basilicum</i> L.....	102
4.8.2 Composição química do óleo essencial em folhas de <i>O. basilicum</i> L.	105
5 CONCLUSÃO.....	110
6 REFERÊNCIAS.....	112
7 APÊNDICE	127

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Ocimum basilicum</i> L. cv. Genovese.....	8
Figura 2. Esquema da ação das enzimas do sistema de resposta antioxidativo	21
Figura 3. (A) Plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv. Genovese e (B) produção de mudas de manjeriço utilizadas no experimento.....	23
Figura 4. (A e B) Detalhes do experimento na estufa.....	24
Figura 5. Curva de retenção de água no solo, conforme o modelo de Van Genuchten (1980) solo da gleba patrolha, FCA/UNESP – Botucatu, SP.....	26
Figura 6. Estação de Tratamento de Esgotos – ETE, localizada na Fazenda Experimental Lageado, FCA/UNESP, Campus de Botucatu, SP	27
Figura 7. Processos de tratamento da água de reuso utilizada na irrigação do experimento	28
Figura 8. (A) Reservatório de água de reuso de 1000L e ponto de coleta das amostras; (B) Filtro com areia; (C) Aparelho de ozonização; (D) Montagem do processo de tratamento da água de reuso e (E) Reservatório da água de reuso ozonizada.....	29
Figura 9. Detalhes do reservatório utilizado para decantação da biomassa presente na água de reuso	30
Figura 10. Porcentagem acumulada passante em função do tamanho de partícula de areia	31
Figura 11. Sistema filtrante da água de reuso.....	31
Figura 12. Demonstração interna do aparelho utilizado no processo de ozonização da água de reuso	32
Figura 13. Sistema de irrigação e distribuição da água para as plantas	36
Figura 14. Monitoramento de água no solo por tensiometria.....	38
Figura 15. Monitoramento do potencial matricial de água no solo (KPa) em diferentes épocas de amostragem, irrigadas com água de reuso e salina.	38
Figura 16. Fatores ambientais na estufa. Variação da temperatura média, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor de água no ar (DPV) durante as épocas de amostragem	41
Figura 17. Esquema ilustrativo da área experimental	41
Figura 18. Câmara de pressão modelo SAPS II - System Analysis of Plant Stress, mod. 3115.....	44
Figura 19. Preparação dos discos foliares de <i>Ocimum basilicum</i> L. submersos em água destilada para análise de CRA.....	45

Figura 20. Sensor WET-2-K1 (Delta T) utilizado no experimento	46
Figura 21. Medidor de área foliar LICOR LI-3000	47
Figura 22. Aplicação de vácuo no extrator de cápsula porosa, para coleta de solução	49
Figura 23. Analisador infra vermelho de gases (IRGA) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA)	50
Figura 24. Esquema do Sistema Clevenger utilizado para a extração de óleo essencial	55
Figura 25. (A) Hidrodestilação do óleo essencial de folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. em aparato tipo Clevenger e (B) armazenamento do óleo extraído.	56
Figura 26. (A) CG-EM; Shimadzu, QP-5000, (B) CG-DIC; Shimadzu 2010	57
Figura 27. Potencial hídrico (ψ_w folha) em plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem..	59
Figura 28. Conteúdo relativo de água (CRA) em discos foliares de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigados com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.	62
Figura 30. Trocas gasosas: Assimilação líquida de CO ₂ (A); condutância estomática (g_s); concentração intercelular de CO ₂ (C_i) e transpiração (E) em plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.	87
Figura 31. Valores médios para a concentração de proteína solúvel total (mg g ⁻¹ MFF) em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem.....	93
Figura 36. Rendimento de óleo essencial de folhas (base seca) de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl)..	102
Figura 37. Rendimento de óleo essencial de folhas (base seca) de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem.....	103
Figura 38. Rendimento do óleo essencial da massa seca de folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. (g planta ⁻¹) irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl)	104
Figura 39. Principais componentes majoritários do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl).	105

Figura 40. Estrutura química dos constituintes majoritários de óleo essencial de folhas de *Ocimum basilicum* L. cv. Genovese, submetidas a diferentes qualidades de água.106

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Análise de solo latossolo vermelho distrófico, textura média (Led) – série Gleba Patrulha, antes da correção e fertilização	24
Tabela 2. Valores do modelo de Van Genuchten na camada de 0 a 0,20 m	25
Tabela 3. Resultado da análise de nutrientes da água de reuso <i>Efluente Final da ETE</i> (0% de O ₃) e após o processo de ozonização na intensidade de 100% de liberação de O ₃	33
Tabela 4. Resultados da análise de metais pesados da água de reuso <i>Efluente Final da ETE</i>	34
Tabela 5. Resultado da análise microbiológica da água de reuso captada do efluente final da ETE e amostras após o processo de ozonização. Técnica utilizada de acordo com a Portaria do Ministério da Saúde, N° 2.914 de 12 de dezembro de 2011	35
Tabela 6. Potencial hídrico (ψ_w folha) em KPa, nas plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água em seis épocas de amostragem.....	60
Tabela 7. Umidade do solo (%) irrigado com diferentes tratamentos (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem	63
Tabela 8. Condutividade elétrica do solo CE (mS m ⁻¹) irrigado com diferentes tratamentos (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem	64
Tabela 9. Temperatura do solo (°C) irrigado com diferentes tratamentos (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem.....	64
Tabela 10. Altura das plantas (m) de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem	65
Tabela 11. Diâmetro do caule (mm) das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem	66
Tabela 12. Área foliar (m ² de folha planta ⁻¹) das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....	66
Tabela 13. Número de folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem	66

- Tabela 14. Massa fresca de folhas (g planta^{-1}) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....68
- Tabela 15. Massa fresca de caule (g planta^{-1}) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....68
- Tabela 16. Massa seca de folha (g planta^{-1}) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....69
- Tabela 17. Massa seca total de folha, caule e raiz (g planta^{-1}) em plantas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem70
- Tabela 18. Massa seca de caule (g planta^{-1}) em plantas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem71
- Tabela 19. Massa seca de raiz (g planta^{-1}) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....73
- Tabela 20. Massa seca da parte aérea (folha e caule) (g planta^{-1}) em plantas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem73
- Tabela 21. Área foliar específica - *SLA* ($\text{cm}^2 \text{folhas g}^{-1} \text{MS}_{\text{folha}}$) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem74
- Tabela 22. Taxa de superfície foliar - *LAR* ($\text{m}^2 \text{folhas g}^{-1} \text{MS planta}$) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem75
- Tabela 23. *LWR* ($\text{g MS de folhas g}^{-1} \text{MS total}$) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....76
- Tabela 24. Relação foliar de K/Na em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem78
- Tabela 25. Composição dos nutrientes das folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem79
- Tabela 26. Relação radicular de K/Na em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem81

Tabela 27. Composição dos nutrientes das raízes das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem.....	82
Tabela 28. Composição mineral, pH e condutividade elétrica da solução do solo durante cultivo de <i>Ocimum basilicum</i> L. ao final do ciclo vegetativo	84
Tabela 29. Assimilação líquida de CO ₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) em plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem	85
Tabela 30. Condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem	85
Tabela 31. Transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.....	86
Tabela 32. Concentração intercelular de CO ₂ (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$) em plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem	86
Tabela 33. Fluorescência mínima (F_o), Fluorescência máxima (F_m) e Máxima eficiência do fotossistema II (F_v/F_m) em <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl).....	89
Tabela 34. Resultados médios do índice relativo de clorofila (SPAD), em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl)	91
Tabela 35. Valores médios da concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem.....	94
Tabela 36. Valores médios da concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem	94
Tabela 37. Valores médios da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) ($\text{UI } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem	96
Tabela 38. Valores médios da atividade da enzima catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem.....	98

Tabela 39. Valores médios peroxidação de lipídios (mol de MDA* g MF⁻¹) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem101

Tabela 40. Valores percentuais dos componentes do óleo essencial de plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem107

Tabela 41. Valores percentuais dos componentes do óleo essencial da matéria seca de folhas de *Ocimum basilicum* L. em diferentes épocas de amostragem.....108

Tabela 42. Valores percentuais do eugenol no óleo essencial, em base seca de folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem109

LISTA DE SIGLAS

A	Assimilação líquida de CO ₂
CAT	Catalase
CE	Condutividade elétrica
C _i	Concentração interna de CO ₂
CRA	Conteúdo relativo de água
E	Taxa transpiratória
ERO	Espécie reativa de oxigênio
F _m	Fluorescência máxima da clorofila
F _o	Fluorescência mínima da clorofila
F _v /F _m	Fluorescência máxima
FS II	Fotossistema II
g _s	Condutância estomática ao vapor de água
IRC	Índice relativo de clorofila
KPa	Quilopascal
LAR	<i>Leaf Area Ratio</i>
LWR	<i>Leaf Weight Ratio</i>
MDA	Malondialdeído
MF	Massa fresca
MFC	Massa fresca de caule
MFF	Massa fresca de folhas
MFR	Massa fresca de raiz
MS	Massa seca
MSC	Massa seca de caule
MSF	Massa seca de folhas
MSR	Massa seca de raiz
PAR	<i>Photosynthetic active radiation</i>
SLA	<i>Specific Leaf Area</i>
SOD	Superóxido dismutase
SPAD	Soil Plant Analysis Development
Ψ _w	Potencial hídrico

ÁGUA DE REUSO E SEU EFEITO SOBRE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.). Botucatu, 2015. 129 p. Tese (Doutorado em Agronomia / Irrigação e Drenagem) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autora: DAYANNE FABRÍCIO BRESSAN

Orientador: FERNANDO BROETTO

RESUMO

A água destinada para irrigação torna-se cada vez mais limitada, sendo necessário a busca de fontes alternativas de água para a situação de escassez na agricultura. Uma das alternativas eficazes é o reaproveitamento da água de reuso tratada, principalmente em regiões onde a escassez e a má distribuição de água tornam-se fatores limitantes ao seu uso. No setor agrícola mundial, o aproveitamento da água de reuso na irrigação das plantas, tem demonstrado importância econômica, agrônômica e ambiental. A água de reuso é conhecida como de baixa qualidade, devido as altas concentrações salinas, entretanto, a maioria dessas águas é rica em elementos minerais que são essenciais para o desenvolvimento do vegetal e outros potencialmente fitotóxicos. Quando utilizada para fins agrícolas pode trazer benefícios econômicos, todavia, o efeito que estes elementos presentes na água podem causar no desenvolvimento das plantas vai depender do tratamento da água, da sua origem e da tolerância da espécie a ser estudada. Diante disso, o presente estudo verificou os efeitos nutricionais, osmóticos e ou salinos, derivados da água de reuso, sobre a resposta bioquímica e fisiológica na planta de *Ocimum basilicum* L. Para o plantio, foram utilizadas sementes da cv. Genovese conhecida como manjericão da folha larga que apresenta grande interesse comercial e medicinal na produção do óleo essencial. Os tratamentos aplicados foram: T1- Água deionizada; T2- Água deionizada com NaCl (15 mM); T3- Água de reuso tratada captada da ETE – SABESP e Ozonizada e T4- Água deionizada com NaCl (30 mM) via gotejamento em diferentes épocas de amostragem. Os parâmetros de relações hídricas, biometria, trocas gasosas e IRC não foram afetados pela irrigação com água de reuso, diferentemente dos tratamentos salinos que reduziram o potencial hídrico, MSF e MST. A análises bioquímicas indicaram que apenas os tratamentos salinos ativaram as enzimas relacionadas ao sistema de resposta antioxidativo. As plantas irrigadas com água de reuso e 15 mM de NaCl responderam com aumento no rendimento do óleo essencial nas folhas e maior produção por planta. Em termos

qualitativos, a análise dos componentes do óleo revelou que a água de reuso e os tratamentos salinos não alteraram a composição química padrão do óleo essencial da espécie. A água de reuso não provocou danos na permeabilidade das membranas que indicasse estresse salino. Estes resultados demonstram que a água de reuso não promoveu quaisquer perdas agronômicas a cultura, e desde que manejada adequadamente, pode ser uma alternativa para a irrigação de *O. basilicum* L. Entretanto, o conhecimento de sua fonte, bem como sua composição química, são essenciais para o uso com fins agrícola.

Palavras chaves: Salinidade, efluente, medicinal, óleo essencial, planta aromática.

WASTEWATER AND ITS EFFECT ON PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN BASIL (*Ocimum basilicum* L.). Botucatu, 2015. 129 p. Doctoral Thesis in Agronomy/Irrigation and Drainage - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: DAYANNE FABRÍCIO BRESSAN

Adviser: FERNANDO BROETTO

SUMMARY

The water used for irrigation becomes increasingly restricted, making it necessary to try alternative sources of water in case of shortage in agriculture. One effective alternative is the reuse of treated wastewater, especially in regions where the shortage and misdistribution of water make limiting factors to its use. In the global agricultural sector, the use of wastewater for irrigation of plants has been important economically, agronomically and environmentally. The reuse of water is known as low quality, due to high and potentially phytotoxic elements, and concentrations of salt, however, most of this water is rich in mineral elements, which are essential for the development of the vegetable. When used for agricultural purposes, it can bring economic benefits, nevertheless, the effect that these elements can cause in the growth of plants will depend on the water treatment, its origin and the tolerance of species to be studied. Thus, the nutritional, osmotic or saline effects, derived from wastewater on the biochemical and physiological response in *Ocimum basilicum* L. were analyzed in this current study. For planting, cv. Genovese seeds were used. This cultivar is known as broad leaf basil, which has great commercial and medicinal interests for its essential oil production. The applied treatments were: T1 deionized water; T2 deionized water with NaCl (15 mM); T3 wastewater drawn from the ETE – SABESP, afterwards ozonized, and T4 deionized water with NaCl (30 mM), the treatments were applied via dripping at different sampling times. The parameters of water relations, biometric, gas exchange and IRC relations were not affected by irrigation with wastewater, unlike the saline treatments that reduced water potential, MSF and MST. The biochemical analysis indicated that only the saline treatments activated enzymes related to antioxidant response system. Plants irrigated with wastewater and 15 mM NaCl responded with increase in the essential oil yield in the leaves and with higher production per plant. Regarding the quality, the analysis of the oil

components revealed that the wastewater and the saline treatment did not alter chemical essential oil the known pattern for this species. The wastewater caused no damage to the permeability of the membranes to indicate salt stress. These results demonstrate that wastewater did not cause any agronomic loss to the culture, and since managed properly, it may be an alternative for irrigation of *O. basilicum* L. However, knowing its source, as well as its chemical composition, are essential for the use in agricultural purposes.

Keywords: Salinity, effluent, medicinal, essential oil, aromatic plant.

1 INTRODUÇÃO

A utilização da água de reuso para irrigação agrícola, vem adquirindo uma notável importância como forma de aproveitar racionalmente os recursos hídricos ambientais. Uma das vantagens de utilizar esse tipo de água na irrigação de plantas é devido ao seu alto potencial econômico, nutricional e ambiental. Para consolidar essa prática de irrigação é essencial ter evidências científicas sobre seus efeitos no crescimento e desenvolvimento das plantas, no meio ambiente e na saúde pública.

A maioria dos trabalhos de pesquisa que vem sendo realizados para otimizar a irrigação com água de reuso, concentram-se em plantas alimentícias e ornamentais, sendo portanto, menos estudadas aquelas com interesse medicinal como é o caso da família das Lamiaceas do gênero *Ocimum basilicum* L. Este gênero apresenta grande potencial agrônomo para produção e extração de óleo essencial. Muitos trabalhos visam determinar o rendimento, a produção, o teor e a composição do óleo essencial em diferentes condições ambientais. Por outro lado, são poucas informações consolidadas sobre a utilização e resposta dos benefícios da água de reuso e da tolerância à salinidade para esta espécie.

Uma das problemáticas na utilização da água de reuso é a grande variabilidade de suas características físico-químicas e microbiológicas. Em vários estudos científicos, a utilização da água de reuso de origem doméstica para irrigação, comprova-se o seu efeito benéfico sobre o crescimento e desenvolvimento nas plantas. O seu alto poder fertilizante permite a conservação do solo, além de aumentar a resistência a erosão, aumenta a concentração de matéria orgânica possibilitando maior retenção de água no solo.

Porém, dependendo da sua origem, tratamento e do sistema de irrigação adotado, a água de reuso promove o acúmulo de elementos potencialmente tóxicos, orgânicos e inorgânicos e até mesmo o aumento da salinidade em camadas insaturadas no solo.

O excesso de sal presente na água, pode causar grandes distúrbios no metabolismo vegetal, afetando a absorção de água e restringindo a assimilação fotossintética de dióxido de carbono (CO₂), o que resulta em diminuição no crescimento e perda de produtividade. No entanto, estes efeitos são resultados combinados de uma interação complexa entre diferentes processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos que podem agir de diversas maneiras.

Em situações de estresse, as plantas são capazes de desenvolver mecanismos de tolerância que incluem alterações fisiológicas. Além disso, em nível celular, situações de estresse como a salinidade, pode induzir a produção de espécies reativas de oxigênio que degradam as membranas celulares. Este dano pode ser mensurado pelo nível de peroxidação de lipídeos. Entretanto, existem alguns metabólitos que auxiliam na preservação das estruturas celulares e na funcionalidade de suas membranas. Entre estes, destacam-se a prolina, e as enzimas do sistema antioxidativo como a superóxido dismutase e a catalase que age em conjunto sobre o radical superóxido.

Os diferentes graus de tolerância a estresses ambientais variam com a espécie, variedades, condições ambientais, substrato, manejo da irrigação, etc. Assim, torna-se importante o estudo do comportamento agrônomico e fisiológico das plantas ante ao estresse salino e hídrico nas condições e forma de cultivo habitual destas espécies empregadas por produtores de plantas medicinais e aromáticas. Também é igualmente importante conhecer os efeitos nas plantas e os mecanismos desenvolvidos por elas para amenizar os efeitos estressantes.

Este estudo visa conhecer os efeitos nutricionais, osmóticos e ou salinos, derivado da água de reuso, sobre a resposta ao comportamento bioquímico e fisiológico de *O. basilicum* L., além de conhecer os benefícios da água de reuso na irrigação de plantas com fins medicinais e aromáticas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos da cultura de *Ocimum basilicum* L.

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) pertence à família Lamiaceae, originário do Sudoeste da Ásia e Centro da África (LABRA et al., 2004; MINAMI et al., 2007; PEREIRA; MOREIRA, 2011) comumente conhecido por manjeriço, alfavaca, basilico entre outros. O gênero *Ocimum* compreende em torno de 3.200 espécies (BLANK et al., 2010) sendo considerado um dos maiores gêneros da família Lamiaceae os quais estão distribuídos pela Ásia Tropical, África, América Central, América do Sul e Europa (SOBOTI; POUHPANGADAN, 1982; KHOSLA; SOBOTI, 2000; LABRA et al., 2004).

Estudos mostram que há um grande número de espécies e variedades importantes do gênero de *Ocimum* que são conhecidos por terem várias propriedades medicinais que são: *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum gratissimum* L., *Ocimum americanum* L., *O. basilicum* L. entre outros (LABRA et al., 2004; BLANK et al., 2010; PADALIA; VERMA, 2011). Entre as várias espécies do gênero de manjeriço, *O. basilicum* L. é considerado o mais importante devido à produção do óleo essencial aromático.

O. basilicum L. (Figura 1) é uma planta herbácea, subarbusto aromático com altura entre 30 cm a 1,00 m, caule lenhoso ou sublenhoso, muito ramificado com flores as quais dependendo da variedade são de coloração branca, rósea ou lilás, reunidas em racemos terminais curtos, com comprimento em média de 1,0 cm, apresentando de 6 a 100 flores na inflorescência. Suas folhas são simples, membranáceas,

com margens onduladas e nervuras salientes de 4 cm a 7 cm, de cor verde a verde clara, com cheiro forte e ardente, podendo apresentar grande variação na forma das folhas e tamanho das plantas. O fruto é um tetraquênio, com sementes pequenas da cor preta azulada. A raiz primária é de forma delgada, hialina e fina (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 1998; ALMEIDA, 2006; MINAMI et al., 2007; PEREIRA; MOREIRA, 2011).



Figura 1. *Ocimum basilicum* L. cv. Genovese

2.1.1 Crescimento e desenvolvimento de *O. basilicum* L.

Segundo Minami et al. (2007) as plantas da cultura do manjericão, adapta-se bem em condições amenas para quentes e úmidas, não tolerando temperaturas frias ou geada. Para *O.basilicum* L. o local de cultivo pode caracterizar em uma planta perene ou anual, com fotoperíodo de dias longos (PEREIRA; MOREIRA, 2011; JOSE, 2014).

A diversidade de ecossistemas e tipos de solo e clima do Brasil, possibilitaram a adaptação de muitas plantas do gênero de *Ocimum*. Esta diversificação edafoclimáticas poderia interferir no desenvolvimento de espécies nativas ou introduzidas.

Carvalho et al. (2010) descreve que os fatores do ambiente que mais afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas são o fotoperíodo, a irradiação luminosa e a temperatura. E os tratos culturais que mais afetam são a nutrição e a irrigação.

Apesar do manjeriço ser cultivado em diferentes condições climáticas, regiões com climas quentes favorecem o crescimento podendo ser cultivado o ano todo (PEREIRA; MOREIRA, 2011). Nestas regiões, a irrigação torna-se necessária de forma contínua, uma vez que, o manjeriço é intolerante ao estresse hídrico e a necessidade hídrica da cultura pode variar dependendo do período de crescimento, ciclo fenológico, clima, solo, variedade e manejo (JOSÉ, 2014).

Outro fator que requer atenção no cultivo do manjeriço, são os níveis de irradiação solar. Segundo Chang et al. (2008) a alta irradiância pode afetar de forma direta ou indireta na atividade enzimática, fotossíntese e nos processos fisiológicos das plantas. Os mesmos autores avaliaram diferentes níveis de irradiação solar no crescimento e produção de óleo essencial em plantas cultivadas de *O.basilicum* L. e descreveram que o sombreamento de 75% implicou em menores valores de altura, peso, área foliar e redução da fotossíntese. Em pleno sol, observaram um aumento nos teores relativos de alguns compostos do óleo essencial (linalol e eugenol), enquanto metil-eugenol aumentou sob baixa irradiância.

Além dos aspectos citados acima é importante para o cultivo do manjeriço a adoção de técnicas que possibilitem incrementar a matéria orgânica no solo, a qual exerce efeitos benéficos nas características físicas, química e biológicas solo, estimulando o desenvolvimento radicular, contribuindo para a capacidade de retenção de água, além de servir como fonte de reserva nutricional de macro e micronutrientes para o equilíbrio nutricional das plantas (WALTERS; BINGHAM, 2007; CARVALHO et al., 2010) . Leite et al. (2005) e Carvalho (2012), sugerem que o cultivo de plantas medicinais seja realizado com fertilizantes orgânicos, para que a planta consiga atingir os valores de princípios ativos esperados.

Na agricultura, a adição de nutrientes, particularmente nitrogênio, é geralmente aplicada para aumentar a produção de biomassa. Segundo Neto e Lopes (2007) os nutrientes afetam não somente o metabolismo primário, mas também influenciam a produção de diferentes metabólitos secundários. Ramos et al. (2004), relata que a adubação orgânica pode contribuir para a maior produção de biomassa e de metabólitos secundários. Alguns autores como Furlan (2000), Chaves (2001) e Silva et al., (2001) em trabalhos com

O.basilicum L. descrevem que a aplicação de nitrogênio aumenta proporcionalmente o rendimento de biomassa, embora este efeito não se correlacione bem com o rendimento do óleo essencial.

No Brasil, o manejo da cultura é conduzido de forma pouco padronizada, podendo afetar a produção de biomassa, qualidade e quantidade do óleo essencial (FURLAN, 2000). Chaves (2001), salienta que grande parte da produção de plantas medicinais no Brasil, não é tecnificada e sim coletada por extrativismo.

2.1.2 Óleo essencial de *O. basilicum* L.

Os óleos essenciais são compostos aromáticos, voláteis, que conferem o aroma nas plantas, na maioria das vezes constituída por moléculas de natureza terpênica, formados principalmente por monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15), comumente encontrado em folhas e flores e produzido em cavidades especializadas denominados canais secretores ou tricomas glandulares (BRASIL, 2006; MORAIS, 2006). Sua concentração pode variar em diferentes órgãos da planta em relação aos fatores como solo, clima, período do dia e épocas do ano e tipo de adubação, podendo apresentar composição química, odor e características físico-químicas significativamente diferentes (SIMÕES; SPITZER, 2004).

Diversas espécies aromáticas e medicinais, especialmente a do gênero *Ocimum*, possuem importância econômica na obtenção de óleo essencial, podendo ser consumido in natura ou como matéria prima, sendo esta a mais importante na indústria de fragrâncias e aromas (PRINS et al., 2010; PEREIRA; MOREIRA, 2011). Segundo Prins et al. (2010), as indústrias de aromas e fragrâncias representam um mercado de US\$ 18 bilhões anualmente com aumento de 10% no comércio internacional de óleo essencial.

Dentre os cultivares de maior aplicação nas indústrias, encontra-se *O.basilicum* L. cv. Genovese, conhecido como manjerição-italiano de folha larga. Uma das características mais valorizadas dessa espécie é produção do óleo essencial, utilizado amplamente na perfumaria, cosméticos, indústrias farmacêuticas devido a sua ação terapêutica, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, inseticida e repelente (LABRA et al., 2004; POLITEO et al., 2007; COSTA et al., 2009; PRINS et al., 2010; TARCHOUNE et al., 2012 a; AOYAMA et al., 2012). Vários estudos demonstram a ação antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de *O.basilicum* L. (LEE et al., 2005; HUSSAIN et al., 2008; POLITEO et al., 2007). Costa et al. (2009) relata que o óleo essencial de *O. basilicum* L.

foi eficaz na inibição do crescimento da bactéria *Erwinia carotovora* em sua concentração inibitória mínima no nível de 2%.

O óleo essencial de *O.basilicum* L. apresenta diversos constituintes de interesse comercial que são largamente utilizados pelas indústrias e classificados como: tipo europeu, reunion, cinamato de metila e eugenol. O tipo europeu são obtidos de plantas de *O. basilicum* L. tendo como maiores constituintes linalol e metil-chavicol (MAZUTTI et al., 2006). Os mesmos autores relatam que há variações nos constituintes majoritários de planta de *Ocimum* para outra, pois são produzidos por duas rotas bioquímicas diferentes, sendo a primeira a rota do ácido chiquímico (fenilpropanóides) sendo os constituintes majoritários o metil-chavicol, eugenol, metil-eugenol e cinamato de metila, e a segunda rota a via do ácido mevalônico e metil-eritritol fosfato sendo os constituintes majoritários linalol e geraniol. Há uma grande diversidade em termos quantitativos e qualitativos dos constituintes do óleo essencial de diversas espécies. Vieira et al. (2001) caracterizaram quimicamente diversas espécies de *Ocimum* e encontraram mais de 100 compostos orgânicos.

Na síntese do óleo essencial, muitos fatores imponderáveis podem influenciar na sua produção. Estes fatores podem ser desde a variedade utilizada, condições climáticas, método de plantio até a época da colheita (LAOCHOWICZ et al., 1997; BLANK et al., 2010).

2.2 Água de reuso

2.2.1 Aspecto gerais

A importância da água para os seres vivos é o resultado de suas propriedades físicas e químicas (NOBEL, 1991). A água é um fator limitante para o crescimento e desenvolvimento das plantas, por ser um doador de H⁺, após absorvida é assimilada durante o processo de fotossíntese, outra parte se perde durante a transpiração. Em forma líquida, a água permite a difusão e fluxo de massa de solutos tornando-se essencial para o transporte e distribuição de nutrientes e metabólitos, além disso é importante nos vacúolos das células vegetais exercendo uma pressão no protoplasma e na parede celular, mantendo a turgescência em folhas, raízes e outras partes das plantas (SANCHEZ-DIAZ; AGUIRREOLEA, 1993; TAIZ; ZEIGER, 2013).

O Brasil é um país privilegiado em termos de disponibilidade hídrica, pois em seu território estão localizadas as maiores reservas hídricas do planeta. Entretanto, devido a distâncias de algumas bacias hidrográficas aos centros populacionais, o aproveitamento desse recurso torna-se inviável (MANCUSO; SANTOS, 2003).

O uso eficiente da água é um tema de grande importância para as necessidades sociais, econômicas e do meio ambiente. Devido ao crescimento populacional em áreas de pouca disponibilidade hídrica, as contaminações, a má distribuição, a falta de gestão dos recursos hídricos, regiões que apresentam períodos climáticos extremamente secos, a água tornou-se um fator limitante, especialmente em regiões de áridas e semiáridas do nordeste brasileiro (DELGADO-DÍAZ, 2003; BRESSAN et al., 2012; PEDRERO et al., 2012). Devido a esses fatores, a preocupação com a qualidade da água para o abastecimento, os conceitos de conservação ambiental com o desenvolvimento sustentável, nos faz pensar em soluções alternativas para o uso racional e eficiente da água (MANCUSO; SANTOS, 2003; IFC, 2012; HESPANHOL, 2015).

2.2.3 Utilização da água de reuso para irrigação

Uma das alternativas para amenizar a escassez da água seria a utilização da água de reuso tratada para fins agrícolas. Do ponto de vista ambiental, a utilização da água de reuso de origem industrial e doméstica pode ser uma boa estratégia de gestão para suprir as necessidades hídricas e nutricionais das plantas (CAPRA; SCICOLONE, 2004; RODRÍGUEZ et al., 2005).

De acordo com WHO (1989) e Mancuso e Santos (2003), a água de reuso apresenta benefícios econômicos para fins agrícolas como a minimização das descargas de esgoto em corpos de água, alto poder fertilizante do efluente, permite a conservação do solo, aumenta a concentração de matéria orgânica entre outros. Porém, como desvantagens apresenta concentrações elevadas de nitrogênio e elementos potencialmente tóxicos as plantas, além de apresentar riscos de contaminação ao homem e aos produtos irrigados por microrganismos patogênicos

Apesar das estações de tratamento de esgoto – ETE reduzirem o número de microrganismos de origem fecal até os níveis de segurança do ponto de vista do contato humano, a utilização da água de reuso não está isenta de riscos de transmissão de doenças. Westcot (1997), destaca que sua utilização pode acarretar em doenças

transmissíveis aos seres humanos uma vez que os patógenos presente nesta água são capazes de sobreviver no sistema solo-planta.

No entanto, diversos processos efetivos e confiáveis de desinfecção de esgoto são utilizados para remoção de microrganismos patogênicos. Segundo Bressan et al. (2012), o processo de ozonização é um dos métodos artificiais químicos mais efetivos na destruição de bactérias. Porém, este processo apresenta algumas desvantagens por ser uma tecnologia mais complexa do que ao processo de cloração comumente utilizados nas ETE.

Diversos fatores agrônômicos podem controlar a transmissão de doenças, como por exemplo: o crescimento da planta, método de irrigação empregado, práticas culturais e de colheita adequadas (FIRME, 2007; CARVALHO et al., 2013).

A escolha do método adequado de irrigação das culturas deve ser também considerada, visando minimizar os riscos à saúde humana, bem como o processo de salinização de solos irrigados com esgoto (HESPANHOL, 2001). O mesmo autor relata que o método de irrigação por gotejamento é o mais indicado para a utilização da água de reuso, pois apresenta custo mais elevado e alta eficiência do uso da água que contribui para o aumento da produtividade agrícola, embora Dasberg e Bresler (1985) afirmam que a irrigação com água de reuso por gotejamento não forma aerossóis durante o momento da irrigação, isso ajuda a reduzir os riscos de contaminação microbiológica para as plantas, uma vez que, a irrigação localizada evita o contato entre a água e as folhas e frutos. Além disso, Feachem et al. (1983) ressaltam que os agentes microbiológicos como os vírus e as bactérias, não penetram no tecido vegetal exceto se o mesmo se encontrar danificado.

Marouelli e Silva (1998) explicam que a água contaminada pode ser utilizada para fins de irrigação dentro dos níveis moderados, do tipo de cultura e do sistema de irrigação utilizado. Os mesmos autores ainda salientam que as hortaliças consumidas cruas como brócolis, couve-flor e as folhosas como alface e chicória, com folhas sobrepostas e superfície irregular são as que mais favorecem à retenção e sobrevivência de microrganismos nelas depositadas pela água de irrigação.

Não obstante, a água de reuso quando empregada num sistema fechado de irrigação pode ser utilizada para a produção de hortaliças, frutas, plantas medicinais e outros tipos de alimentos por apresentar boa quantidade de nutrientes (CAMARA, 2012) além de reduzir os riscos de contaminação.

Estudos de Brega Filho e Mancuso (2002) indicam que a utilização da água de reuso no âmbito agrícola, pode reduzir a necessidade do uso de fertilizantes, devido a qualidade desta água apresentar função nutricional pela fertirrigação de muitas culturas.

Guidolin (2000), cita que a maioria das águas de reuso tratadas são ricas em elementos minerais essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas, destacando-se os macronutrientes (N, P e K) e os elementos potencialmente tóxicos, como As, Cd, Cr, Hg, Mo, Ni, Pb, Se e Zn, sendo que alguns destes são essenciais ao crescimento e outros potencialmente tóxicos.

Fonseca (2005) afirma, que a água de reuso além de substituir parcialmente a fertilização nitrogenada mineral, pode acarretar no aumento da produção das culturas. Porém, dependendo das características do esgoto (doméstico ou industrial), quando a prática de irrigação é utilizada por longos períodos, pode ocorrer um acúmulo de compostos tóxicos, orgânicos e inorgânicos e até mesmo no aumento da salinidade do solo (HESPANHOL, 2001). Em geral, alguns autores afirmam que para evitar essa possibilidade, a irrigação deve ser efetuada com esgoto de origem predominantemente doméstica que geralmente apresenta teores de metais pesados e de compostos orgânicos abaixo daqueles considerados fitotóxico (MANCUSO; SANTOS, 2003; BAÑON et al., 2011).

2.3 Respostas fisiológicas e bioquímicas ao estresse salino

2.3.1 Efeitos gerais da salinidade sobre as plantas

Os efeitos dos sais nas plantas, são resultado de uma interação complexa entre os diferentes processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (CAVALCANTI et al., 2010; FLOWERS et al., 2010).

O excesso de sais presentes no solo ou na água utilizada para irrigação, pode acarretar em mudanças no desenvolvimento da planta. Prisco e Gomes Filho (2010) afirmam que estas mudanças ocorrem em uma escala temporal alterando inicialmente a absorção de água e nutrientes pelas raízes. Os mesmos autores ainda afirmam, que estas alterações refletem no balanço hídrico e nutricional das plantas, provocando mudanças no metabolismo, no balanço hormonal, nas trocas gasosas e na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Todas essas mudanças comprometem a

expansão e divisão das células, o crescimento vegetativo e reprodutivo e a aceleração da senescência foliar que posteriormente resulta na morte da planta (MUNNS, 2002; MUNNS; TESTER, 2008; PRISCO; GOMES FILHO, 2010).

O excesso de sais na água ou no solo, pode afetar o desenvolvimento das plantas de diversas maneiras: efeito osmótico: quando a salinidade altera o balanço hídrico ocasionando a diminuição do potencial hídrico da planta, que, eventualmente, levará à redução na taxa de fotossíntese e crescimento (PRISCO, 1980; BRITO et al., 2010); efeito iônico específico: denomina-se quando as concentrações salinas são superiores a suportada pelas plantas; efeito tóxico: que se desenvolve ao longo do tempo causando o desbalanceamento nutritivo pela absorção ou acúmulo de alguns íons na solução do solo como Cl^- , Na^+ e B podendo provocar danos tóxicos nas plantas (SYERTSEN; SANCHEZ, 2014) e efeito nutricional: ocorre quando alguns íons que são dissolvidos na solução do solo afetam a absorção o transporte de nutrientes essenciais para a sobrevivência das plantas, por exemplo o Cl^- pode diminuir a absorção de NO_3^- e Na^+ , da mesma forma, o K^+ prejudicando a absorção de Ca^{2+} (PRISCO; GOMES FILHO, 2010; MOTOS, 2014).

Juntamente com esses estes efeitos, tem sido relatado que a salinidade pode produzir um estresse oxidativo nas plantas causando a produção da ERO (ESTEVEZ; SUZUKI, 2008).

Para se adaptar em situações de estresse, as plantas são capazes de desenvolver mecanismos de tolerância que podem variar com o genótipo (CHAVES et al., 2002; SHVALEVA et al., 2006). Estes mecanismos incluem alterações morfológicas, fisiológicas e algumas características estruturais e fisiológicas, tais como profundidade do sistema radicular (VOLLAIRE et al., 1998), controle sobre a transpiração e inibição no crescimento (CHAVES et al., 2003). Além disso, em nível celular, a seca prolongada pode induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (BROETTO et al., 2002) com efeito devastador para o sistema de membranas celulares. Durante o processo de falta de água nos tecidos, alguns metabólitos podem auxiliar as células na preservação da integridade estrutural e funcional de suas membranas. Entre estes, destacam-se a prolina, glicina betaína e alguns açúcares (SMIRNOFF, 1998).

A nível de atividade fotossintética, muitos autores enfatizam os efeitos da deficiência hídrica e estresse salino sobre diferentes parâmetros fisiológicos (HERMS; MATTSON, 1992; KRAMER; BOYER, 1995; LARCHER, 1995). Para estes

autores, o estresse progressivo a nível moderado ou severo afeta a capacidade fotossintética das plantas. A consequência mais imediata seria a interrupção do suprimento de CO₂ com prejuízo no acúmulo de matéria seca, vital para o desenvolvimento vegetativo.

No estabelecimento do estresse, a eficiência fotossintética pode eventualmente aumentar porque o fechamento parcial dos estômatos afeta mais a transpiração do que a absorção do CO₂. No entanto, à medida que o estresse se torna mais severo a relação entre CO₂ absorvido na fotossíntese e o vapor de água perdido na transpiração vai diminuindo e por consequência, a inibição do metabolismo da folha vai se acentuando (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Segundo Rey et al. (1999), em condições de estresse salino, ocorre redução na assimilação fotossintética de CO₂ devido ao aumento da resistência à difusão do mesmo, em consequência do fechamento estomático. A deficiência hídrica (DH) severa, por outro lado, favorece a formação de ERO, que danificam as plantas oxidando pigmentos fotossintéticos, lipídeos de membrana, proteínas e ácidos nucléicos. Decréscimos nos teores de clorofila ou proteína podem, portanto, ser sintomas característicos de estresse oxidativo e tem sido verificado em plantas sob DH (SMIRNOFF, 1995).

Ejert e Tevini (2002) não verificaram alteração significativa nos teores de clorofila, proteínas e compostos antioxidantes quando plantas de *Allium schoenoprosom* foram submetidas a estresse salino, o que segundo os autores, indica ausência de estresse oxidativo.

Carvalho (2003), estudando a relação entre a disponibilidade de água no solo em função do crescimento de Artemísia, afirma que a concentração de clorofila (SPAD) tende a diminuir quando as plantas são submetidas à DH, indicando início da senescência foliar.

Os diferentes graus de tolerância a estresses ambientais variam com a espécie, variedades, condições ambientais, substrato, manejo da irrigação, etc. Assim, torna-se importante o estudo do comportamento agrônômico e fisiológico das plantas ante ao estresse salino e hídrico nas condições e forma de cultivo habitual destas espécies empregadas por produtores de plantas medicinais. Também é igualmente importante conhecer os efeitos nas plantas e os mecanismos desenvolvidos por elas para amenizar os efeitos estressantes.

2.3.2 Tolerância a salinidade pelas plantas

Como forma de sobreviver a condições ambientais com altas concentrações de sais solúveis, as plantas desenvolveram mecanismo de tolerância a salinidade (ESTEVES; SUZUKI, 2008; PRISCO; GOMES FILHO, 2010). A tolerância ao estresse salino, requer uma série de adaptações integradas envolvendo sistemas celulares e metabólicos (HASEGAWA, 2013). Como já relatado, o excesso de sais presentes no solo ou na água utilizada para irrigação, pode acarretar em mudanças no desenvolvimento da planta. Segundo Flowers et al. (2010) em altas concentrações salinas, as plantas são capazes de se adaptar através da redução do potencial osmótico dos tecidos. Porém, em espécies menos tolerantes, o crescimento é afetado em função do acúmulo de alguns íons que causam efeitos tóxicos nas plantas (LEVITT, 1980).

Como forma de se adaptar à salinidade, as plantas ativam mecanismos múltiplos, tais como o aumento da capacidade de obter e/ou reter água visando restaurar a homeostase iônica (REJILI et al., 2007). Estes mecanismos de enfrentamento refletem na redução do crescimento (MUNNS; TESTER, 2008), nas mudanças da parte aérea/raiz (TATTINI et al., 2006) e na restrição da expansão foliar (CRAMER, 2002). Esses mecanismos são consequência de alterações metabólicas e alterações fisiológicas da permeabilidade das membrana aos íons e água (SKERRETT; TYERMAN, 1994) além do fechamento dos estômatos, redução da transpiração e fotossíntese, etc.

Esta resposta adaptativa é controlada por sinais moleculares que regulam a relação com o ambiente externo, tais como mudanças na atividade dos canais de membrana e transportadores (MUNNS; TESTER, 2008) e a ativação e transcrição de genes cujos efeitos são a modificação das vias biosintéticas que resultam em um ajustamento osmótico e proteção das estruturas celulares (REJILI et al., 2007).

Em geral, as respostas ao estresse ambiental são complexas porque esses processos afetam de diversas formas em diferentes partes da planta (BRAY, 1997). Assim, todos os processos fisiológicos das plantas podem variar em uma situação estressante, embora apenas algumas dessas mudanças conferem resistência à planta (ALEGRE, 2000; HSIAO et al., 1976). Assim, os avanços das pesquisas neste campo sugerem que as respostas ou adaptações específicas a um determinado tipo de estresse representam uma porcentagem pequena em relação ao grande número de respostas comuns

a vários deles. Considere-se que, em condições naturais, as plantas estão sujeitas a estresses múltiplos, embora os efeitos desses fatores diversos não tendam a ser aditivos (SANCHEZ-DIAZ; AGUIRREDEA, 1991; AZCÓN-BIETO, 1987; CHAPIN et al., 1987).

Quando os fatores estressantes são impostos às plantas, estas tendem a desenvolver reações que podem ser caracterizadas por quatro fases: alarme, resistência, exaustão (LARCHER, 1995) e regeneração segundo Lichtenthaler (1998). Na primeira fase chamada de alarme, ocorre desvios de função fisiológica normal como o desempenho fotossintético, uma diminuição da vitalidade, onde os processos catabólicos predominam sobre os anabólicos, ocasionando um rápido estresse em plantas que possuem mecanismos limitados de tolerância ao estresse.

O estresse desencadeia uma série de eventos em plantas que começam com a percepção seguida pela transdução do sinal. Em uma segunda fase chamada resistência, as alterações ocorrem em nível molecular, celular, fisiológica e de desenvolvimento, permitindo um estágio de resistência ou de resposta (fase de retorno), na qual o organismo se adapta ao fator de estresse começando com processos de reparo que induz as plantas a estabelecer novos padrões fisiológicos sob novas condições ambientais (NIKNAM; MCCOMB, 2000). Porém, se o agente estressor aumentar ou permanecer por um longo período ou até mesmo quando ocorrer uma sobrecarga dos mecanismos para suportar o estresse, pode-se esperar o estabelecimento de um estado de estresse excessivo que ocorre na terceira fase chamada de exaustão, que provoca danos crônicos e conseqüentemente a morte da planta (SALISBURY; ROSS, 1994). No entanto, quando os fatores de estresses são removidos antes do processo de senescência, as plantas se regeneram promovendo novos estados fisiológicos, esta última fase é chamada de regeneração que foi acrescentada as fases anteriores por Lichtenthaler (1998).

Em geral, as respostas dadas pelas plantas, dependem da severidade e duração do estresse, do genótipo, do estágio de desenvolvimento e sua interação com fatores ambientais. Essa complexidade de fatores faz com que seja difícil de prever quais são as respostas das plantas que podem aumentar a resistência (ALEGRE, 2000) e quais as técnicas alternativas de manejo que possam ser utilizadas para amenizar os efeitos prejudiciais dos sais.

2.3.3 Estresse oxidativo decorrente do estresse salino

Nos últimos anos, compreender o papel da adaptação das plantas em diversos ambientes, tem despertado interesse da pesquisa sobre o metabolismo primário e secundário e suas alterações nas concentrações de metabólitos secundários (DEY; HARBORNE, 2000).

A adaptação das plantas em novos ambientes, exige um equilíbrio homeostático celular. Esse equilíbrio, no entanto, pode oscilar quando a célula ou a planta é perturbada pela salinidade que promove a diminuição do potencial hídrico (MILLER et al., 2010). Os mesmos autores ainda relatam que em condições próximas do crescimento ótimo, as espécies reativas de oxigênio (ERO) e antioxidantes são produzidas em baixo nível em organelas, como os cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos, porém, em situações de estresse o seu nível é elevado drasticamente, pois nessas condições a planta não produz antioxidantes suficientes para neutralizar os efeitos deletérios desses oxidantes (PRISCO; FILHO, 2010). Uma das consequências do estresse salino, é a excessiva produção ERO (ESTEVES; SUZUKI, 2008).

Os agentes oxidantes são resultantes de uma redução parcial do oxigênio molecular e são conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO), podendo ser na forma de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), radical hidroxila (OH°), ânion superóxido ($\text{O}_2^{\circ-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (RESENDE et al., 2003; SCANDALIOS, 2005).

As plantas exibem várias respostas bioquímicas para proteção contra agentes oxidantes produzidos durante o metabolismo ou induzidos quando as plantas são submetidas a condições ambientais adversas. Porém, em condições normais, as plantas possuem mecanismos que mantêm as ERO em níveis reduzidos (SCANDALIOS, 2005).

Durante a fotossíntese, as concentrações internas de oxigênio são mais elevadas, por isso neste processo metabólico é que ocorre a maior produção de ERO nas células vegetais (MILLER et al., 2010).

As ERO provocam danos celulares, quebra na cadeia do DNA e oxidação de lipídios e proteínas (ARGUIRRE et al., 2005) podendo levar as células a morte. Este processo de oxidação ocorre principalmente em membranas alterando de forma imediata a permeabilidade seletiva e o efluxo de íons (ALSCHER et al. 1997).

Dependendo da espécie, as plantas podem apresentar um sistema efetivo para controlar a ação deletéria destes radicais.

Além de serem consideradas moléculas tóxicas (MITTLER, 2002), as ERO podem agir como moléculas sinalizadoras que ativam múltiplas respostas de defesa (SOARES; MACHADO, 2007).

Segundo Jubany-Marí et al. (2009) e Miller et al. (2010), o acúmulo de H_2O_2 está envolvido na reposta de aclimatação das plantas a seca e salinidade, como no fortalecimento celular, sendo necessário para a biossíntese de lignina. Atua, também, como precursor secundário na ativação da hidrolase do ácido benzóico, enzima responsável pela conversão do ácido benzóico em ácido salicílico (RESENDE et al., 2003)

No entanto, quando ocorre a superprodução das espécies reativas de oxigênio como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), para que não ocorra a morte celular, mecanismos antioxidantes são ativados como, por exemplo, a síntese de enzimas antioxidativas, dentre elas a enzima superóxido dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1), a ascorbato peroxidase (APX, E.C. 1.11.1.11), a catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6), peroxidase (POX E.C 1.11.1.7) (MITTLER, 2002; RESENDE et al., 2003; FELIPE et al., 2009; MILLER et al., 2010).

A SOD é uma enzima que catalisa a formação do peróxido de hidrogênio através da dismutação de $O_2^{\bullet-}$ a H_2O_2 e O_2 , (Figura 2) desempenhando um papel importante no sistema de defesa antioxidante (SCANDALIOS, 2005; CATANEO et al., 2005)

A CAT apresenta a função de quebrar o peróxido de hidrogênio gerado nos peroxissomos durante a fotorrespiração, resultando em água e oxigênio estável (Figura 3) (MITTLER, 2002; OZIEMBLOWSKI et al., 2013). Entre as enzimas degradantes de H_2O_2 , é a única que não consome equivalentes redutores da célula e que possui um mecanismo muito eficiente para a remoção do peróxido formado em condição de estresse (SCANDALIOS, 2005).

Oziembowski et al. (2013) descreve que altas concentrações de NaCl promovem a produção de ERO tal como o H_2O_2 , que mesmo em concentrações milimolares de H_2O_2 , os autores evidenciaram um aumento expressivo na atividade da enzima CAT.

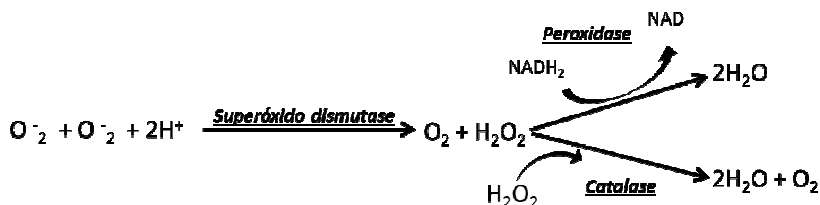


Figura 2. Esquema da ação das enzimas do sistema de resposta antioxidativo

Em várias espécies vegetais observou-se uma superexpressão da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em respostas a diversos fatores estressantes (MISZALSKI et al., 1998; BROETTO et al., 2002; PEIXOTO et al., 2005).

Oziemblowski et al. (2013), em estudos com plantas de *Baccharis trimera*, evidenciou a ativação de enzimas antioxidativas no tratamento com NaCl. Os mesmos autores relatam que o NaCl, poderia ser utilizado no processo de elicitação em plantas que apresentam potencial para a produção de metabólitos secundários que possuem aplicações na área da agricultura e farmacêutica.

A L-prolina é um aminoácido essencial para o metabolismo primário por apresentar uma função de proteção as plantas em condições de estresse. Estudos tem demonstrado o acúmulo de prolina em muitas espécies de plantas em resposta aos diversos tipos de estresse ambiental (BOSE et al., 2014).

Szabados e Savoure (2009) enfatizam que a prolina atua como uma molécula de sinalização na expressão de genes específicos essenciais para a recuperação de plantas em condições de estresse, e que, a hiperacumulação de prolina tem demonstrado efeito benéfico na tolerância a salinidade em diversas espécies halófitas as quais são capazes de absorver o cloreto de sódio (NaCl). Srinivas e Balasubramanian (1995), comenta que além da função de ajuste osmótico, a prolina contribui também para a estabilização das proteínas, das membranas e do equilíbrio redox. Além dessas funções, a prolina apresenta uma característica antioxidante na eliminação de ERO atuando como um inibidor do oxigênio singlete (MATYSIK et al., 2002).

Em síntese, os tecidos vegetais possuem diferentes sistemas de resposta no controle da produção de radicais livres. Devido a sua compartimentalização específica nas células, às enzimas e compostos orgânicos formados em situação de estresse ambiental, respondem de forma específica conforme as reações metabólicas necessárias para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

3.1.1 Local de estudo

A área experimental está situada no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências, pertencente a Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências IB/UNESP, campus de Botucatu, SP, que se encontra a aproximadamente 840 m de altitude, nas coordenadas geográficas 22°52'55" de latitude Sul e 48°26'22" de longitude Oeste.

3.1.2 Clima

O clima da região de Botucatu segundo o método de Koppen é classificado como clima temperado quente (mesotérmico) e úmido, com inverno seco e verão chuvoso, apresentando precipitação média anual de 1.428 mm. As maiores precipitações pluviométricas ocorrem entre os meses de dezembro a fevereiro, já a estação seca ocorre entre os meses de junho a agosto. Com relação à temperatura, no mês quente pode ser superior a 22 °C e no mês frio inferior à 17 °C, sendo que a média anual para a região é de 20,5 °C. A umidade relativa média anual é de 70% a 75%, no inverno a umidade diminui entre 20% e 30%, podendo chegar a valores menores que 15% (CUNHA; MARTINS, 2009).

3.2 Produção do material vegetal e condições experimentais

Foram utilizadas sementes de *O. basilicum* L. (cv. Genovese) popularmente conhecida como Manjerição da folha larga (Figura 3A), adquiridas na Empresa ISLA-Poá/RS. A semeadura foi realizada em ambiente protegido na Fazenda Experimental Lageado em São Manuel, pertencente a FCA/UNESP, cultivada em bandejas alveoladas em poliestireno expandido (EPS) de 104 alveolos com dimensões de 43,5 x 70 x 7,5 cm e dimensões por alveolo de 4,5 x 4,5 cm.

O substrato comercial utilizado para a produção do material vegetal foi Carolina, com condutividade elétrica (CE) de 1,5 dS m, suplementado com palha de arroz queimado. As plantas permaneceram em bandejas até a emissão do primeiro par de folha verdadeira. Este período teve duração de 25 dias contados a partir da data de emergência até o transplantio (Figura 3B).

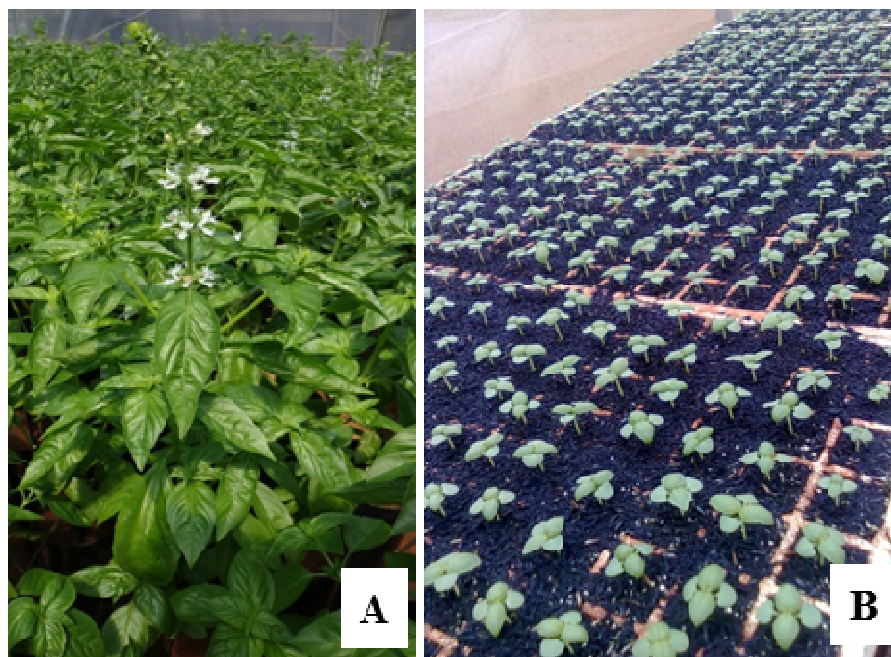


Figura 3. (A) Plantas de *Ocimum basilicum* L. cv. Genovese e (B) produção de mudas de manjerição utilizadas no experimento

O transplantio das mudas para os vasos, foi realizado no IB/UNESP em uma estufa agrícola com área de 59,4 m², e altura de 3m. As mudas foram transferidas para vasos plásticos modelo *Citruspot*, com dimensões de 14 x 35,5 x 10,2 cm e volume aproximadamente de 5 L, contendo substrato constituído por Latossolo Vermelho

Escuro Distrófico, textura média (Led) (Figura 4), segundo a classificação feita por Carvalho et al. (1983)



Figura 4. (A e B) Detalhes do experimento na estufa

3.3 Análise e condicionamento do Solo

3.3.1 Característica química do solo

O solo utilizado nos vasos como substrato para as plantas, foi proveniente da Fazenda Experimental Lageado, *Gleba Patrulha*. A caracterização química do solo foi realizada mediante a análise de amostras compostas coletadas na camada de 0 - 0,20 m de profundidade. Posteriormente, as amostras de solo foram encaminhadas para o Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP – Botucatu, SP para a realização das análises químicas.

Com base nos resultados (Tabela 1), calculou-se a necessidade de calcário dolomítico para a correção do solo, conforme a recomendação de adubação (RAIJ et al., 2001).

Tabela 1. Análise de solo latossolo vermelho distrófico, textura média (Led) – série Gleba Patrulha, antes da correção e fertilização

pH	M.O	P(resina)	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn	S
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----mmolc dm ⁻³ -----						%	------(mg dm ³)-----						
4,0	15,0	2,0	10	56	0,5	1,0	1,0	2,5	58,0	4	0,27	0,8	26,0	0,8	0,1	14

Condutividade elétrica: 105,5 μ S cm

Para elevar a saturação de bases a V% a 80, foi aplicado calcário dolomítico (12,25 g/vaso); fósforo (superfosfato simples 8,0 g/vaso); nitrogênio na forma

de uréia (0,48 g/vaso) e potássio na forma de cloreto de potássio (0,50 g/vaso). Como fonte de micronutrientes, aplicou-se fritas na quantidade de 0,50 g/vaso. Todos esses nutrientes com exceção da uréia e cloreto de potássio foram incorporados ao solo antes do transplântio, sendo que o nitrogênio e o cloreto de potássio, foi parcelado com aplicação de cobertura nas vésperas do transplântio para evitar a salinização do solo e a possibilidade de choque osmótico às plantas. Os vasos que receberam o solo peneirado e corrigido, foram padronizados com 4,200 kg, permanecendo coberto por 60 dias para reação de neutralização.

3.3.2 Curva de retenção de água no solo

Para se determinar a capacidade do solo em reter água, duas amostras do solo coletadas na profundidade de 0,20 m, foram encaminhadas para o Departamento de Engenharia Rural da FCA/UNESP – Botucatu, SP. Para determinar a curva de retenção de água no solo foi realizada pelo método da câmara de pressão de Richards para os pontos 10, 30, 50, 100, 300, 500 e 1500 KPa. O ajuste da curva de retenção de água no solo foi realizado pelo modelo proposto por Van Genuchten (1980), conforme a equação (1). Os parâmetros (θ_r), (n) e (α) foram estimados com base nos dados observados de retenção de água no solo de sete pontos de acordo com a metodologia de Dourado Neto et al. (1995) com auxílio do software SWRC versão 3.0, cujo os parâmetros de ajustes estão descritos na Tabela 2. A curva de retenção de água e os parâmetros estão representados na Figura 5.

Tabela 2. Valores do modelo de Van Genuchten na camada de 0 a 0,20 m

Camada	θ_r	θ_s	α	m	n	Densidade do solo (ρ)
(m)	($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$)	($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$)	(cm^{-1})			(g cm^{-3})
0 - 0,20	0,16	0,453	0,6902	0,2114	2,5968	1,52

$$\theta = \theta_r \frac{\theta_s - \theta_r}{[1 + (\alpha|\psi m|)^n]^m} \quad (1)$$

Em que:

θ (ψm) - umidade volumétrica em função do potencial mátrico, $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$;

θ_r - umidade volumétrica residual do solo, em $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$;

θ_s - umidade volumétrica do solo saturado, em $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$;

n e m - parâmetros de regressão da equação, adimensionais;

α - parâmetros com dimensão igual ao inverso da tensão, em KPa^{-1} ; e

ψm - potencial matricial de água no solo, em KPa.

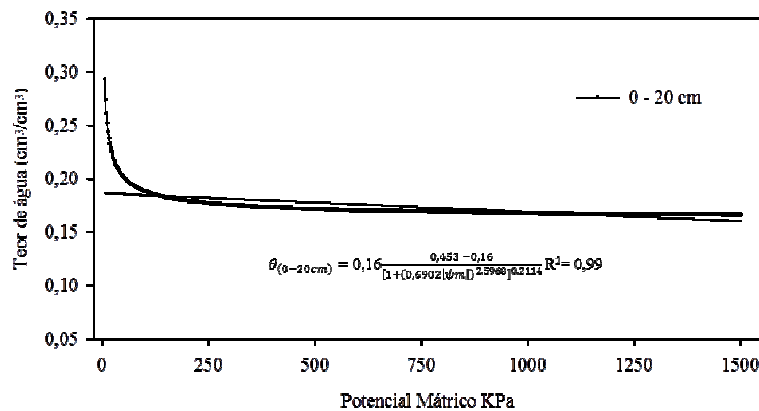


Figura 5. Curva de retenção de água no solo, conforme o modelo de Van Genuchten (1980) solo da gleba patrolha, FCA/UNESP – Botucatu, SP

3.4 Análise e condicionamento da água de reuso

3.4.1 Origem e característica da água de reuso

A água de reuso (efluente final de esgoto tratado) utilizado no experimento era proveniente da estação de tratamento de esgoto – ETE, da cidade de Botucatu, SP operada pela SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo), localizada na Fazenda Experimental Lageado de Botucatu – FCA pertencente à UNESP (Figura 6). Esta estação recebe água residuária e possui um sistema misto de tratamento de esgoto composto por um desarenador, seguido de tanque de equalização,

reator anaeróbico de fluxo ascendente (RAFA/UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket) e decantadores primários e secundários. Após passar pelos sistemas de tratamentos o efluente final é lançado no Rio Ribeirão Lavapés caracterizado na classe IV segundo o Decreto nº 10.755 de 22 de novembro de 1977 que dispõe sobre o enquadramento dos corpos de água receptores na classificação prevista no artigo 7º do Decreto nº 8.468, de 8 de setembro de 1976. O Conselho Estadual dos Recursos Hídricos – CRH, referenda a proposta de alteração da classe de qualidade da água do Ribeirão Lavapés de classe IV para a classe III, conforme estabelecido na Deliberação CRH nº 168, de 9 de dezembro de 2014 encaminhada pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).



Figura 6. Estação de Tratamento de Esgotos – ETE, localizada na Fazenda Experimental Lageado, FCA/UNESP, Campus de Botucatu, SP
Fonte: Google Earth (acesso 27/05/2015)

A água de reuso foi coletada na saída da ETE e transportada com uma carreta tanque, tipo choromera até o Departamento de Química e Bioquímica do IB/UNESP onde foi depositada em um reservatório o qual se encontrava no lado externo da estufa experimental (Figura 8A).

3.4.2 Processo de decantação, filtração e ozonização da água de reuso

Para utilização desta água como tratamento de irrigação nas plantas de *O. basilicum* L., a mesma passou por três processos: decantação, filtração por areia e tratamento final por ozônio (Figura 7 e 8).

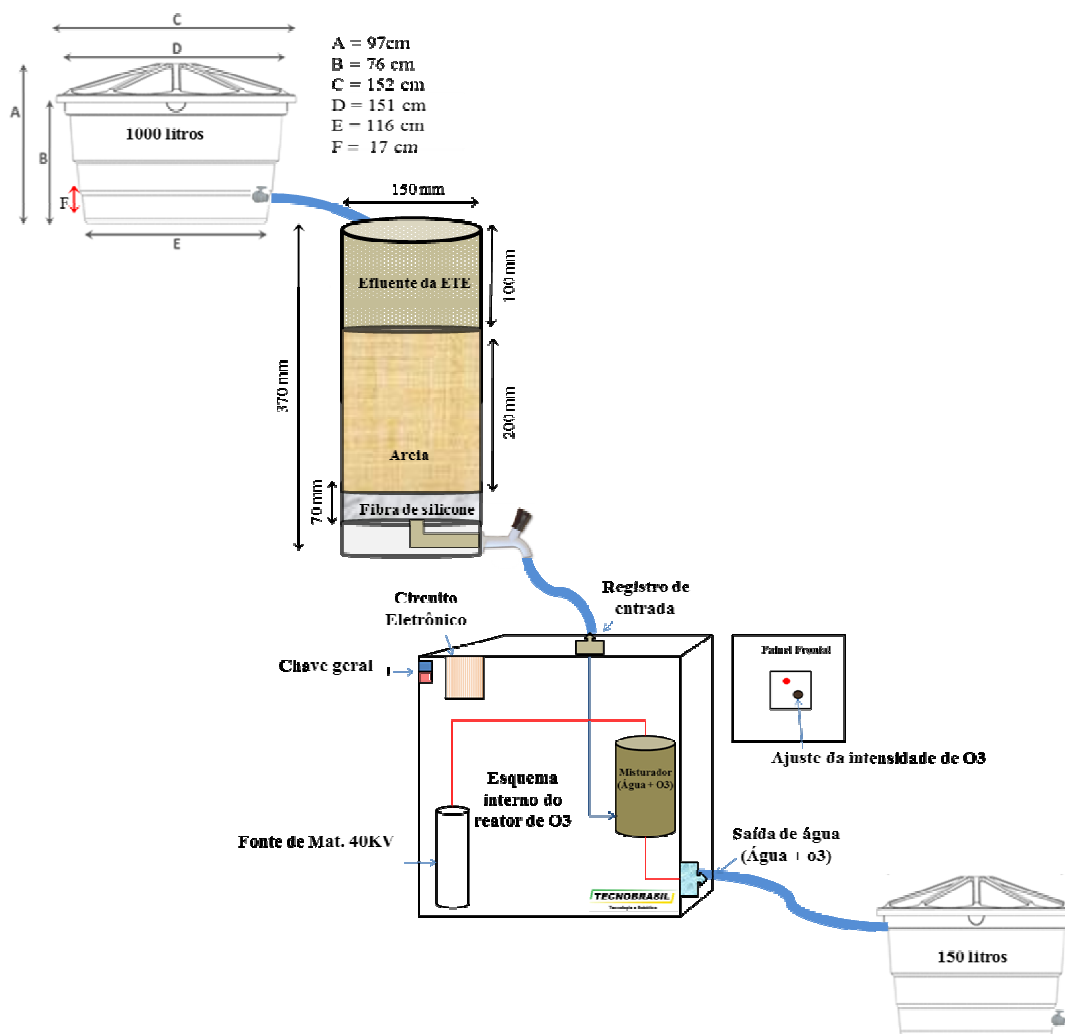


Figura 7. Processos de tratamento da água de reuso utilizada na irrigação do experimento



Figura 8. (A) Reservatório de água de reuso de 1000L e ponto de coleta das amostras; (B) Filtro com areia; (C) Aparelho de ozonização; (D) Montagem do processo de tratamento da água de reuso e (E) Reservatório da água de reuso ozonizada

3.4.2.1 Decantação

Após o abastecimento do reservatório, a água de reuso “Efluente Final da ETE”, permaneceu em repouso por sete dias para a decantação da biomassa formada. O reservatório possuía capacidade de armazenamento da água de 1000 L, sendo a profundidade de decantação até o nível do registro de saída da água de 17 cm (Figura 9). Em seguida, a água de reuso decantada, passou pelo processo de filtração por areia.

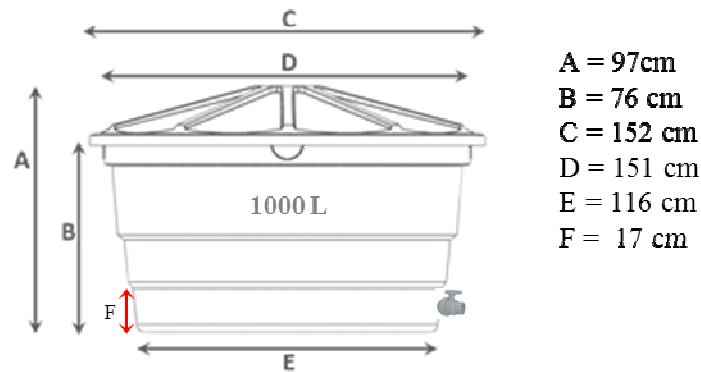


Figura 9. Detalhes do reservatório utilizado para decantação da biomassa presente na água de reuso

3.4.2.2 Filtragem

A utilização do processo de filtragem por areia de acordo com o trabalho realizado por Gobi (2010), teve como objetivo a remoção dos possíveis ovos de helmintos remanescentes, uma vez que, os processos convencionais de tratamento de esgoto, não alcançam os valores na remoção total recomendados pela Organização Mundial da Saúde - OMS (WHO, 2006).

Para compor o sistema de filtragem, amostras de areia foram encaminhadas ao Laboratório de Física do Solo da FCA/UNESP para a classificação granulométrica. Para o cálculo do coeficiente de desuniformidade, utilizou-se a equação 2, em que D60 corresponde ao tamanho da partícula passante em 60% da massa da areia, e D10 a 10%.

$$C = \frac{D60}{D10} \quad (2)$$

Os resultados apresentados na (Figura 10), mostra o percentual de massa acumulada passante, em função do tamanho da partícula de areia. De acordo com os resultados, o diâmetro correspondente à 10% do material passante (D10) é de 0,11mm e do (D60) é de 0,25mm. Isso resulta em um coeficiente de desuniformidade de 2,27%.

Amostra	Diâmetro das peneiras (mm)						
	2,0	1,0	0,5	0,25	0,15	0,106	0,053
Areia fina	% de areia que passa pela peneira						
	100,0	99,9	99,0	81,9	28,7	7,5	0,0

Curva de classificação da camada arenosa

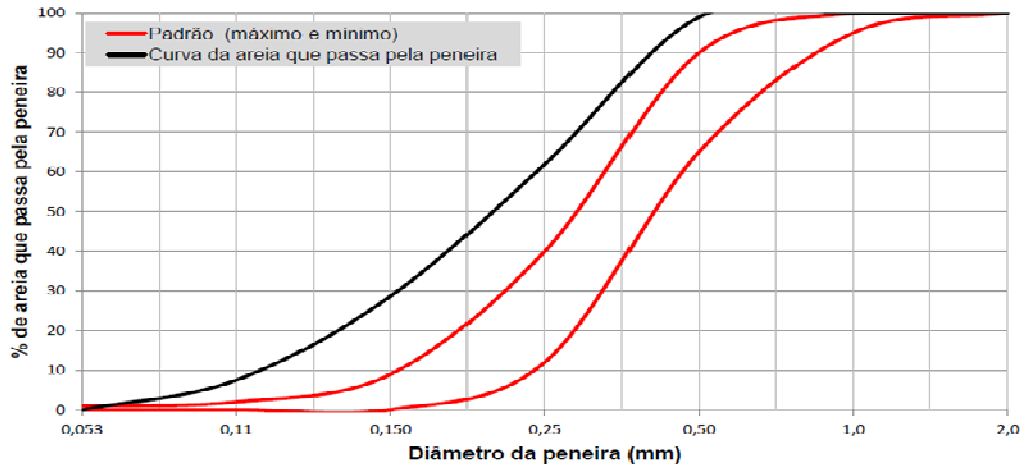


Figura 10. Porcentagem acumulada passante em função do tamanho de partícula de areia

A filtragem da água de reuso foi realizada por gravidade, em um sistema filtrante constituído por um tubo de polipropileno com 370 mm de altura e 150 mm de diâmetro (Figura 8B). O mesmo foi composto internamente por 200 mm de areia lavada em água corrente por 15h e autoclavada e uma camada de 70 mm de fibra de silicone no fundo do tubo a fim de evitar a passagem da areia. A altura da lâmina de água de reuso sobre a areia foi de aproximadamente de 100 mm (Figura 11).

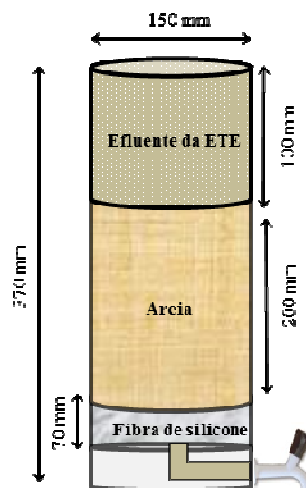


Figura 11. Sistema filtrante da água de reuso

3.4.2.3 Ozonização da água de reuso

Após o processo de filtragem, a água de reuso passou por um tratamento final no reator de ozônio fabricado pela empresa TECNOBRASIL, Botucatu, SP (Figura 12) visando a eliminação da carga microbológica.

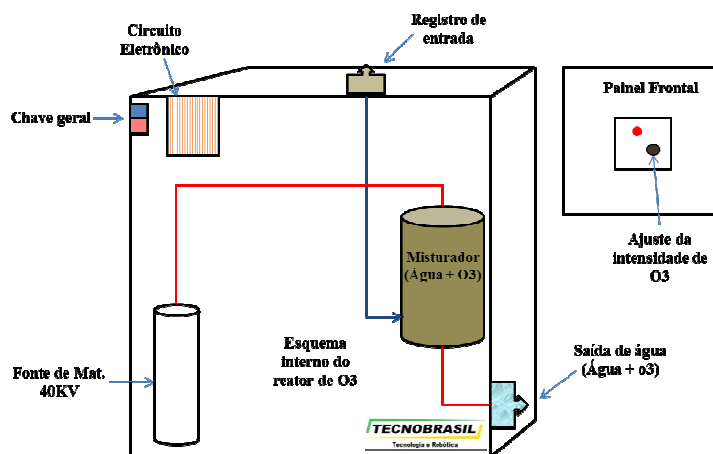


Figura 12. Demonstração interna do aparelho utilizado no processo de ozonização da água de reuso

O aparelho possui ajuste de intensidade de 50% e 100% de liberação de ozônio (O_3). Para determinar qual intensidade de liberação de O_3 a utilizar, foram realizados testes microbiológicos descritos abaixo no item 3.4.4. Os resultados comprovaram que a intensidade de 100% de O_3 liberado, atingiu o nível de carga microbológica inferior ao estabelecido pela Portaria do Ministério da Saúde, N° 2.914 de 12 de dezembro de 2011.

Após a passagem pelo aparelho de ozônio (Figura 8C e 8D), a água de reuso foi armazenada em um reservatório de 150 L (Figura 8E) para utilização como tratamento na irrigação das plantas de *O. basilicum* L.

3.4.3 Análise físico-química da água de reuso

Para a análise dos nutrientes da água de reuso, amostras foram coletadas a partir do *Ponto de coleta* (água captada do efluente final da ETE) (Figura 8A) e após o processo de ozonização, com objetivo de verificar possíveis alterações nutricionais da água.

Para análise de metais pesados foi coletada amostra apenas do ponto de coleta. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para CEAQUIM no Departamento de Química e Bioquímica do IB/UNESP para a realização das análises Físico- Química de acordo com o *Standard Method* e para as análises de metais pesados encaminhadas para o Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP. Os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Resultado da análise de nutrientes da água de reuso *Efluente Final da ETE* (0% de O₃) e após o processo de ozonização na intensidade de 100% de liberação de O₃

Parâmetros	Resultados		Unidades
	0% de O ₃	100% de O ₃	
Aspecto	Amarelada	Amarelada	-
Alcalinidade Total	96,1	76,5	mg CaCO ₃ L ⁻¹
Cor	20	15	-
Cálcio	24,9	19,2	mg L ⁻¹
Cloreto	92,6	90,4	mg L ⁻¹
Condutividade elétrica	507	432	µS cm
Carbono Orgânico Total	37,8	30,4	mg L ⁻¹
Dureza Total	76,0	68,0	mg CaCO ₃ L ⁻¹
Dureza de Cálcio	62,0	48,0	mg CaCO ₃ L ⁻¹
Dureza de Magnésio	11,8	16,8	mg CaCO ₃ L ⁻¹
Ferro Total	0,12	0,19	mg L ⁻¹
Fluoreto	0,79	0,77	mg L ⁻¹
Fósforo Total	2,68	3,64	mg L ⁻¹
Magnésio	2,9	4,1	mg L ⁻¹
Nitrato	33,32	36,81	mg L ⁻¹
Nitrito	0,04	4,20	mg L ⁻¹
Nitrogênio Total	12,3	9,5	mg L ⁻¹
pH	7,26	6,65	-
Sulfato	73,4	62,9	mg L ⁻¹
Sólidos total dissolvidos	450	448	mg L ⁻¹
Turbidez	2,04	2,25	NTU

Tabela 4. Resultados da análise de metais pesados da água de reuso *Efluente Final da ETE*

Parâmetros inorgânicos	Valor da amostra	Valor máx. permitido*
	----- $\mu\text{g L}^{-1}$ -----	----- $\mu\text{g L}^{-1}$ -----
As	< 31	500
Ba	< 2	5000
Cd	< 2	200
Pb	< 30	500
Cr	< 3	100
Hg	< 2	10
Mo	< 4	-
Ni	< 5	2000
Se	< 35	300
Cu	20	1000
Zn	260	5000

*Valores máximos permitidos pelo *CONAMA - Resolução n° 430 de 13 maio de 2011*.

3.4.4 Análise microbiológica da água de reuso

As análises microbiológicas das amostras da água de reuso *Efluente Final da ETE* e água de reuso *ozonizada* foram encaminhadas para o Departamento de Micro-Imuno do IB/UNESP, campus de Botucatu, SP.

A qualidade microbiológica da água de reuso utilizada para a irrigação, foi determinada pela contagem do número de coliformes totais e coliformes termotolerantes em amostras com volume de 0,1 L, seguindo a técnica dos Tubos Múltiplos, de acordo com a Portaria do Ministério da Saúde, N° 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Os resultados da análise microbiológica estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultado da análise microbiológica da água de reuso captada do efluente final da ETE e amostras após o processo de ozonização. Técnica utilizada de acordo com a Portaria do Ministério da Saúde, N° 2.914 de 12 de dezembro de 2011

Água de Reúso	Coliformes Totais (NMP/100 mL)	Coliformes Termotolerantes (NMP/100 mL)	*VMP (< 3/100 mL)
A 1	460	460	ausente
AO 2	93	9,1	ausente
AO 3	ausente	ausente	ausente

Nota:

(NMP): Número mais provável.

(*VMP): Valor máximo permitido.

(A 1): Água de reúso captada do ponto de coleta - efluente final da E.T.E (*Sem ozônio*).

(AO 2): Água de reúso ozonizada com 50% da intensidade do ozonizador.

(AO 3): Água de reúso ozonizada com 100% da intensidade do ozonizador.

3.4.5 Contagem de ovos de helmintos na água de reuso

A detecção de ovos de helmintos em amostra da água de reuso, foi realizada no Departamento de Micro-Imuno do IB/UNESP. A contagem dos ovos foi realizada seguindo o método de *Faust* (1938) centrífugo-flutuação em sulfato de zinco. Para esta análise, coletou-se amostras da água de reuso captada no ponto de coleta (Figura 8A) e após o processo de filtração pela areia (Figura 8D).

Este método, é analisado em nível quantitativo, cuja a análise consiste na determinação numérica de ovos de helmintos presentes na alíquota da amostra. A contagem dos ovos foi realizado no dia do abastecimento do reservatório e 10 dias após. Os resultados encontrados nas lâminas observadas foi *Negativo*.

3.5 Irrigação

3.5.1 Sistema de irrigação

O sistema de irrigação foi por gotejamento, constituído por quatro sistemas independentes, sendo um para cada tratamento. Cada sistema foi composto por uma motobomba periférica IDB-35, ¼ CV, utilizada para pressurização do sistema. O mesmo foi composto por linhas de derivação com mangueiras cegas de polietileno (linhas derivadas) com diâmetro de 16mm espaçadas 0,40 m. Cada linha possuía 12 gotejadores PCJ autocompensante espaçados a 0,60 m, com vazão de 8 L h⁻¹ conectado a um manifold

de 4 saídas no qual cada saída era constituída de uma microtubo interligado a um gotejador tipo flecha de 2 L h^{-1} , sendo que cada vaso recebeu um gotejador tipo flecha.

As linhas de derivação foram interligadas a linha principal de PVC, composta por: registros, filtro de disco de 120 mesh e manômetros para a verificação da pressão de serviço regulada a 20 m.c.a (Figura 13).



Figura 13. Sistema de irrigação e distribuição da água para as plantas

3.5.2 Teste de uniformidade do sistema

Todos os sistemas de irrigação foram submetidos ao teste de uniformidade de distribuição de água no sistema, com pressão de serviço de 20 mca. Calculou-se o coeficiente de uniformidade de distribuição (CUD); foi determinado em 99,51 % (equação 3); o que significa uma excelente uniformidade de distribuição segundo Mantovani (2001).

$$CUD = \frac{X_{25}}{X} \cdot 100 \quad (3)$$

Em que:

CUD - coeficiente de uniformidade de distribuição em (%);

X_{25} - média dos 25% menores valores de vazão coletados (L h^{-1});

X - vazão média aplicada (L h^{-1}).

3.5.3 Determinação da lâmina de irrigação

As lâminas de irrigação foram calculadas com base na capacidade de água disponível do solo (CAD), com valor limite para tensão no solo de 30 KPa sendo este valor considerado como ponto crítico para cultura (PC) e a capacidade de campo (CC) de 10 KPa, para a profundidade do sistema radicular (Z) de 150 mm através da equação 4, com turno de irrigação variável seguindo a metodologia de Gomes (2013).

$$CAD = (CC-PC) \times Z \quad (4)$$

Em que:

CAD - capacidade de água disponível (mm);

CC - teor de água volumétrico na capacidade de campo ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$);

PC - teor de água volumétrico atual ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$);

Z - profundidade efetiva do sistema radicular (mm)

O manejo da irrigação visava manter o teor de água no solo a 90 % da capacidade de campo. Para determinação do tempo de irrigação, utilizou-se os valores da CAD representado por lâmina de aplicação conforme a equação 5.

$$Ti = \left(\frac{La \cdot A}{n \cdot q} \right) \cdot 60 \quad (5)$$

Em que:

Ti - tempo de irrigação (minuto);

La - lâmina aplicada (mm);

A - área ocupada por planta ($0,09 \text{ m}^2$);

n - número de emissores por planta (1);

q - vazão do gotejador flecha ($2,0 \text{ L h}^{-1}$).

3.5.4 Monitoramento do solo

Para o monitoramento do teor de água no solo, utilizou-se o método de Tensiometria. Foram instalados quatro tensiômetros em cada tratamento na profundidade de 0,20 m, a uma distância de 0,05 m do caule (Figura 14).

As leituras foram realizadas com um tensímetro digital entre as 8 e as 10 horas da manhã antes da aplicação de lâmina de irrigação.



Figura 14. Monitoramento de água no solo por tensiometria

Os valores das leituras foram convertidos em potencial matricial de água no solo ($-\Psi_m$) na unidade de KPa, seguindo o modelo descrito por Van Genuchten (1980), dispostos na Figura 15.

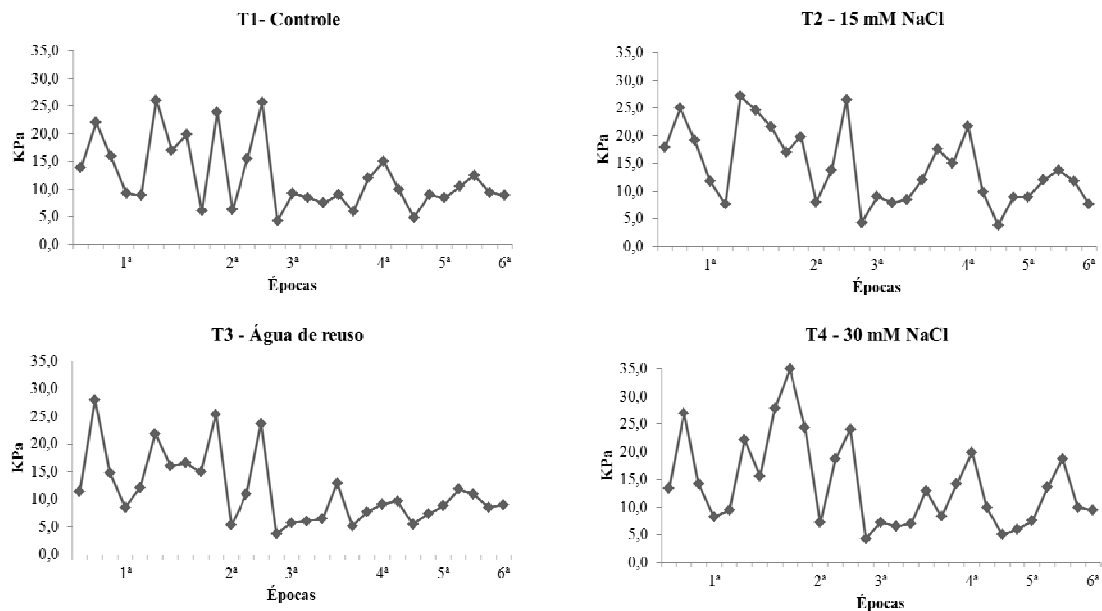


Figura 15. Monitoramento do potencial matricial de água no solo (KPa) em diferentes épocas de amostragem, irrigadas com água de reuso e salina. Cada ponto que compõe as épocas de amostragem representa a média de quatro tensiômetros por tratamento em um dia de leitura.

Os dados coletados foram uteis para manter todos os tratamentos na capacidade de campo a 10 KPa, independentemente do tratamento de irrigação. As tensões foram mantidas entre 10 e 30 KPa. Assim que a tensão no solo ultrapassava o limite de 10 KPa, determinava-se de acordo com a CAD o volume de água a ser aplicado em cada tratamento. O volume total de água aplicada para cada tratamento durante todo o experimento foi de:

T1 = 970,1 litros de água deionizada;

T2 = 1445,8 litros de água deionizada com 15mM de Na Cl;

T3 = 866,7 litros de água de reuso ozonizada e

T4 = 1361,9 litros de água deionizada com 30 mM de NaCl.

3.6 Fatores ambientais na estufa

Para o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar no interior da estufa, foi utilizado um termo higrômetro digital para coleta dos dados. As variações de temperatura máxima e mínima, bem como a umidade relativa foram registradas durante todo o período experimental na estufa, estes dados estão apresentados na Figura 16.

Os dados foram obtidos diariamente o que possibilitou calcular o déficit de pressão de vapor (DPV). A pressão de saturação de vapor da água foi determinada utilizando-se a equação proposta por Tetens (1930), relacionando-se a diferença entre pressão parcial de vapor da água e pressão de saturação de vapor da água no ar, conforme a equação 6.

Em que:

$$e_s = 0,6108 \cdot 10^{\left[\frac{(7,5T)}{(237,5+T)}\right]} \quad (6)$$

e_s = pressão de saturação do vapor de água (KPa)

T = temperatura do ar ambiente (°C)

A partir da umidade relativa do ar, determinou-se a pressão parcial de vapor de água, utilizando-se a equação 7.

$$e_a = \frac{UR \cdot e_s}{100} \quad (7)$$

Em que:

e_a = pressão parcial de vapor de água (KPa)

e_s = pressão de saturação do vapor de água (KPa)

UR = umidade relativa do ar (%)

Utilizando-se a pressão de vapor de saturação e a pressão parcial de vapor de água, calculou-se o déficit de pressão de vapor de água, que é a medida da capacidade de evaporação do líquido para o ambiente. O DPV, foi calculado conforme a equação 8.

$$DPV = e_s - e_a \quad (8)$$

Em que:

e_s = pressão de saturação do vapor de água (KPa)

e_a = pressão parcial de vapor de água (KPa)

DPV = déficit de pressão de vapor de água no ar (KPa)

O DPV no interior da estufa, variou de 2,95 a 4,77 KPa para todas as épocas amostradas no ano de 2013 (Figura 16).

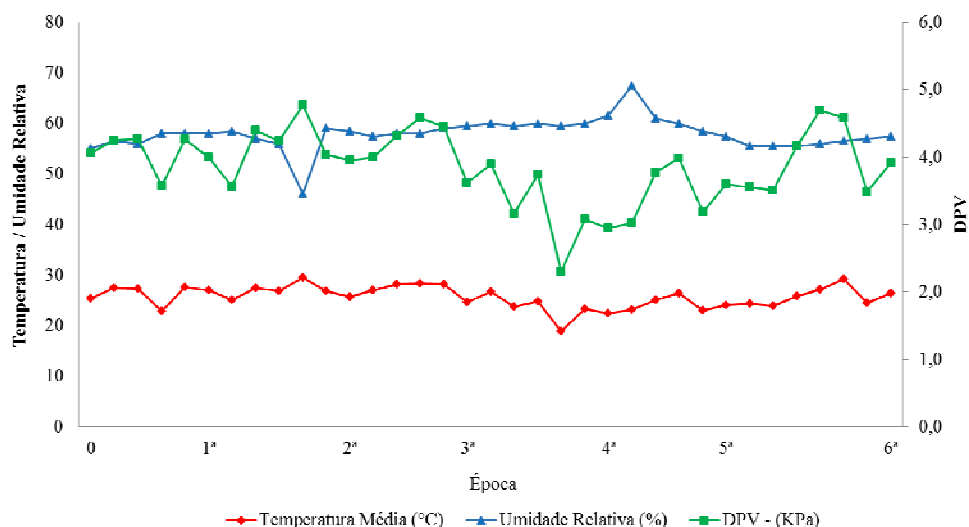


Figura 16. Fatores ambientais na estufa. Variação da temperatura média, umidade relativa do ar e déficit de pressão de vapor de água no ar (DPV) durante as épocas de amostragem. Cada ponto que compõe as épocas de amostragem representa um dia de leitura.

3.7 Delineamento experimental

O ensaio foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) recomendado para ensaio em casa de vegetação (LITTLE; HILLS, 1990). O mesmo foi constituído de 4 tratamentos com 3 repetições cada. Cada linha de plantio foi composta por 48 vasos os quais constituiu uma repetição, totalizando-se 144 vasos por tratamento. Cada vaso continha uma planta de *O.basilicum* L. (Figura 17). Cada linha de plantio foi composta por duas fileiras de vasos espaçadas 0,15m e 0,15m entre vasos na fileira.

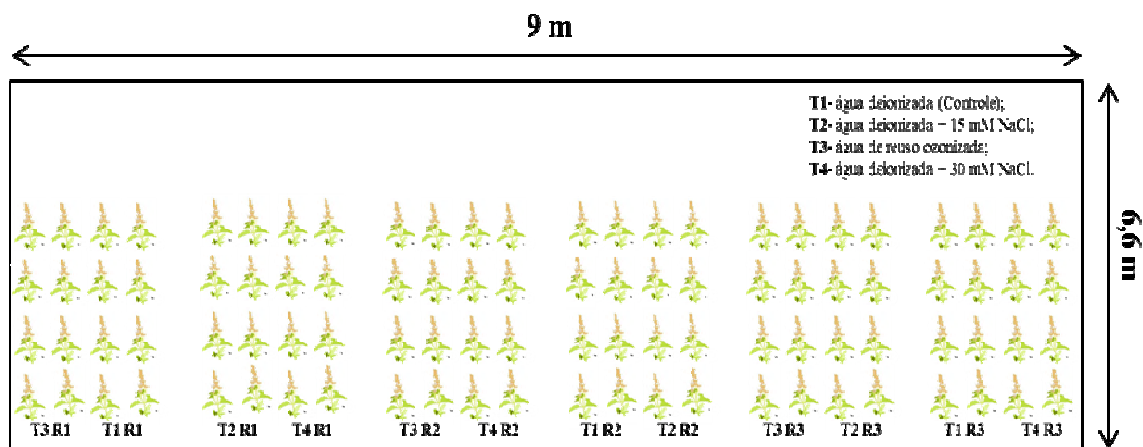


Figura 17. Esquema ilustrativo da área experimental.

Considerou-se o ensaio como bifatorial com 3 repetições, tendo como fator principal os 4 tratamentos de irrigação (Fator 1) que diferem na qualidade da água aplicada. O fator secundário, foi composto pelo número de épocas de amostragem (Fator 2), que foi variável de acordo com cada parâmetro avaliado, conforme descrito no apêndice.

3.7.1 Tratamentos

Foram aplicados quatro tratamentos de irrigação com diferentes qualidades de água, sendo eles:

T1 - Água deionizada (Controle), CE = 0,0000030 dS m⁻¹

T2 - Água deionizada suplementada com 15 mM NaCl, CE = 1,70 dS m⁻¹

T3 - Água de reuso ozonizada, CE = 0,709 dS m⁻¹

T4 - Água deionizada suplementada com 30 mM NaCl, CE = 2,46 dS m⁻¹

A aplicação dos tratamentos iniciou-se aos 64 dias após a semeadura, quando 50% das plantas atingiram a fase de florescimento.

No presente estudo, não houve a necessidade de pulverização de produtos químicos para o controle fitossanitário, pois não foram constatados nenhum dano causado por praga ou doença que fosse significativo para a aplicação do mesmo.

3.7.2 Épocas de amostragem

A semeadura de *O.basilicum* L. foi realizada no dia 26/12/2012. A emissão do primeiro par de folha verdadeira (Emergência) foi no dia 03/01/2013. O transplântio das mudas para os vasos foi realizado no dia 19/01/2013. O início da aplicação dos tratamentos com diferentes qualidades de água, foi realizado no último dia da 1ª época 27/02/2013 após as avaliações, sendo que nesta época não houve aplicação dos tratamentos. O término da 2ª época foi no dia 07/03/2013; da 3ª época no dia 13/03/2013; da 4ª época no dia 21/03/2013; da 5ª época no dia 28/03/2013 e da 6ª época no dia 04/04/2013 (Apêndice 1).

No período da sementeira até o transplante das mudas, as plantas foram irrigadas com água do abastecimento público. Após o transplante, as plantas foram irrigadas com água deionizada até o momento da aplicação dos tratamentos.

3.8 Análises estatísticas

Os resultados obtidos nas avaliações de campo e de laboratório foram submetidos à análise de variância e quando apontada significância pelo teste *F*, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% e 1% de significância, utilizando o programa estatístico *ASSISTAT 7.6 beta* (SILVA, 2009).

3.9 Parâmetros avaliados

3.9.1 Relações hídricas

3.9.1.1 Determinação do potencial hídrico

O potencial hídrico foliar (ψ_{wf}) que refere-se a energia livre da água presente nos tecidos foliares, foi determinado utilizando-se uma câmara de pressão (SAPS II - System Analysis of Plant Stress, mod. 3115) (Figura 18) seguindo a técnica descrita por Scholander et al. (1965), este método específico determina a força de retenção da água nos vasos do xilema. As medidas do (ψ_{wf}) foram realizadas em 6 plantas por tratamento, sendo 2 plantas por repetição, antes do amanhecer (*pre-daw*), no horário iso-hídrico, no qual, o potencial da água na planta encontra-se no seu estado mais elevado. O objetivo deste estudo não é promover estresse hídrico em função da lâmina de irrigação aplicada, mas monitorar os efeitos dos tratamentos aplicados sobre o potencial hídrico (ψ_w) das plantas. Para isso, o solo foi irrigado até à capacidade de campo 12 horas antes das leituras do (ψ_{wf}). Durante as leituras padronizou-se a coleta da folha do terço médio da planta, para posterior análise.

As folhas coletadas foram rapidamente colocadas na câmara de pressão onde aplicou-se uma pressão crescente utilizando-se gás dinitrogênio (N_2) até que ocorresse a exsudação do xilema pelo corte feito no pecíolo da folha, neste momento foi realizado as leituras em *bar*. A pressão necessária para a exsudação da seiva foi considerada como igual a pressão de retenção da água no xilema das plantas, porém com o

sinal contrário. As leituras obtidas foram convertidas para KPa conforme sistema internacional de unidades.



Figura 18. Câmara de pressão modelo SAPS II - System Analysis of Plant Stress, mod. 3115

3.9.1.2 Determinação do conteúdo relativo de água (CRA)

Como forma de avaliar o ajuste osmótico nos tecidos vegetais sob estresse hídrico, foi analisado o conteúdo relativo de água (CRA) em 30 discos foliares com diâmetro 1 cm^2 que foram cortados do terço médio de 3 plantas por tratamento, sendo 1 por repetição .

Após o corte os discos foram pesados para determinação da Massa Fresca (MF) em seguida, foram imersos em água destilada e mantidas no escuro para hidratação (Figura 19). Após 24 h submersos, os discos foram rapidamente secos com um papel absorvente e pesados para determinação do peso túrgido. Outra determinação realizada foi a Massa Seca (MS), obtida pela pesagem dos discos após a secagem em estufa à 50°C até atingirem um peso constante.

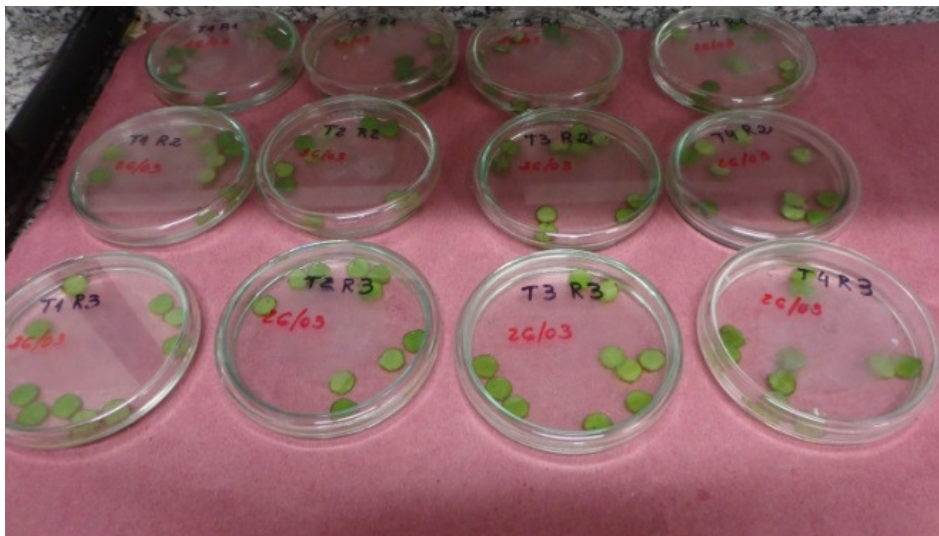


Figura 19. Preparação dos discos foliares de *Ocimum basilicum* L. submersos em água destilada para análise de CRA

O cálculo do CRA foi determinado de acordo com Barrs (1968) a partir da seguinte expressão 9:

$$\text{CRA} = [(\text{MF} - \text{MS}) / (\text{MS} - \text{MT})] * 100 \text{ onde:} \quad (9)$$

Massa Fresca (MF), que corresponde a massa fresca da folha no momento da coleta; Massa Túrgida (MT) é a massa túrgida das folhas após a saturação em água destilada mantidas no escuro por 24 horas; Massa Seca (MS), é a massa das folhas após a secagem em estufa à 50°C até o peso constante.

3.9.2 Variáveis físicas do solo

Para investigar a salinidade do solo na cultura de *O.basilicum* L. , os vasos foram aleatoriamente amostrados e o monitoramento das variáveis físicas do solo foi realizado em 9 plantas por tratamento, sendo 3 plantas por repetição antes da irrigação diária dos vasos.

As medidas foram mensuradas com o equipamento portátil Sensor WET-2-K1 (Delta T) (Figura 20), que mede três propriedades do solo: Umidade do solo (%), Condutividade elétrica (CE mS m^{-1}) e Temperatura (°C).



Figura 20. Sensor WET-2-K1 (Delta T) utilizado no experimento

3.9.3 Parâmetros de crescimento e biomassa

Para a análise dos parâmetros de crescimento e biomassa foram avaliadas 6 plantas por tratamento, sendo 2 plantas por repetição.

3.9.3.1 Altura das plantas

A altura das plantas foi medida com auxílio de uma fita métrica graduada em cm, a partir do nível do solo até o ápice da planta.

3.9.3.2 Diâmetro do caule

O diâmetro do caule em mm, foi medido próximo ao colo da planta com auxílio de um paquímetro digital.

3.9.3.3 Área foliar

Para a análise da área foliar foram coletadas todas as folhas de cada planta, que posteriormente tiveram suas áreas mensuradas por um integrador de área foliar modelo LICOR LI- 3000 (Figura 21). Os resultados foram expressos em $m^2 planta^{-1}$ e após a análise, contabilizou-se o número total de folhas por planta.

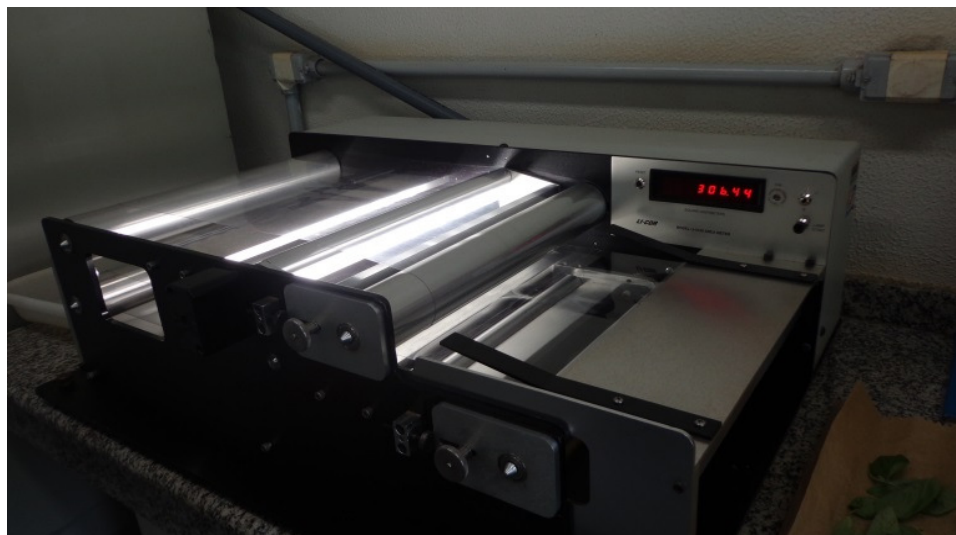


Figura 21. Medidor de área foliar LICOR LI-3000

3.9.3.4 Biomassa vegetal

A fim de verificar a massa da matéria fresca (MMF) e massa da matéria seca (MMS) do material vegetal expresso em g planta^{-1} , foram analisados os seguintes parâmetros: Massa fresca de folha (MFF); Massa fresca de caule (MFC); Massa seca de folha (MSF); Massa seca do caule (MSC) e Massa seca da raiz (MSR).

Esta análise foi realizada com o objetivo de avaliar a produtividade da biomassa vegetal total. Para esta determinação, o material foi acondicionado em sacos de papel e após a pesagem da matéria fresca, foram mantidos em estufa com circulação de ar a $30^{\circ}\text{C} \pm 5$ até atingirem o peso constante, para posterior medida da MMS.

3.9.3.5 Índices de crescimento

Baseado nos dados observados para biomassa vegetal dos diferentes órgãos vegetais e área foliar, realizou-se um estudo de alocação por índices de crescimento. Estes índices permitem avaliar frações de biomassa investidos em diferentes partes da planta o que pode refletir estratégias de desenvolvimento e estabelecimento de tolerância aos fatores físicos ambientais estudados (água salina e elementos da água de reuso). Com os dados obtidos no parâmetro de crescimento e biomassa vegetal, foi possível determinar os seguintes índices de crescimento segundo Hunt (1982):

a) SLA, (*Specific Leaf Area* ou área foliar específica) que indica a relação entre a área foliar (AF) e a massa seca foliar (MSF), calculando-se mediante a expressão 10:

$$\text{SLA} = \text{AF} / \text{W} \text{ (área foliar / MSF), expresso em } \text{cm}^2_{\text{folhas}} \text{ g}^{-1}_{\text{MS total}} \quad (10)$$

b) LWR (*Leaf Weight Ratio* é a relação inversa de SLA) que informa a fração da biomassa total alocada nas folhas, podendo ser calculada conforme a expressão 11:

$$\text{LWR} = \text{MSF}/\text{MST} \text{ (Massa seca de folhas/Massa seca total), expresso em } \text{g}_{\text{MS folhas}} \text{ g}^{-1}_{\text{MS total}} \quad (11)$$

c) LAR (*Leaf Area Ratio* é a relação da superfície foliar) que reflete no tamanho da superfície fotossintética em relação a massa respiratória de acordo com a expressão 12:

$$\text{LAR} = \text{AF}/\text{MS total} - \text{(Área foliar/Massa seca total), expresso em } \text{m}^2_{\text{folhas}} \text{ g}^{-1}_{\text{MS plantas}} \quad (12)$$

3.9.4 Análise dos nutrientes

3.9.4.1 Análise dos nutrientes foliar

O estado nutricional das plantas foi determinado por meio da análise dos nutrientes presentes nas folhas de *O.basilicum* L. As amostras foram coletadas de três plantas por tratamento, sendo um por repetição e acondicionadas em sacos de papel para secagem na estufa à 30°C até o peso constante. Em seguida, as folhas secas foram moídas em moedor de café modelo Cadence MDR 301 e encaminhadas para o laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da FCA/UNESP – Botucatu, SP, para a determinação dos elementos químicos (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Zn e Na) presentes no tecido vegetal segundo a metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

3.9.4.2 Análise dos nutrientes da raiz

Para verificar os nutrientes presentes na raiz das plantas de *O.basilicum* L, coletou-se três raiz por tratamento, sendo um por repetição. As amostras

foram lavadas em água corrente com auxílio de peneira de malha fina e após 24h foram pesadas e acondicionadas em sacos de papel para secagem na estufa com ventilação de ar forçada à 50°C até o peso constante. Em seguida, as raízes secas, foram moídas em moíno tipo Willey e encaminhadas para o laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da FCA/UNESP – Botucatu, SP, para a determinação dos elementos químicos presentes no tecido vegetal. Dessa maneira determinou-se os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Zn e Na, segundo a metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

3.9.4.3 Composição mineral da solução do solo

A solução do solo foi coletada em três vasos por tratamento, sendo um por repetição por meio de extrator de cápsula porosa. Em todos os tratamentos foram instalados 12 extratores a 0,20m de profundidade. A retirada da amostra procedeu-se na aplicação de vácuo a 70 KPa por meio de uma bomba a vácuo (Figura 22). O vácuo foi aplicado uma hora após a irrigação e 12h após o vácuo foi coletado a solução nos extratores conforme o procedimento descrito por Silva (2002). As amostras da solução do solo foram armazenadas em tubos falcon hermeticamente fechados e encaminhados para o Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP – Botucatu, SP, para análise da condutividade elétrica, pH e análise dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Fe, Mn e Zn).



Figura 22. Aplicação de vácuo no extrator de cápsula porosa, para coleta de solução

3.9.5 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila

3.9.5.1 Trocas gasosas: Fotossíntese e condutância estomática

As leituras realizadas tiveram como objetivo avaliar o efeito de diferentes fontes hídricas sobre parâmetros relacionados às trocas gasosas como: assimilação líquida de CO_2 (A) expressa em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$; concentração interna de CO_2 (C_i) expressa em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$; condutância estomática ao vapor de água (g_s) expressa em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; e taxa transpiratória (E) expressa em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

As leituras foram realizadas em nove plantas por tratamento, sendo três plantas por repetição, no período da manhã entre as 9h:30min e 11h, com auxílio de um sistema fechado de medição de trocas gasosas equipado com um analisador infravermelho de gases (IRGA) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA) (Figura 23). As condições microclimáticas na câmara foram mantidas constantes durante as medições realizadas nos diferentes tratamentos, usando $1400 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de PAR (*photosynthetic active radiation*) e umidade relativa entre 50 e 60%. A atmosfera de referência do IRGA foi captada e direcionada para um vasilhame homogeneizador de 5 L (*buffer*) antes de alcançar a câmara foliar, a fim de evitar grandes oscilações no CO_2 de referência e temperatura da câmara foliar.



Figura 23. Analisador infra vermelho de gases (IRGA) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA)

3.9.5.2 Fluorescência da clorofila no fotossistema II - FSII (F_v/F_m)

As leituras de fluorescência da clorofila tiveram como objetivo apontar algum estresse nas plantas, sendo a relação da fluorescência máxima (F_v/F_m) um importante indicativo de estresse entre a salinidade e água de reuso utilizada nesse estudo.

Os parâmetros analisados de fluorescência variável e fluorescência máxima foram medidos em três plantas por tratamento, sendo uma por repetição, utilizando-se um sistema aberto de medição de trocas gasosas equipado com um analisador infravermelho de gases (IRGA – Infra-red Gas Analyzer) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA) acoplado a uma câmara de fluorescência para folhas (6400-40), com área de 2 cm² (Figura 23).

As folhas para a avaliação da fluorescência da clorofila foram adaptadas ao escuro por 30 minutos (fluorescência com todos os aceptores do Fotossistema II - FSII *abertos*; Quinonas totalmente oxidadas) a fim de determinar a fluorescência mínima da clorofila (F_o). Com a folha ainda adaptada ao escuro foi obtida a fluorescência máxima da clorofila (F_m) através da aplicação de um flash de saturação de $\sim 7900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por aproximadamente 0,8 segundos, de modo que todos os aceptores do FSII sejam *fechados* (Quinonas totalmente reduzidas). A fluorescência variável (F_v) foi dada pela diferença entre as fluorescências máxima e a mínima ($F_v = F_m - F_o$). O máximo rendimento quântico do FSII foi dado pela relação F_v/F_m .

3.9.6 Índices relativo de clorofila (IRC)

O clorofilômetro é um aparelho portátil que realiza uma medida instantânea e não destrutiva, denominada Índices Relativo de Clorofila (IRC), indicando um valor de absorvância pela folha da planta do comprimento de onda na região do vermelho (pico em 650 nm) região de alta absorvância pelas moléculas de clorofila (GODOY et al., 2003).

Durante as épocas de amostragem no experimento, realizou-se medida IRC (SPAD) em seis plantas por tratamento, sendo duas plantas por repetição, com um medidor automático (modelo Chlorophyll Meter SPAD-CCM-200 plus, Opti-sciences) com IRC expresso em U SPAD. Este clorofilômetro realiza medidas da transmitância de luz através da folha no comprimento de onda de 660 nm à 940 nm, numa área foliar de

0,71cm². Para esta determinação, elegeram-se folhas recém maduras na região mediana da planta realizando-se 30 leituras por tratamento.

3.9.7 Análises Bioquímicas

3.9.7.1 Coleta e armazenamento do material vegetal

O material vegetal para as análises bioquímicas foi coletado em três plantas por tratamento, sendo um por repetição, no período da manhã entre as 9h e 30min e 10h. Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em envelopes de papel alumínio e imediatamente imersas em nitrogênio líquido. Em seguida, os envelopes foram mantidos em Freezer a (-80°C) até o momento da realização das análises.

Para o processamento do material vegetal, as folhas coletadas foram moídas em Gral (almofariz) na presença de nitrogênio líquido até que se obtenha um pó fino. O material vegetal moído foi transferido para Eppendorf e armazenados em freezer -80°C.

3.9.7.2 Procedimento para obtenção do extrato bruto

As amostras armazenadas foram processadas para a obtenção de três diferentes extratos brutos. O primeiro foi obtido para análise do teor de L-prolina, o segundo obtido especificamente para as análises de atividade enzimática e o terceiro para análise da peroxidação de lipídeos.

No primeiro extrato (L-prolina), (100 mg) do material vegetal moído foram ressuspensos em 5,0 mL de ácido sulfosalicílico (3% em água destilada). Após a centrifugação por 5 min a 4.000 x g a 4°C, o sobrenadante foi retirado e armazenado em freezer a - 80°C.

No segundo extrato para atividade da enzima Superóxido Dismutase, Catalase e para a análise da Concentração de Proteína Solúvel Total, o processamento para obtenção do extrato bruto foi obtido através da ressuspensão do material vegetal moído (100 mg) em 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0.1 M, pH 6.8, suplementado com 200 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Após centrifugação por 10 min. a 5.000 x g, o sobrenadante foi coletado e armazenado em Freezer a (- 80°C).

No terceiro extrato (Peroxidação de lipídeos) para o teste de malondialdeído (MDA), o extrato bruto foi obtido através da ressuspensão do material vegetal moído (200 mg) em 4 mL de tampão (TCA)- ácido tiobarbitúrico (1% w/v).

3.9.7.3 Determinação do teor de proteína solúvel total

Para a determinação da proteína solúvel presente nos extratos foi determinada utilizando-se o método descrito por Bradford (1976) com albumina de soro bovino (BSA) como proteína padrão.

3.9.7.4 Determinação do teor de L-prolina

O teor de L-prolina ($\mu\text{g mL}^{-1}$ extrato) foi determinado utilizando-se o método de Bates et al. (1973). Para a realização do teste colorimétrico, pipetou-se alíquotas de 1,0 mL do extrato bruto; 1,0 mL de ninhidrina ácida; 1,0 mL de ácido acético glacial. Após aquecimento em banho-maria à aproximadamente 100°C por 60 minutos, resfriaram-se os frascos e efetuou-se leitura a 520 nm. Como referência, utilizou-se curva padrão com (0, 20, 40, 60, 80 e 100 mg) de L-prolina p.a. Os resultados foram expressos em ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF).

3.9.7.5 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

A determinação da atividade da SOD considerou a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (*Nitro blu tetrazolium chloride*). A atividade foi determinada pela adição de 50 μL do extrato bruto a uma solução contendo 13mM de metionina, 75 μM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 μM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7.8. A reação foi iniciada pela iluminação dos tubos em um suporte composto por tubos fluorescentes (15W), a 25°C.

Após 5 minutos de iluminação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz. O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pelo incremento na absorção, feita por espectrofotometria com leituras a 560 nm. Os tubos considerados branco para análise receberam os mesmos reagentes, porém foram mantidos cobertos com papel alumínio abrigados da luz.

Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade

específica da enzima, considerou-se a percentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra. Os resultados foram expressos em (UI μg proteína⁻¹).

3.9.7.6 Atividade da enzima catalase (CAT; EC. 1.11.1.6)

A atividade da enzima catalase foi determinada por medição em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, 50 μL de extrato bruto foram adicionados a 950 μL de um tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12.5 mM.

A variação da absorção (ΔE) foi calculada em um intervalo de 80s, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar (ϵ) igual a 39,4 mM⁻¹ cm⁻¹. A atividade específica da catalase, levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste. Os resultados foram expressos em (μKat μg Proteína⁻¹).

3.9.7.7 Nível de peroxidação de lipídeos

A peroxidação de lipídeos foi determinada conforme Angelo (1996). Após obtenção do extrato bruto, foi realizada a filtração do extrato em papel filtro (2x) e centrifugado por 15 min a 12.000 x g. Em seguida, foi retirado 1mL do sobrenadante e adicionado 3mL de TCA 0,5% (w/v) em TCA 20% (w/v). As amostras foram incubadas 95°C por 60 min em banho-maria dubnoff. A reação foi paralizada quando as amostras foram resfriadas em banho de gelo. Logo após, as amostras foram centrifugadas novamente por 10 min a 9.000 x g. A densidade ótica foi determinada a 532 e 660 nm e a concentração de MDA (Malondialdeído) foi calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar (ϵ) igual a 155 mM⁻¹ cm⁻¹. O resultado foram expressos em (mol de MDA g MF⁻¹).

3.9.8 Óleo essencial

As análises do óleo essencial foram realizadas no laboratório da Unidade de Fitoquímica do Instituto Agrônomo de Campinas –IAC, Fazenda Experimental Santa Elisa, Campinas, SP.

3.9.8.1 Coleta e armazenamento do material vegetal

As amostras das folhas de *O.basilicum* L., foram coletadas de três plantas por tratamento, sendo uma por repetição e acondicionadas em sacos de papel e mantidas estufa a 30°C para secagem até atingirem a massa constante. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para o Lab. de Fitoquímica do IAC, para extração e avaliações quantitativas (teor) e qualitativas (composição química) dos óleos essenciais.

3.9.8.2 Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial de cada amostra foi realizada pelo método de hidrodestilação, em aparato tipo Clevenger (Figura 24).



Figura 24. Esquema do Sistema Clevenger utilizado para a extração de óleo essencial
Fonte: JOSÉ, 2014, p.73.

Cada amostra do material vegetal seco foi pesada e colocada em balões de vidro com capacidade de 2000 mL contendo 1000 mL de água destilada. A extração procedeu-se por um período de duas horas (Figura 25 A).

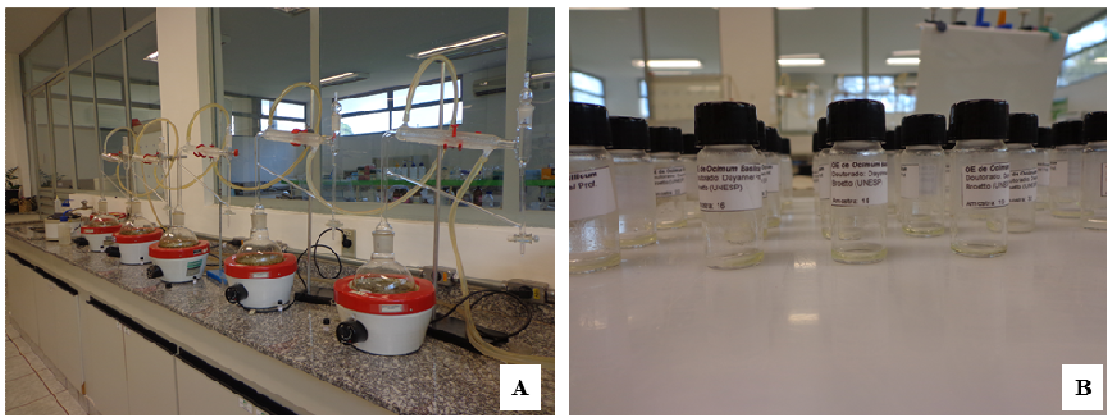


Figura 25. (A) Hidrodestilação do óleo essencial de folhas de *Ocimum basilicum* L. em aparato tipo Clevenger e (B) armazenamento do óleo extraído.

3.9.8.3 Rendimento do óleo essencial nas folhas de *O. basilicum* L.

Após a extração, o óleo essencial foi armazenado em frasco de vidro (Figura 25 B) devidamente identificados e imediatamente pesados para o cálculo do teor em porcentagem. Em seguida, as amostras do óleo essencial foram mantidas no freezer a 4°C até o momento da realização das análises de composição química. O rendimento do óleo essencial foi expresso em base seca de material vegetal e calculado pela equação 13:

$$Y = \frac{A \times 100}{B} \quad (13)$$

Em que:

Y = Rendimento do óleo essencial (%)

A = Massa em gramas do óleo essencial

B = Massa em gramas das folhas secas

3.9.8.4 Composição química do óleo essencial nas folhas de *O. basilicum* L.

As análises da composição química dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM; Shimadzu, QP-5000) operando por um impacto de elétrons (70 eV), dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), hélio como gás de arraste (1mL/min), injetor a 240°C, detector a 230°C e modo de injeção split (1/20), injetado 1µl

de solução de óleo essencial (1mg óleo essencial/ mL de acetato de etila). O programa de temperatura foi: 60°C - 240°C, 3°C/min. (Figura 26 A)



Figura 26. (A) CG-EM; Shimadzu, QP-5000, (B) CG-DIC; Shimadzu 2010

A identificação dos constituintes químicos foi efetuada através da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62.lib) e o índice de retenção (IR) (ADAMS, 2007). Os índices de retenção das substâncias foram obtidos a partir da injeção de uma série de *n*-alcanos (C₉-C₄₀), aplicando a equação de Vandendool e Kratz (1963). A quantificação (método: normalização da área) de substâncias foi efetuada por cromatografia a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC; Shimadzu 2010) (Figura 26 B), coluna capilar OV-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 µm) operando nas mesmas condições que o sistema CG-EM.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Relações hídricas

4.1.1 Potencial hídrico

O uso eficiente da água é um tema de grande importância para as necessidades sociais, econômicas e do meio ambiente. A água residuária, é uma alternativa eficaz em regiões onde a escassez e a má distribuição das precipitações tornam-se fatores limitantes ao seu uso. Particularmente no setor agrícola, o aproveitamento da água de reuso na irrigação das plantas, tem demonstrado importância econômica, agrônômica e ambiental (PEDRERO et al., 2012; SANTOS et al., 2012). A água de reuso é conhecida como de baixa qualidade, que segundo sua origem pode conter diversos tipos de sais podendo causar problemas de salinidade quando não utilizada adequadamente no manejo de irrigação (BAÑON et al., 2011). Entretanto, essa água pode ser fonte nutricional para as plantas, devido a presença de nutrientes essenciais para o seu crescimento (MANCUSO; FILHO, 2002; SANTOS et al., 2012). No entanto, o efeito que estes compostos presentes na água podem causar no desenvolvimento das plantas, vai depender do tratamento da água, de sua origem e da tolerância da espécie a ser estudada (VALDÉS et al., 2012).

A salinidade da água utilizada para irrigação, pode afetar rapidamente as plantas (PARDO et al., 2006; BAÑON et al., 2011; ALVES et al., 2011; SCHOSSLER et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2013) e quando a elevada concentração de sais dissolvidos na solução do solo, reduz o potencial osmótico e hídrico, diminuindo a disponibilidade de água e nutrientes às plantas (ALVES et al., 2011). Em consequência

disso, o aumento da pressão osmótica ocasionada pelo excesso de sais, poderá levar a planta à condições de estresse hídrico ou seca fisiológica (DIAS; BLANCO, 2010).

Neste estudo, houve interação significativa entre os fatores 1 (Qualidades de água) vs. fator 2 (Épocas de amostragem) (Tabela 6 e Figura 27).

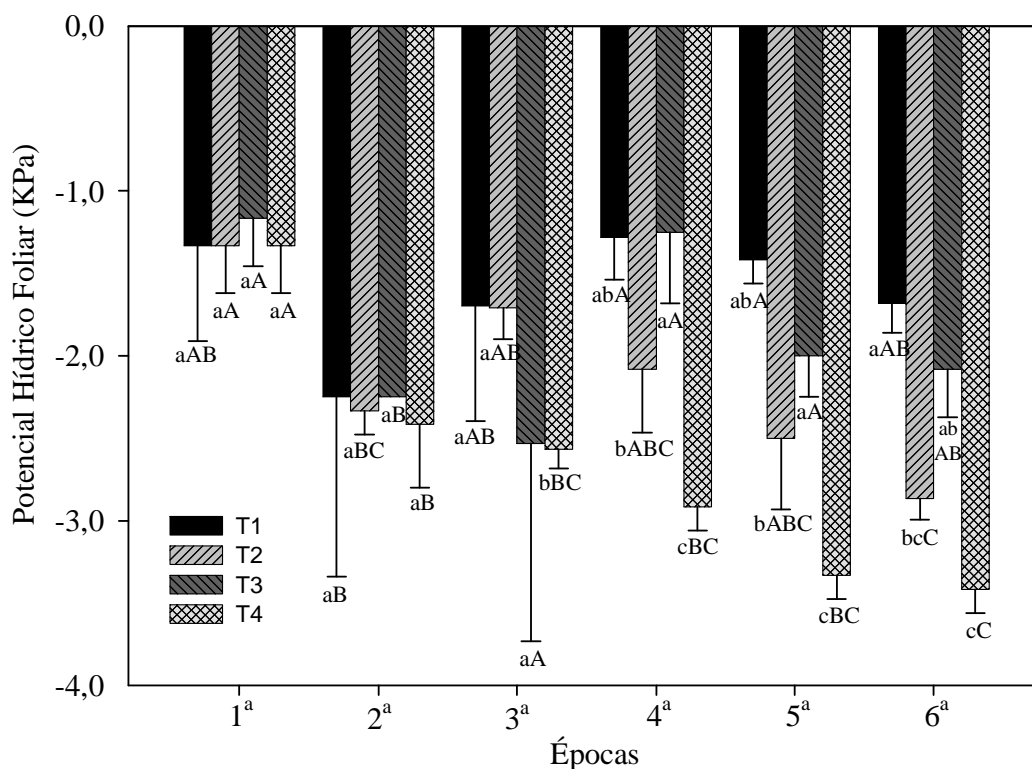


Figura 27. Potencial hídrico (ψ_w folha) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 3,34.

Nas duas primeiras épocas não foi observado efeito significativo para as diferentes qualidades de água aplicada. Somente a partir da terceira época, o tratamento T4 (30 mM NaCl), reduziu significativamente o potencial hídrico das plantas, sendo que este efeito tornou-se mais acentuado conforme o avanço das épocas de amostragem. Para o T2 (15 mM NaCl), a partir da quarta época foi verificado decréscimo nos valores dos potenciais hídricos até o final do experimento, diferindo dos tratamentos controle e água de reuso (Figura 27).

Os tratamentos T1 (controle) e T3 (água de reuso) não diferiram entre si durante todo o experimento, indicando que os sais contidos em T3 não promoveram redução do potencial hídrico nestas plantas. Este resultado é evidenciado na

comparação das médias das diferentes qualidade de água, que aponta redução significativa do potencial hídrico nos tratamentos que receberam NaCl. Tal redução, não é observada para o tratamento T1 e T3 (Tabela 6).

Tabela 6. Potencial hídrico (ψ_w folha) em KPa, nas plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água em seis épocas de amostragem

Tratamentos	Potencial hídrico na folha (KPa)						Média
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	-1,33 aAB	-2,25 aB	-1,70 aAB	-1,28 abA	-1,41 abA	-1,68 aAB	-1,61 a
T2	-1,33 aA	-2,33 aBC	-1,70 aAB	-2,08 bABC	-2,50 bABC	-2,86 bcC	-2,13 b
T3	-1,16 aA	-2,25 aB	-2,53 aA	-1,25 aA	-2,00 aA	-2,08 abAB	-1,88 a
T4	-1,33 aA	-2,41 aB	-2,56 bBC	-2,91 cBC	-3,33 cBC	-3,41 cC	-2,66 c
Média	-1,29 A	-2,31 CD	-2,12 B	-1,88 BC	-2,31 CD	-2,51 D	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 3,34.

A irrigação utilizando água de reuso, pode resultar em acúmulo de sais em torno das raízes dependendo da concentrações de sais dessa água. Este acúmulo resulta na diminuição do potencial hídrico desta região aumentando a dificuldade das plantas em absorver a água pelas raízes (CAVALCANTE et al., 2012; EPSTEIN; BLOOM, 2006; ALVES et al., 2011). Schossler et al. (2012), afirmam que a planta pôde perder água no interior das raízes ao invés de absorve-la, pois seu potencial osmótico é menor que o do solo, sendo esta a maior causa da redução do crescimento das plantas.

Os resultados obtidos neste estudo são um indicativo de que a concentração de sais contida na água de reuso, não promoveu restrição na absorção hídrica das plantas. Para efeito de comparação, nos demais tratamentos envolvendo salinidade (T2 e T4), ocorreu uma redução gradual do potencial hídrico das plantas, provavelmente devido ao acúmulo gradativo de sais no solo o que reduziria seu potencial osmótico refletindo nas plantas dificultando a absorção de água e reduzindo seu potencial hídrico.

Este fato é confirmado quando observado o acúmulo significativo de sódio (Na) na composição mineral da solução do solo dos tratamentos salinos (Tabela 28) sendo cerca de 270 e 640 vezes maior que o controle nos tratamentos T2 e T4 respectivamente e o tratamento com água de reuso apresentou um acúmulo de 41 vezes maior que o controle.

Nesse sentido, Távora et al. (2001), em estudos com plantas de goiabeira submetidas a condições de estresse com NaCl, concluíram que o potencial hídrico da folha e o teor relativo de água decresceram com o aumento dos níveis e do tempo de exposição ao NaCl. Embora tenha sido observada redução significativa do potencial hídrico nas plantas nos dois tratamentos salinos (T2 e T4), não é possível caracterizar tais valores como indicativos de estresse hídrico. Para Simon et al. (1992) potenciais hídricos com valores a partir de -6,2 KPa são considerados levemente estressantes para manjeriço. Neste estudo o menor valor encontrado para esta variável foi de -3,41 KPa (produzido por T4) (Tabela 6) que pode ser considerado um valor acima dos potenciais encontrados em plantas sob estresse hídrico, indicando que as plantas de todos os tratamentos permaneceram bem hidratadas.

4.1.2 Conteúdo relativo de água – CRA

Em contraste ao potencial hídrico, a aplicação das diferentes qualidades de água aplicada na cultura não promoveu alteração significativa no conteúdo relativo de água (CRA) e permaneceu estável durante todas as épocas de amostragem (Figura 28).

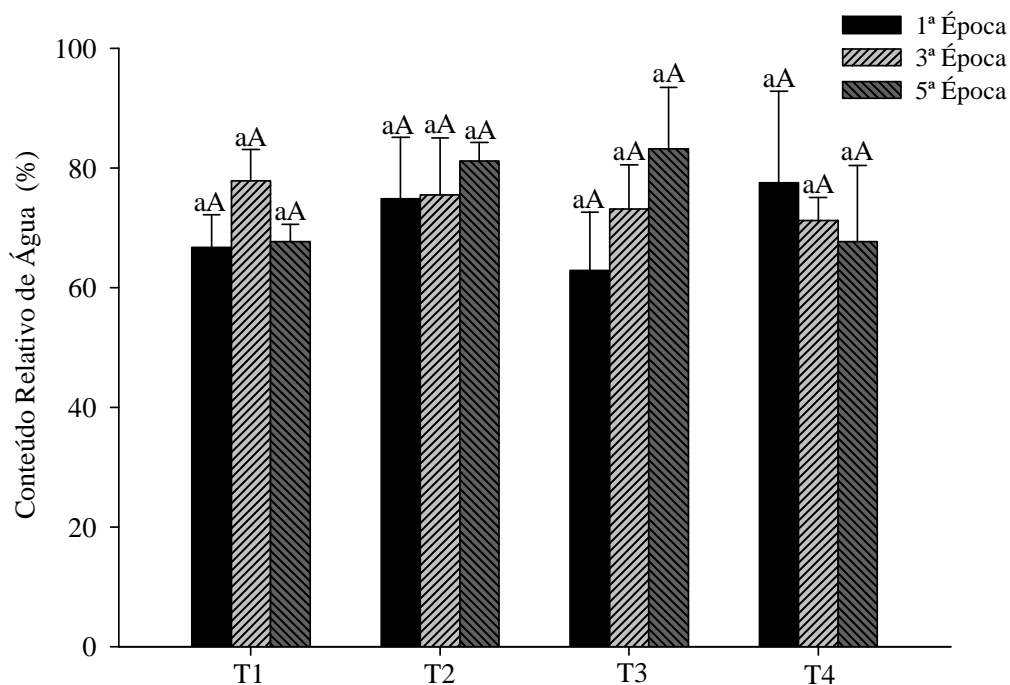


Figura 28. Conteúdo relativo de água (CRA) em discos foliares de *Ocimum basilicum* L. irrigados com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 12,11.

Em geral o decréscimo do CRA nos tecidos vegetais, dificulta a expansão celular, bem como, o desenvolvimento dos tecidos além de afetar diversos outros processos metabólicos como a condutância estomática, fotossíntese, etc.

O CRA indica a força de retenção de água nos tecidos vegetais e a sua energia livre para a realização de trabalho celular. Quanto maior o potencial hídrico maior o CRA e maior também a disponibilidade de água para o metabolismo celular. O resultado evidenciado neste trabalho, demonstra que a irrigação das plantas com água de reuso não trouxe nenhum prejuízo a disponibilidade de água nos tecidos foliares com resultado similar ao tratamento controle. Da mesma forma os tratamentos salinos não foram capazes de alterar significativamente esta variável (Figura 28). Resultados semelhante aos tratamentos salinos foram encontrados por Maia et al. (2012) com plântulas de feijão caupi expostas a concentrações 0, 25, 50, 75 e 100 mM NaCl onde não houve alteração do estado hídrico das plantas, considerando a manutenção do CRA.

4.2 Variáveis físicas do solo

Nas análises das variáveis físicas do solo, apontou diferenças significativas para o fator II (épocas) com a menor média na primeira época avaliada, ressaltando, que nesta época não houve aplicação dos tratamentos. Na sexta época, a umidade do solo foi superior quando comparado a primeira época (Tabela 7).

Tabela 7. Umidade do solo (%) irrigado com diferentes tratamentos (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Umidade do solo (%)			
	Épocas			
	1 ^a	3 ^a	6 ^a	Média
T1	12,35 aA	13,58 aA	14,85 aA	13,60 a
T2	11,92 aA	12,21 aA	14,64 aA	12,92 a
T3	12,22 aA	13,17 aA	14,82 aA	13,40 a
T4	11,36 aA	13,13 aA	15,61 aA	13,37 a
Média	11,96 B	13,02 AB	14,98 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 18.96

O parâmetro de condutividade elétrica do solo (CE) apresentou altamente significativo em ambos os fatores avaliados (tratamento de irrigação e épocas de amostragem) com interação significativa, indicando que os tratamentos com NaCl e água de reuso de fato produziram alterações na CE, principalmente na última época (Tabela 8). A aplicação de água de reuso (T3) induziu a uma maior CE no solo, quando comparado ao tratamento controle (T1), provavelmente em função da carga salina encontrada na origem da água. Da mesma forma, o aumento na concentração de NaCl em T2 e T4, induziu a elevação da CE no solo (Tabela 8).

Tabela 8. Condutividade elétrica do solo CE (mS m^{-1}) irrigado com diferentes tratamentos (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Condutividade elétrica do solo CE (mS m^{-1})			
	Épocas			
	1 ^a	3 ^a	6 ^a	Média
T1	82,33 aA	79,22 dA	81,33 dA	80,96 d
T2	89,66 aC	294,44 bB	409,11 bA	264,40 b
T3	92,33 aB	138,33 cA	163,11 cA	131,25 c
T4	95,33 aC	377,00 aB	499,11 aA	323,81 a
Média	89,91 C	222,25 B	288,16 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 9,48

No parâmetro de temperatura do solo, houve diferenças significativas para os dois fatores avaliados. No fator I (qualidades de água), o T1 apresentou a maior média diferindo do T3. Os tratamentos que receberam NaCl, não diferiu dos demais tratamentos. A maior temperatura do solo, foi observada na primeira época de amostragem, ocorrendo redução significativa desta variável nas épocas seguintes (Tabela 9). Este fato está associado ao aumento do sobreamento no vaso promovido pelo crescimento das plantas.

Tabela 9. Temperatura do solo ($^{\circ}\text{C}$) irrigado com diferentes tratamentos (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Temperatura do solo ($^{\circ}\text{C}$)			
	Épocas			
	1 ^a	3 ^a	6 ^a	Média
T1	29,40 aA	27,20 aB	27,86 aAB	28,15 a
T2	29,26 aA	25,92 abB	26,81 abB	27,33 ab
T3	28,82 aA	25,14 bB	25,67 bB	26,54 b
T4	28,33 aA	26,84 abAB	26,55 abB	27,24 ab
Média	28,95 A	26,27 B	26,72 B	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 2,84

4.3 Biometria

4.3.1 Crescimento: Altura de plantas, Diâmetro do caule, Área foliar e Número de folhas.

Quando a planta encontra-se em condições de estresse hídrico os processos de crescimento são rapidamente afetados (LARCHER, 1995; TÁVORA et al., 2001). Neste estudo tal condição não é observada, uma vez que, os parâmetros de crescimento avaliados na cultura de *O.basilicum* L. como: altura de plantas, diâmetro do caule, área foliar e número de folhas, não foram alterados significativamente pela aplicação das diferentes qualidades de água. Entretanto, quando comparado as épocas de amostragem, observou-se aumento significativo dos parâmetros avaliados com o avanço das épocas (Tabelas 10, 11, 12 e 13). Neste estudo para todos os parâmetros de crescimento, os menores valores foram encontrados nas duas primeiras épocas, e de forma coerente com o crescimento das plantas os maiores valores foram encontrados nas épocas seguintes até o final do experimento.

Tabela 10. Altura das plantas (m) de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Altura das plantas (m)					Média
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	50,00 aB	50,50 aB	70,50 aA	76,33 aA	71,66 aA	63,80 a
T2	49,66 aB	50,83 aB	70,16 aA	77,16 aA	79,16 aA	65,40 a
T3	49,00 aB	51,16 aB	66,66 aA	76,00 aA	76,50 aA	63,86 a
T4	48,33 aB	50,66 aB	73,16 aA	77,50 aA	76,33 aA	65,20 a
Média	49,25 C	50,79 C	70,12 B	76,75 A	75,91 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 6,95

Tabela 11. Diâmetro do caule (mm) das plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Diâmetro do caule (mm)					
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	Média
T1	5,00 aB	5,66 aAB	6,50 aA	6,50 aA	6,50 aA	6,03 a
T2	5,00 aB	6,16 aA	6,50 aA	6,58 aA	6,16 aA	6,08 a
T3	5,00 aC	5,50 aBC	6,33 aAB	6,83 aA	6,33 aAB	6,00 a
T4	5,00 aB	5,33 aB	6,00 aAB	6,66 aA	6,66 aA	5,93 a
Média	5,00 C	5,66 B	6,33 A	6,64 A	6,41 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 8.18

Tabela 12. Área foliar (m² de folha planta⁻¹) das plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Área foliar (m ² de folha planta ⁻¹)					
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	Média
T1	0,05 aB	0,11 aA	0,12 aA	0,15 aA	0,14 aA	0,11 a
T2	0,04 aB	0,11 aA	0,14 aA	0,12 aA	0,12 aA	0,11 a
T3	0,05 aB	0,10 aAB	0,14 aA	0,13 aA	0,13 aA	0,11 a
T4	0,05 aB	0,08 aAB	0,11 aA	0,12 aA	0,11 aA	0,09 a
Média	0,55 C	0,10 B	0,12 AB	0,13 A	0,12 AB	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 19.49

Tabela 13. Número de folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Número de folhas					
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	Média
T1	107 aB	140 aB	215 aA	231 aA	209 aA	180 a
T2	104 aC	153 aBC	209 aAB	229 aA	240 aA	188 a
T3	107 aD	140 aBC	180 aB	242 aA	253 aA	184 a
T4	104 aB	128 aB	208 aA	233 aA	229 aA	180 a
Média	106 D	140 C	203 B	234 A	233 AB	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 14.32

Tarchouone et al. (2012 b) avaliando o efeito da salinidade sobre aspectos fisiológicos das plantas de *O.basilicum* L. cv. Genovese, observaram nas concentrações de 50 mM NaCl aplicados em solução hidropônica não promoveu alterações significativas nos parâmetros de crescimento (folha, caule e raiz, peso seco, área foliar, altura da parte aérea e comprimento de raízes) manteve-se constante em comparação com o controle.

Segundo Prisco e Gomes Filho (2010), as mudanças no crescimento vegetal quando submetido a salinidade, irão depender das características do estresse, como a concentração e a composição iônica da solução no solo, da raiz ou parte aérea exposta ao estresse e do modo como o estresse é aplicado. Os mesmos autores afirmam que as características do estresse com o vegetal, podem resultar em tolerância ou susceptibilidade da planta, dependendo da capacidade de resposta ou adaptação ao estresse aplicado.

4.3.2 Biomassa vegetal

A massa fresca de folhas (MFF) de *O.basilicum* L. não foi alterada pela aplicação das diferentes qualidades de água utilizada na irrigação. Da mesma forma, não foi identificada interação significativa entre as qualidades de água e as épocas de amostragem. Entretanto, na comparação entre as épocas foram observadas diferenças significativas entre as médias. Estas diferenças parecem estar associadas ao crescimento normal das plantas, uma vez que, as menores massas foram encontradas na primeira e segunda época, com aumento gradativo até a quarta época permanecendo estáveis até o final do experimento (Tabela 14).

Tabela 14. Massa fresca de folhas (g planta⁻¹) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Massa fresca de folhas (g planta ⁻¹)					Média
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	15,20 aC	33,16 aB	51,48 aA	46,87 aAB	38,33 aAB	37,01 a
T2	16,38 aB	32,26 aAB	44,52 aA	41,12 aA	44,36 aA	40,52 a
T3	15,89 aC	31,56 aAC	56,13 aA	41,38 aAB	43,63 aAB	37,58 a
T4	15,02 aB	26,10 aAB	42,17 aA	37,35 aA	36,65 aA	36,51 a
Média	15,63 C	30,75 B	48,57 A	41,68 AB	40,74 AB	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 20,73

Da mesma forma, para a massa fresca de caule (MFC) (Tabela 15), a aplicação das diferentes qualidades de água aplicada, não alterou significativamente este parâmetro. Não foi encontrada interação significativa entre os fatores (Qualidades de água vs. Épocas) pelo teste F. Entretanto, segundo Silva (2011), quando F se aproxima mas não atinge a significância mesmo assim, o teste de Tukey poderá encontrar diferença significativa entre a maior e a menor média e também poderá ocorrer o inverso. Esse caso é previsto na literatura e também ocorre com outros testes de comparação. O autor relata que esta ocorrência não deve ser entendida como erro na análise.

Quando comparadas as épocas de amostragem da MFC, observou-se diferenças significativas entre as mesmas, onde o menor valor foi encontrado na primeira época de avaliação, e de forma coerente com o crescimento das plantas os valores mantiveram-se até o final do experimento (Tabela 15).

Tabela 15. Massa fresca de caule (g planta⁻¹) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Massa fresca de caule (g planta ⁻¹)					Média
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	7,82 aD	22,54 aC	35,41 aB	45,60 aAB	47,79 bA	31,83 a
T2	8,08 aD	24,70 aC	39,34 aB	42,62 aB	53,76 abA	33,70 a
T3	8,00 aD	20,80 aC	39,08 aB	51,91 aA	59,68 aA	35,90 a
T4	8,17 aC	18,63 aB	39,26 aA	46,45 aA	49,03 bA	32,31 a
Média	8,02 E	21,67 D	38,27 C	46,65 B	52,56 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 13,31

Entretanto, quando avaliada a produção de massa seca de folhas (MSF) de *O.basilicum* L., é constatado que a maior concentração de NaCl promoveu a redução desta variável. Sendo que na comparação entre as médias dos tratamentos de irrigação, o tratamento T4 (30 mM NaCl) foi significativamente reduzido em relação ao tratamento menos concentrado T2 (15 mM NaCl). O tratamento T1 (controle) e T3 (água de reuso) não diferiu dos demais tratamentos avaliados (Tabela 16).

Na comparação das médias das épocas de amostragem, a produção de MSF mostrou diferença significativa. A primeira e segunda época apresentou os menores valores para MSF. Os maiores valores observados foram nas épocas seguintes de forma coerente com o desenvolvimento das plantas até o término do experimento. Para este parâmetro, não foi encontrada interação significativa entre as diferentes qualidades de água e épocas (Tabela 16).

Tabela 16. Massa seca de folha (g planta⁻¹) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Massa seca de folha (g planta ⁻¹)					Média
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	2,86 aC	5,72 aB	7,00 aAB	8,25 aA	7,16 aAB	6,20 ab
T2	3,16 aC	5,49 aB	7,19 aAB	6,95 aAB	8,78 aA	6,31 a
T3	2,74 aB	5,47 aA	6,62 aA	6,68 aA	7,17 aA	5,74 ab
T4	2,86 aB	4,44 aAB	6,38 aAB	6,47 aA	6,70 bA	5,37 b
Média	2,90 C	5,28 B	6,80 A	7,09 A	7,45 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 15,32

Curiosamente, o maior acúmulo de MSF ocorreu em T2. O mesmo resultado é observado para a massa seca total (MST) das plantas que considera a soma da MSF, MSC e massa seca de raiz (MSR), este fato é um indicativo que na menor concentração de NaCl, as plantas podem ter investido mais em MSR, que embora não seja significativo é numericamente maior nos tratamentos T1, T2 e T3, e pode ter resultado em uma maior produção de MST (Tabela 17).

Tabela 17. Massa seca total de folha, caule e raiz (g planta^{-1}) em plantas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Massa seca total de folha, caule e raiz (g planta^{-1})						
Tratamentos	Épocas					Média
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	5,14 aD	12,19 aC	16,81 aB	21,64 aA	24,08 aA	15,97 ab
T2	5,92 aD	11,74 aC	17,45 aB	20,79 aB	27,51 aA	16,68 a
T3	5,30 aE	11,86 aD	17,02 aC	21,28 aB	26,53 aA	16,40 ab
T4	5,39 aD	10,24 aC	16,96 aB	19,25 aB	23,93 aA	15,15 b
Média	5,44 E	11,51 D	17,06 C	20,74 B	25,51 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 9,57

É importante ressaltar que a produção de MST não foi afetada pela irrigação com água de reuso apresentando resultados similares ao controle (Tabela 17). Bione et al. (2014), afirma que a cultura de *O.basilicum* L., pode ser classificada como tolerante aos níveis de salinidade da água de irrigação até valores de $1,70 \text{ dS m}^{-1}$, e para valores entre $3,80$ e $6,08 \text{ dS m}^{-1}$ classificada como moderadamente sensível, seguindo os critérios apresentados por Fogeria et al. (2010).

Para a MSC, a aplicação das diferentes qualidades de água não alterou significativamente este parâmetro. Independentemente de não haver interação significativa entre os fatores pelo teste F, verificou-se que T3 apresentou MSC superior ao T1 na sexta época pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. É importante ressaltar, que mesmo não sendo significativo, T3 apresentou MSC numericamente superior aos demais tratamentos a partir da quinta época, demonstrando uma provável aceleração do acúmulo de biomassa de caule nas últimas épocas amostradas (Tabela 18).

Com relação as épocas, os resultados demonstraram diferenças significativas para a MSC sendo que, para este componente na sexta época observou-se o maior valor na produção quando comparado as épocas amostradas anteriormente. Este resultado é coerente ao desenvolvimento natural das plantas no decorrer do experimento (Tabela 18).

Tabela 18. Massa seca de caule (g planta⁻¹) em plantas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Massa seca de caule (g planta ⁻¹)					Média
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	1,09 aE	3,50 aD	6,23 aC	8,94 aB	12,05 bA	6,36 a
T2	1,18 aD	3,67 aC	7,03 aB	8,83 aB	13,70 abA	6,88 a
T3	1,10 aE	3,58 aD	6,87 aC	9,76 aB	14,58 aA	7,18 a
T4	1,15 aC	3,19 aC	7,78 aB	8,93 aB	12,47 abA	6,70 a
Média	1,13 E	3,49 D	6,98 C	9,12 B	13,20 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 15,15

Quando avaliada a relação entre a produção de folhas e caule não é observada significância nos resultados em função da aplicação das diferentes qualidades de água. Nesta variável quanto maior a razão, menor é a quantidade de caules, e maior a quantidades de folhas que é componente de maior interesse na cultura de *O.basilicum* L. Houve efeito significativo das épocas de amostragem sobre esta relação, que apresentou os maiores valores nas primeiras época, sendo reduzida gradativamente com decorrer das épocas de amostragem. Este resultado demonstra que quanto mais avançado o estadio fenológico da cultura, menor a relação das massas de folha/caule (Figura 29).

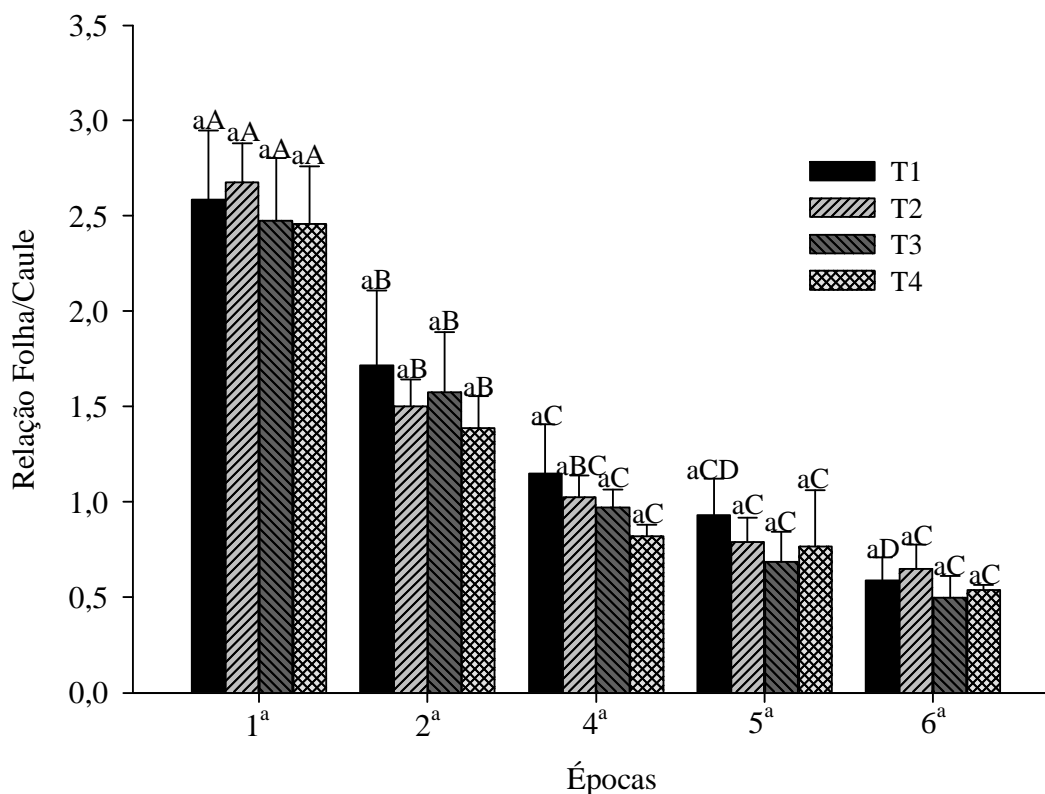


Figura 29. Relação folha/caule em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigado com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 17,16.

Para a MSR, houve diferença significativa somente para as épocas de amostragem. Neste resultado foi possível observar que a primeira época diferiu das demais apresentando o menor valor encontrado no peso da MSR. Os valores foram crescentes até a quinta época avaliada e mantidos na sexta época (Tabela 19).

Tabela 19. Massa seca de raiz (g planta⁻¹) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Massa seca de raiz (g planta ⁻¹)					Média
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	1,18 aC	2,96 aB	3,58 aAB	4,43 aA	4,86 aA	3,40 a
T2	1,57 aC	2,57 aBC	3,22 aB	5,00 aA	5,02 aA	3,48 a
T3	1,46 aC	2,80 aBC	3,51 aAB	4,83 aA	4,78 aA	3,48 a
T4	1,37 aC	2,60 aBC	2,79 aB	3,84 aAB	4,74 aA	3,07 a
Média	1,39 C	2,73 B	3,28 B	4,53 A	4,85 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 18,05

A produção da massa seca da parte aérea (Folha e Caule) (Tabela 20) não foi alterada significativamente pelos tratamentos aplicados na irrigação de *O.basilicum* L. Na comparação entre as épocas de amostragem, houve diferenças significativas, sendo que o maior acúmulo de massa seca da parte aérea das plantas foi evidenciado na sexta época. Na média geral das épocas, a produção de biomassa elevou-se gradativamente com o decorrer das épocas até o final do experimento. Salientando, que o tratamento controle (T1) atingiu o maior acúmulo de massa seca da parte aérea na quinta época mantendo-o na sexta época (Tabela 20).

Tabela 20. Massa seca da parte aérea (folha e caule) (g planta⁻¹) em plantas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Massa seca da parte aérea (folha e caule) (g planta ⁻¹)					Média
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	3,96 aD	9,22 aC	13,23 aB	17,20 aA	19,22 bA	12,56 a
T2	4,35 aD	9,16 aC	14,22 aB	15,79 aB	22,48 aA	13,20 a
T3	3,84 aD	9,06 aC	13,50 aB	16,45 aB	21,75 abA	12,92 a
T4	4,01 aD	7,63 aC	14,16 aB	15,40 aB	19,18 bA	12,08 a
Média	4,04 E	8,77 D	13,78 C	16,21 B	20,66 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% =11,30

Tarchouone et al. (2012 b) avaliando o efeito da salinidade sobre aspectos fisiológicos das plantas de *O.basilicum* L. cv. Genovese, observaram nas concentrações de 50 mM NaCl aplicados em solução hidropônica não promoveu alterações significativas na produção de massa seca das plantas.

4.3.4 Índices de crescimento

Baseado nos dados observados para área foliar e matéria seca/fresca dos diferentes órgãos vegetais, realizou-se um estudo de alocação por índices de crescimento. Estes índices permitem avaliar frações de biomassa investidos em diferentes partes da planta o que pode refletir estratégias de desenvolvimento e estabelecimento de tolerância aos fatores físicos ambientais estudados (água salina e água de reuso).

O parâmetro área foliar específica (*Specific Leaf Area - SLA*) é calculado dividindo-se a área foliar total de uma planta pela massa seca de suas folhas. Os valores encontrados nesta relação indicam a relação entre a área e a massa foliar. Neste experimento, não foi identificada diferença significativas entre as qualidades de água aplicada, bem como, entre as épocas de amostragem. (Tabela 21).

Tabela 21. Área foliar específica - *SLA* (cm^2 folhas g^{-1} MS_{folha}) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Área foliar específica (<i>SLA</i>) (cm^2 folhas g^{-1} MS_{folha})					Média
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	212,97 aA	203,38 aA	175,07 aA	185,50 aA	201,53 aA	195,70 a
T2	189,35 aA	202,32 aA	199,99 aA	179,02 aA	139,95 aA	182,14 a
T3	214,82 aA	199,16 aA	214,21 aA	202,83 aA	182,27 aA	202,66 a
T4	201,96 aA	201,02 aA	171,77 aA	198,02 aA	165,95 aA	187,75 a
Média	204,78 A	201,47 A	190,26 A	191,35 A	172,43 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 15,96

Embora não confirmada pela análise estatística aparentemente, os tratamentos salinos apresentaram uma diminuição da *SLA* na média dos tratamentos (Tabela 21). Considerando-se apenas como uma tendência, este efeito confirma uma reação que pode ser observada em muitas plantas hortícolas de ciclo curto em situação de estresse. Neste caso, a diminuição da área foliar parece ser uma estratégia para resistir ao efeito osmótico e iônico dos sais e manter o potencial hídrico elevado.

Da mesma forma, para o tamanho da superfície fotossintética em relação a massa respiratória das plantas, obtido pela relação entre a área foliar/massa seca total (*Leaf Area Ratio - LAR*) os menores resultados foram obtidos para os tratamentos salinos (T2 e T4), embora não sejam significativos. Neste parâmetro, foi observado

diferenças significativas apenas entre as épocas de amostragem que apontaram decréscimo gradual nas médias de todas as qualidades de água aplicada com o passar das épocas (Tabela 22).

Tabela 22. Taxa de superfície foliar - *LAR* (m^2 folhas g^{-1} MS planta) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Taxa de superfície foliar - <i>LAR</i> (m^2 folhas g^{-1} MS planta)					Média
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	0,0117 aA	0,0096 aAB	0,0071 aBC	0,0071 aBC	0,0058 aC	0,0083 a
T2	0,0101 aA	0,0095 aA	0,0082 aAB	0,0060 aBC	0,0045 aC	0,0076 a
T3	0,0112 aA	0,0092 aAB	0,0083 aAB	0,0063 aBC	0,0049 aC	0,0080 a
T4	0,0108 aA	0,0087 aAB	0,0064 aBC	0,0065 aBC	0,0046 aC	0,0074 a
Média	0,0110 A	0,0092 B	0,0075 C	0,0065 CD	0,0050 D	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 16,50

Segundo Benincasa (2003), o tamanho da superfície fotossintética em relação a massa respiratória, representa à área foliar útil para a fotossíntese, sendo relação entre a área foliar, responsável pela interceptação da energia luminosa e CO₂ absorvido, e a massa seca total, resultado da fotossíntese. Seria plausível a ocorrência do decréscimo de *LAR* em plantas cultivadas sob estresse salino, como mecanismo para diminuir a perda de água em função da elevada área foliar. No entanto, apenas na comparação entre as épocas houve decréscimo gradual para todos os tratamentos, o que provavelmente ocorreu em resposta ao desenvolvimento natural da cultura, uma vez que isto ocorreu também para o controle (Tabela 22).

A fração da biomassa total alocada nas folhas (*LWR- Leaf Weight Ratio*) em *O.basilicum* L. (Tabela 23), demonstra que a aplicação do tratamento de irrigação com maior salinidade (T4), reduziram gradualmente a biomassa foliar, aparentemente, em um ritmo mais acelerado que os demais tratamentos. Em relação ao tratamento de irrigação com água de reuso, também houve decréscimo de *LWR*, porém apenas a partir da quarta época de amostragem, similar ao observado para o T2 e T1. Como o interesse comercial desta cultura baseia-se principalmente no aproveitamento das folhas, a aplicação de água de reuso, que embora numericamente menor as médias dos demais tratamentos, não afetou a *LWR* (Tabela 23).

Tabela 23. *LWR* (g MS de folhas g⁻¹ MS total) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	<i>LWR</i> (g MS de folhas g ⁻¹ MS total)					Média
	Épocas					
	1 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	0,55 aA	0,47 aAB	0,41 aB	0,38 aBC	0,29 aC	0,42 a
T2	0,53 aA	0,46 aAB	0,41 aBC	0,33 aCD	0,31 aD	0,41 a
T3	0,52 aA	0,46 aAB	0,38 aBC	0,31 aCD	0,26 aD	0,39 a
T4	0,53 aA	0,43 aB	0,37 aBC	0,33 aCD	0,27 aD	0,39 a
Média	0,53 A	0,45 B	0,39 C	0,34 CD	0,29 E	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 9,64

Motos (2014), demonstrou que a água de reuso utilizada na irrigação com condutividade elétrica (CE) de 8 dS m⁻¹, foi capaz de promover redução de *SLA* e o aumento de *LWR* em plantas ornamentais de *Eugenia myrtifolia* e *Myrtus commun*. Entretanto, as alterações destas variáveis são observados com níveis de salinidade mais elevados do que os aplicados no presente estudo. Desta forma a avaliação dos índices de crescimento não foi capaz de identificar significativamente ocorrências de alterações promovidas pelo aumento da salinidade neste experimento.

4.4 Composição dos nutrientes

4.4.1 Composição dos nutrientes foliares

Dentre os fatores estudados para caracterizar os efeitos do estresse salino, bem como a capacidade das plantas em tolerar a salinidade, deve-se atentar para o estado nutricional das planta (DIAS; BLANCO, 2010). A elevação da concentração de Na no solo pode interferir diretamente sobre a absorção radicular de outros nutrientes, como K e Ca. Segundo Yoshida, (2002) em função de compartilharem o mesmo co-transportador membranar K e Na são elementos competidores durante o processo de absorção radicular, desta forma o suprimento adequado de K é fundamental para minimizar a absorção de Na. Além disso, a capacidade de manter elevados teores de K e Ca e baixos teores de Na nos tecidos vegetais é um mecanismo chave para a maior tolerância a salinidade (DIAS; BLANCO, 2010).

Neste estudo foram avaliados os efeitos das diferentes qualidades de água sobre a condição nutricional dos tecidos vegetais, bem como, as alterações promovidas pelos tratamentos sobre a solução do solo.

A irrigação de *O.basilicum* L. com diferentes qualidades de água promoveu alterações nas concentrações foliares dos nutrientes enxofre (S), manganês (Mn) e zinco (Zn) (Tabela 25).

O tratamento salino 15mM NaCl (T2), reduziu a concentração de S foliar em comparação ao controle (T1), não diferindo dos demais tratamentos. Houve interação significativa entre os fatores (tratamento de irrigação e épocas) apenas este elemento que apresentou-se mais elevado para o T3 e T4 na terceira época diminuindo significativamente na sexta época (Tabela 25). Pelo contrário, os elementos Mn, que apresentou maior acúmulo nas folhas das plantas de T2 e T4 (30 mM NaCl) e o elemento Zn, que apresentou aumento em T4 apresentaram acúmulo foliar superior ao observado em T1. Embora não tenha ocorrido diferenças significativas para o elemento sódio (Na), os tratamentos que receberam NaCl T2 e T4, apresentam concentrações deste elemento numericamente superiores ao T1 e T3 (água de reuso). É importante salientar que para este elemento o acúmulo ocorrido para T1 e T3 são semelhantes (Tabela 25).

A concentração foliar dos elementos nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), foi reduzida significativamente na sexta época de amostragem quando comparada a terceira época. Pelo contrário, observou-se aumento no acúmulo dos elementos cálcio (Ca), Mn e Na nas folhas durante a sexta época de amostragem (Tabela 25).

A concentração de nitrogênio foliar foi reduzida de forma generalizada na sexta época de amostragem, resultado provavelmente atribuído aos eventos de senescência e efeito tóxico do Na e Cl liberados pela dissociação do NaCl.

A avaliação dos nutrientes foliares apontou elevação significativa de Na em *O.basilicum* L. na sexta época de amostragem em comparação a terceira. Notou-se que a elevação de Na coincide com a redução ocorrida para potássio (K), que também ocorreu na sexta época de amostragem em comparação a terceira. Este fato pode ser indicativo da ocorrência de antagonismo entre K e Na, sendo que a elevação de Na provavelmente favoreceu a sua absorção em detrimento à absorção de K. Quando comparados as diferentes qualidades de água é observado maior acúmulo foliar de Na nos tratamentos salinos T2 e T4, embora estes resultados não sejam estatisticamente

significativos. Interessante notar que o tratamento com água de reuso, embora tenha acumulado menos Na nas folhas de manjeriço quando comparado aos tratamentos com NaCl, também apresentou redução do potássio foliar na sexta época de amostragem (Tabela 25).

Destacada a importância do K em diversos processos metabólicos das plantas como a manutenção do potencial osmótico e controle da turgidez das células, abertura e fechamento dos estômatos, melhor eficiência no uso da água, resistência a seca, geada e salinidade, entre outros (TAIZ; ZEIGER, 2013), é esperado que a absorção de íons competitivos ocorra em condições desfavoráveis a absorção de K, como por exemplo, em alta concentração do íon competidor.

Desta forma a relação da concentração de K e o íon competitivo Na pode demonstrar a habilidade das plantas em preferir o K ao invés do íon danoso Na em condições de salinidade. A manutenção desta relação em valores elevados é um indicativo da capacidade das plantas em tolerar a salinidade (Yoshida, 2002).

Tabela 24. Relação foliar de K/Na em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Épocas		Média
	3 ^a	6 ^a	
T1	252,22 aA	110,88 aB	181,55 a
T2	197,81 aA	87,44 aB	142,63 a
T3	261,11 aA	103,00 aB	182,05 a
T4	214,80 aA	80,02 aB	147,41 a
Média	231,48 A	95,33 B	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 35,39%

Quando analisada a relação K/Na observa-se que não houve alteração significativa entre as diferentes qualidades da água de irrigação. Somente houve redução significativa destes valores na sexta época na média dos tratamentos. Este resultado indica uma provável capacidade das plantas de *O.basilicum* L. evitar o acúmulo de Na nas folhas mesmo nos tratamentos com condições de salinidade mais elevada T2 e T4. Este processo pode ser melhor analisado quando considerado o acúmulo de sódio ocorrido nas raízes das plantas.

Tabela 25. Composição dos nutrientes das folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Elemento g kg ⁻¹	Época	Tratamentos				Média	CV%	Elemento mg kg ⁻¹	Época	Tratamentos				Média	CV%
		T1	T2	T3	T4					T1	T2	T3	T4		
N	3 ^a	20 bA	22 abA	25 aA	23 abA	22 A	10,4	B	3 ^a	33 aA	38 aA	47 aA	41 aA	40 A	16,53
	6 ^a	15 aB	14 aB	16 aB	13 aB	15 B			6 ^a	44 aA	43 aA	42 aA	38 aA	42 A	
	Média	17 a	18 a	20 a	18 a				Média	39 a	40 a	45 a	40 a		
P	3 ^a	1,8 aA	1,7 aA	1,9 aA	1,9 aA	1,8 A	9,37	Cu	3 ^a	5,0 aA	5,0 aA	5,0 aA	5,0 aA	5,0 A	12,05
	6 ^a	1,3 aB	1,4 aB	1,2 aB	1,2 aB	1,3 B			6 ^a	4,6 aA	4,0 aB	5,0 aA	4,6 aA	4,5 A	
	Média	1,5 a	1,5 a	1,6 a	1,5 a				Média	4,8 a	4,5 a	5,0 a	4,8 a		
K	3 ^a	13 aA	13 aA	15 aA	14 aA	14 A	19,61	Fe	3 ^a	138 aA	130 aA	153 aA	142 aA	141 A	17,61
	6 ^a	10 aA	11 aA	10 aA	11 aA	11 B			6 ^a	145 aA	142 aA	143 aA	150 aA	145 A	
	Média	12 a	12 a	13 a	13 a				Média	142 a	136 a	148 a	146 a		
Ca	3 ^a	15 aB	19 aA	19 aA	19 aA	18 B	14,77	Mn	3 ^a	30 aA	45 aB	35 aB	48 aB	39 B	21,78
	6 ^a	21 aA	21 aA	21 aA	21 aA	21 A			6 ^a	45 bA	72 aA	62 abA	67 abA	61 A	
	Média	18 a	20 a	20 a	20 a				Média	38 b	58 a	49 ab	57 a		
Mg	3 ^a	7 aA	8 aA	9 aA	10 aA	8,73 A	17,86	Zn	3 ^a	35 aA	41 aA	39 aA	46 aA	40 A	16,14
	6 ^a	8 aA	10 aA	9 aA	9 aA	9,59 A			6 ^a	33 bA	46 abA	43 abA	49 aA	43 A	
	Média	7 a	9 a	9 a	10 a				Média	34 b	44 ab	41 ab	48 a		
S	3 ^a	2,3 abA	1,9 bA	2,5 abA	2,5 aA	2,3 A	11,08	Na	3 ^a	53 aA	70 aA	60 aA	76 aA	65 B	51,03
	6 ^a	2,2 aA	1,5 bA	1,6 bB	1,6 bB	1,8 B			6 ^a	100 aA	136 aA	103 aA	136 aA	119 A	
	Média	2,3 a	1,7 b	2,0 ab	2,1 ab				Média	76 a	103 a	81 a	106 a		

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.4.2 Concentração de nutrientes na raiz de *O. basilicum* L.

Nas análises de nutrientes das raízes em plantas *O. basilicum* L., as diferentes qualidades de água, promoveram alterações na concentrações dos elementos K, Na, N, P, Mg e Zn . O acúmulo radicular de K, foi reduzido nos tratamentos com NaCl e água de reuso quando comparado ao controle de forma semelhante o acúmulo de Mg foi reduzido nestes tratamentos, embora T2 não tenha diferido do controle.

T2 e T3, também apresentaram acúmulo elevado de N na raiz sendo estatisticamente superior a T1 e T4. O acúmulo de P, foi maior nos tratamentos com NaCl e T3. Entretanto, apenas T2 diferiu do controle. O elemento Zn, apresentou acúmulo significativamente superior em T2 em comparação a T1 e T3 (Tabela 27).

A concentração radicular de N, P, K, Mg, Cu e Zn, foi reduzida significativamente na sexta época de amostragem quando comparada a terceira época. Pelo contrário, observou-se aumento no acúmulo dos elementos Ca, B e Fe nas raízes durante a sexta época de amostragem. Não houve interação significativa entre os fatores (tratamento de irrigação e épocas) para nenhum dos elementos avaliados (Tabela 27).

Os resultados obtidos demonstram acúmulo significativamente superior de Na nos tratamentos salinos em comparação a T1. T3 não diferiu de T1, indicando que este tratamento não promoveu acúmulo de sais nas raízes de *O. basilicum* L.

Quando considerado que não houve acúmulo significativo de Na nas folhas de *O. basilicum* L., mesmo nos tratamentos onde o acúmulo deste elemento foi significativamente maior nas raízes, deve-se considerar que estas plantas de alguma forma evitam a elevação deste elemento para as folhas, pelo menos nos níveis de salinidade estudados. Tester e Ravenport (2003), Jha et al. (2010) relatam que a tolerância das plantas a salinidade pode ocorrer através de mecanismos distintos: a resistência celular individual, normalmente por compartimentalização do Na nos vacúolos das células e ainda mecanismos de raparo de danos. Estes mecanismos podem afetar todas as células conferindo a planta, como um todo, resistência a salinidade. Controle da movimentação do Na entre os diferentes tecidos das plantas, impedindo por exemplo que o excesso de sais atinja as folhas, ou ainda, a habilidade de excluir o Na radicular.

Neste estudo processos de tolerância parecem estar acontecendo de forma associada. Em primeira instância o Na absorvido pelas raízes não alcança na totalidade as folhas. De outra maneira as plantas respondem a presença de Na com a

ativação de enzimas de combate a moléculas oxidativas, evidenciada nas Figuras 33 e 34. Estes mecanismos associados podem contribuir para evitar os danos da salinidade e conferir determinado grau de tolerância das plantas a salinidade.

A análise da relação K/Na nos tecidos radiculares demonstrou que os tratamentos salinos T2 e T4 e a água de reuso T3 promoveram redução significativa desta relação em comparação ao controle em ambas as épocas de avaliação. Da mesma forma para as médias dos tratamentos o tratamento controle foi superior aos demais nesta variável.

Tabela 26. Relação radicular de K/Na em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Épocas		Média
	3 ^a	6 ^a	
T1	2,58 aA	1,89 aB	2,23 a
T2	0,66 bA	0,25 bA	0,45 b
T3	0,97 bA	0,55 bA	0,76 b
T4	0,41 bA	0,31 bA	0,36 b
Média	1,15 A	0,75 B	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 37,11

Em T2 a redução desta relação esta associada a elevação do teor de Na nos tecidos, uma vez que, a concentração de K não foi significativamente reduzida. Para T4 a queda dos valores de K/Na foi promovida pela significativa queda do teor de K nos tecidos das raízes, evidenciando o efeito antagônico entre estes dois elementos

Tabela 27. Composição dos nutrientes das raízes das plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Elemento	Época	Tratamentos				Média	CV%	Elemento	Época	Tratamentos				Média	CV%
		T1	T2	T3	T4					T1	T2	T3	T4		
N	3 ^a	9 bA	11 aA	11 aA	9 bA	10 A	8,16	B	3 ^a	63 aA	66 aA	71 aA	74 aB	68 B	19,99
	6 ^a	6 aB	8 aB	8 aB	7 aB	7 B			6 ^a	80 aA	78 aA	77 aA	104 aA	85 A	
	Média	8 c	9 ab	9 a	8 bc				Média	72 a	72 a	74 a	89 a		
P	3 ^a	1,0 bA	1,4 aA	1,0 abA	1,1 abA	1,1 A	14,56	Cu	3 ^a	13 aA	13 aA	13 aA	14 aA	13 A	7,95
	6 ^a	0,9 aA	1,0 abA	0,9 aA	1,0 aA	1,0 B			6 ^a	13 aA	11 abA	10 bA	11 abB	11 B	
	Média	0,9 b	1,2 a	1,0 ab	1,1 ab				Média	13 a	12 a	12 a	12 a		
K	3 ^a	9 aA	6 abA	6 abA	5 bA	7 A	21,66	Fe	3 ^a	3469 aA	2295 bB	2903 abB	2857 abA	2881 B	15,07
	6 ^a	7 aA	4 bA	5 abA	3 bB	5 B			6 ^a	4001 aA	3591 aA	3788 aA	3638 aA	3754 A	
	Média	8 a	5 b	6 b	4 b				Média	3735 a	2943 a	3345 a	3247 a		
Ca	3 ^a	6 Ab	6 aB	6 aB	5 aB	6 B	9,28	Mn	3 ^a	60 aA	58 abA	43 abA	37 bA	49 A	20,15
	6 ^a	8 aA	8 aA	8 aA	8 aA	8 A			6 ^a	46 aA	38 aB	43 aA	44 aA	43 A	
	Média	7 a	7 a	7 a	6 a				Média	53 a	48 a	43 a	40 a		
Mg	3 ^a	14 aA	9 bA	9 bA	9 bA	10 A	18,18	Zn	3 ^a	56 bA	78 aA	64 abA	63 abA	65 A	15,72
	6 ^a	8 aB	8 aB	6 aB	6 Ab	7 B			6 ^a	32 bB	58 aB	33 bB	48 abA	43 B	
	Média	11 a	9 ab	7 b	7 b				Média	44 b	68 a	49 b	55 ab		
S	3 ^a	2,0 aA	1,9 aA	1,9 aA	1,9 aA	1,9 A	8,69	Na	3 ^a	3683 bA	11066 abB	8503 abA	14450 aA	9425 A	33,64
	6 ^a	1,8 bA	2,0 bA	2,2 aA	1,8 bA	1,9 A			6 ^a	4143 cA	18366 aA	9866 bcA	16266 abA	12160 A	
	Média	1,9 a	1,9 a	2,0 a	1,8 a				Média	3913 c	14716 ab	9185 bc	14358 a		

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.4.3 Composição mineral da solução do solo

A composição mineral da solução do solo foi analisada somente ao final do experimento na sexta época de amostragem. A comparação entre os tratamentos, demonstrou que os valores da condutividade elétrica (CE) foram proporcionais à concentração de sal para os tratamentos com NaCl. A água de reuso, também apresentou CE cerca de quatro vezes maior que o controle (T1), devido a sua concentração salina, principalmente de Na (Tabela 28). Os teores de Na foram significativamente elevados em T4 e T2, diferindo de T1 e T3 que não diferiram entre si.

T4 e T2 também apresentaram elevação significativa de Ca diferindo de T1. Esta elevação foi detectada para água de reuso (T3) porém este tratamento não diferiu dos demais para o acúmulo deste nutriente (Tabela 28).

Conforme já discutido na análise nutricional em folhas de *O. basilicum* L., a presença de sais adicionais na água de reuso pode estar impondo taxas de antagonismo entre estes cátions e o Na liberado em massa pela dissociação do NaCl. No caso de água de reuso, como já especificado anteriormente, há presença de Na devido a origem de sua captação na estação de tratamento de esgoto (ETE). Entretanto nos tratamentos salinos a concentração deste elemento é superior.

O aumento da concentração de sais na solução do solo em torno das raízes induz o aumento no fluxo de íons na direção das células da epiderme, acarretando na elevação das concentrações iônicas no apoplasto, nas proximidades da membrana plasmática (SILVEIRA et al., 2010). A existência de transportadores específicos de membrana promove a entrada de íons para o citosol. No caso do K e do Na, que compartilham o mesmo transportador, a ligação dos sais ao transportador de membrana é facilitada pelo aumento da concentração dos íons na solução do solo. Entretanto o aumento desproporcional da concentração dos íons irá favorecer o transporte do mais concentrado.

Neste estudo a concentração do íon K na solução do solo foi numericamente mais elevada nos tratamentos salinos, indicando uma menor absorção deste íon por parte das plantas nestes tratamentos. Esta informação torna-se mais consistente quando observado que a concentração de K é numericamente inferior nos tecidos radiculares das plantas dos mesmos tratamentos. Este resultado é um indicativo da ocorrência de antagonismo entre Na e K.

O elemento fosforo (P) foi significativamente superior no tratamento T2 quando comparados a T3 e T4. Embora não significativos, os cátions como K e Mg foram numericamente inferiores no tratamento T1 (Controle). Da mesma forma, a concentração de cálcio (Ca) foi inferior em T1 em comparação aos tratamentos que receberam NaCl (T2 e T4). Para o elemento Na, houve acúmulo significativamente superior nos T2 e T4 sendo mais elevado em T4. O acúmulo de Na em T3 não diferiu do T1(Tabela 37).

Tabela 28. Composição mineral, pH e condutividade elétrica da solução do solo durante cultivo de *Ocimum basilicum* L. ao final do ciclo vegetativo

Tratamentos	P	K	Ca	Mg	Na	pH	CE
	----- $\mu\text{g L}^{-1}$ -----						mS m^{-1}
T1	0,63 ab	7,66 a	27,66 b	14,66 a	113,33 c	7,55 a	0,23 c
T2	0,67 a	14,00 a	142,33 a	75,00 a	30600,00 b	6,95 a	2,77 b
T3	0,54 b	9,33 a	86,33 ab	54,66 a	4656,66 c	7,52 a	0,91 c
T4	0,54 b	12,66 a	135,33 a	73,00 a	72933,34 a	6,79 a	4,72 a
CV%	6,54	26,71	39,67	51,55	20,74	5,15	28,14

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores da CE foram proporcionais à concentração de sal, sendo mais elevados para os tratamentos suplementados com NaCl (T2 e T4). A água de reuso (T3), não diferiu do T1. Os tratamentos não alteraram o pH da solução do solo (Tabela 28).

4.5 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila

4.5.1 Trocas gasosas: Fotossíntese e condutância estomática

Vários autores tem avaliados parâmetros como a fotossíntese, condutância estomática, fluorescência, índices relativo de clorofila entre outros parâmetros, para mensurar a resposta fisiológica da salinidade nas plantas (NIU; CABRERA, 2010; CHAVES et al., 2011; ÁLVAREZ et al., 2012). Entretanto, da mesma forma que os índices de crescimento, os parâmetros avaliados para trocas gasosas parecem não ter sido suficientemente sensíveis para indicar alterações promovidas pela aplicação das diferentes qualidades de água do presente estudo. Como relatado para várias espécies, o sal e seu efeito osmótico e iônico podem interferir com as trocas gasosas, principalmente assimilação líquida de CO_2 e condutância estomática. Entretanto, mesmo o tratamento de

30 mM de NaCl parece não ter sido estressante o suficiente para induzir este efeito de forma mais evidente mesmo promovendo redução leve do potencial hídrico (ψ_w) das plantas.

Desta forma os resultados dos parâmetros de trocas gasosas não evidenciaram grandes alterações em função da aplicação dos tratamentos de irrigação suplementados com NaCl e água de reuso. As avaliações de todos os parâmetros de trocas gasosas como: assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO₂ (C_i) e transpiração (E) não apontaram efeito significativo da aplicação dos tratamentos com diferentes qualidades de água de irrigação (Tabelas 29, 30, 31 e 32). Da mesma forma quando avaliada a interação entre as diferentes qualidades de água aplicada e épocas de amostragem, não foi encontrada significância para os parâmetros avaliados.

Tabela 29. Assimilação líquida de CO₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Assimilação líquida de CO ₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)						Média
	Épocas						
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	25,07 aA	18,72 aB	15,30 aB	8,87 aC	7,01 aCD	4,45 aD	13,24 a
T2	21,63 aA	18,05 aA	12,50 aB	8,76 aBC	7,70 aC	5,71 aC	12,39 a
T3	23,45 aA	16,28 aA	12,82 aBC	9,82 aC	8,91 aCD	5,55 aD	12,81 a
T4	24,53 aA	15,13 aA	13,08 aB	11,20 aC	7,24 aCD	4,60 aD	12,63 a
Média	23,67 A	17,05 B	13,43 C	9,66 D	7,71 D	5,08 E	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% =12,95

Tabela 30. Condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Condutância estomática (g_s) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)						Média
	Épocas						
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	0,43 aA	0,39 aA	0,33 aA	0,12 aB	0,06 aB	0,06 aB	0,23 a
T2	0,38 aA	0,36 aA	0,26 aA	0,10 aB	0,08 aB	0,07 aB	0,21 a
T3	0,38 aA	0,30 aAB	0,23 aBC	0,14 aCD	0,10 aCD	0,05 aD	0,20 a
T4	0,47 aA	0,31 aB	0,30 aB	0,15 aC	0,07 aC	0,05 aC	0,22 a
Média	0,42 A	0,34 B	0,28 B	0,13 C	0,08 C	0,06 C	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 27,57

Tabela 31. Transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)						Média
	Épocas						
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	9,99 aA	9,02 aA	5,60 aB	1,77 aC	1,24 aC	1,00 aC	4,77 a
T2	9,13 aA	7,25 aAB	4,80 aB	1,71 aC	1,57 aC	1,26 aC	4,29 a
T3	8,66 aA	7,21 aAB	4,59 aBC	1,90 aCD	1,78 aD	1,11 aD	4,21 a
T4	9,91 aA	7,00 aB	4,89 aBC	2,27 aCD	1,37 aD	1,05 aD	4,42 a
Média	9,42 A	7,62 B	4,97 C	1,91 D	1,49 D	1,11 D	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV%: 25,27

Tabela 32. Concentração intercelular de CO_2 (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Concentração intercelular de CO_2 (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$)						Média
	Épocas						
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	256,09 aAB	279,86 aA	280,55 aA	246,37 aAB	199,29 aB	244,97 aAB	251,19 a
T2	255,55 aAB	266,76 aAB	284,14 aA	233,88 aAB	222,78 aB	250,90 aAB	252,33 a
T3	252,41 aA	268,66 aA	277,39 aA	249,85 aA	224,87 aA	249,31 aA	253,75 a
T4	264,67 aA	281,75 aA	278,75 aA	237,04 aAB	202,65 aB	242,97 aAB	251,31 a
Média	257,18 ABC	274,26 AB	280,21 A	241,79 CD	212,4 D	247,04 BC	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV%: 9,88

Para todos os parâmetros avaliados houve efeito significativo entre as épocas de avaliação sobre os resultados obtidos. A , g_s e E foram reduzidos significativamente conforme avanço das épocas de avaliação (Figura 30). A variável C_i foi significativamente reduzida em todas as diferentes qualidades de água na quinta época de avaliação, com exceção do tratamento com água de reuso (T3) que manteve-se elevado em todas as épocas (Tabela 32).

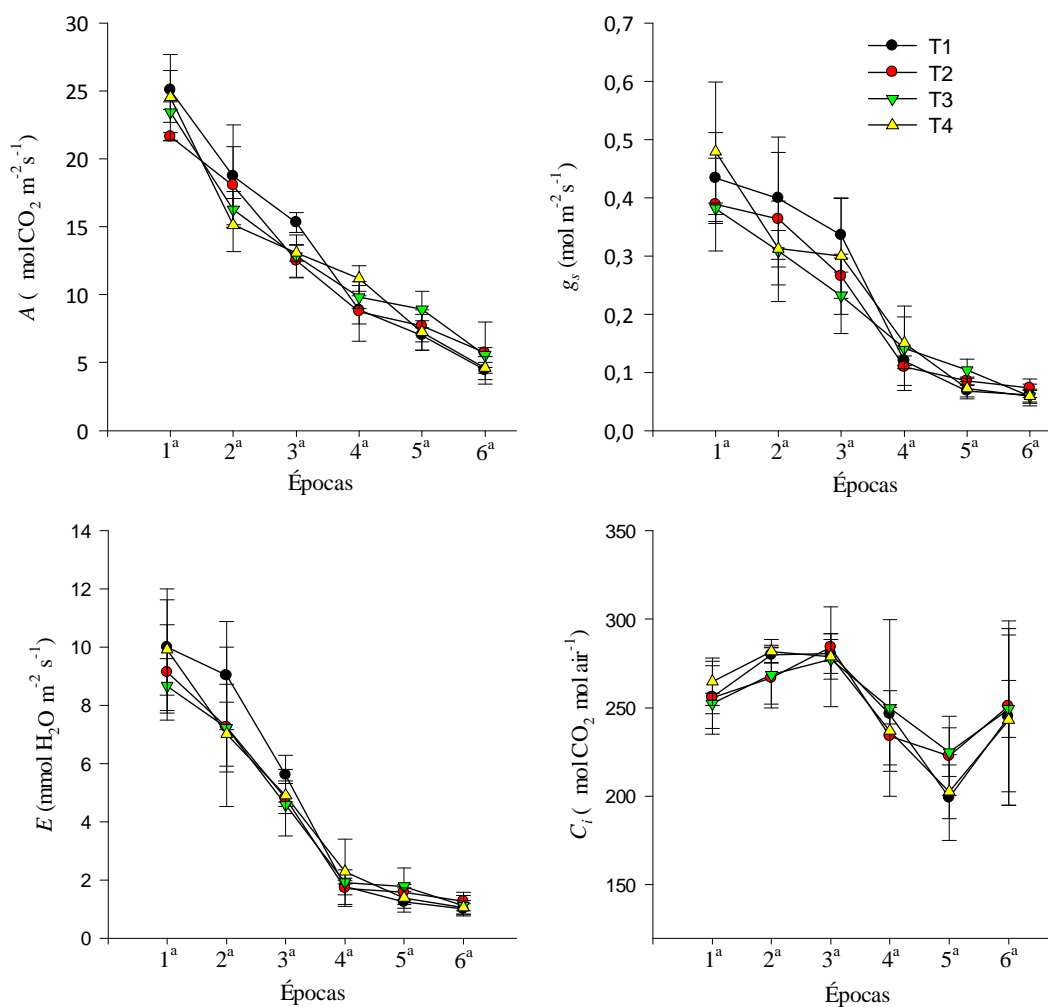


Figura 30. Trocas gasosas: Assimilação líquida de CO₂ (A); condutância estomática (g_s); concentração intercelular de CO₂ (C_i) e transpiração (E) em plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl) em diferentes épocas de amostragem.

Segundo Larcher (1995) diversos processos celulares são afetados pela redução do ψ_w anteriormente a fotossíntese, como a expansão celular e outros processos sensíveis a perda de turgidez das células. Desta forma, o carbono assimilado e não utilizado para o crescimento poderia ser alocado para outros processos (HERMES; MATSON, 1992). Resultados semelhantes foram encontrados por Tarchoune et al. (2012b) que observou redução de A , E e g_s em função da irrigação do *O. basilicum* L. com NaCl apenas na concentração de 50 mM, não observando efeito em concentrações menores.

4.5.2 Fluorescência da clorofila no fotossistema II - FSII (F_v/F_m)

Os parâmetros associados a fluorescência da clorofila foram efetivos em indicar a ocorrência de alterações promovidas pela aplicação dos tratamentos. O parâmetro F_o (fluorescência mínima ou inicial) representa a emissão de luz pela molécula de clorofila “a” quando esta encontra-se em estado de excitação anterior à dissipação da energia para os centros de reação do fotossistema II, em uma condição em que todos os aceptores de elétrons quinona (Qa) estejam em estado oxidado, sendo que esta forma de dissipação de energia ocorre independentemente dos eventos fotoquímicos. Este parâmetro é utilizado como referência para a determinação dos demais parâmetros relacionados a fluorescência, entretanto F_o pode ser alterado por fatores que alterem a estrutura dos pigmentos fotossintéticos ou em caso de danos aos centros de reação do fotossistema II (MATHIS; PAILLOTIN, 1981; KRAUSE; WEIS, 1984; CONROY, 1986).

As medidas de fluorescência de clorofila tiveram o objetivo de avaliar se os tratamentos (T2 e T4) suplementados com 15 e 30 mM NaCl respectivamente poderiam provocar danos ao aparato fotossintético, em função do aumento da concentração de NaCl na água de irrigação ou mesmo devido a carga iônica na água de reuso (T3) (Tabela 33).

Esta hipótese não foi confirmada estatisticamente, pois quando avaliado isoladamente as diferentes qualidades de água aplicada, não houve alteração significativa em nenhum parâmetro relacionado a fluorescência da clorofila (F_o , F_m e F_v/F_m). Embora tenha promovido uma redução numérica nos tratamentos T2 e T4 para a variável F_v/F_m (Tabela 33).

Quando avaliada a interação das diferentes qualidades de água vs. épocas de amostragem, evidencia-se uma redução significativa dos tratamentos salinos (T2 e T4) especificamente na quarta época quando estes diferiram dos demais, indicando a ocorrência de estresse nestes tratamentos (Tabela 33). A variável F_v/F_m reflete a máxima eficiência do fotossistema II e é uma boa medida da saúde do FS II. Valores ótimos de F_v/F_m medido em várias espécies encontraram-se próximos de 0,83 (BJORKMAN; DEMMIG, 1987). Na quinta e última época de avaliação, estes tratamentos reassumiram valores de plantas saudáveis. Para o tratamento controle (T1) e água de reuso (T3) não foram verificadas alterações significativas de F_v/F_m em função de quais quer fatores

avaliados. Schottler et al. (2002) encontraram uma drástica redução de F_v/F_m após salinização das plantas.

Tabela 33. Fluorescência mínima (F_o), Fluorescência máxima (F_m) e Máxima eficiência do fotossistema II (F_v/F_m) em *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl)

Fluorescência Mínima (escuro) (F_o)				
Tratamentos	Épocas			Média
	3^a	4^a	5^a	
T1	453,75 aA	388,82 bcA	430,94 aA	424,50 a
T2	333,32 aB	752,01 aA	391,41 aB	492,24 a
T3	371,24 aA	315,45 cA	558,66 aA	415,11 a
T4	393,27 aA	632,11 abA	491,57 aA	505,65 a
Média	387,89 A	522,1 A	468,14 A	
CV%	29,19			
Fluorescência Máxima (escuro) (F_m)				
T1	2340,05 aA	2581,1 aA	2571,73 aA	2497,63 a
T2	2262,62 aA	2580,69 aA	2357,63 aA	2400,31 a
T3	2318,73 aA	2405,81 aA	2338,43 aA	2354,32 a
T4	2213,53 aB	2510,51 aAB	2683,59 aA	2469,21 a
Média	2283,73 B	2519,53 A	2487,84 AB	
CV%	8,36			
Máxima Eficiência do Fotossistema II (F_v/F_m)				
T1	0,80 aA	0,85 abA	0,83 aA	0,83 a
T2	0,85 aA	0,71 cB	0,83 aA	0,79 a
T3	0,84 aA	0,87 aA	0,76 aA	0,82 a
T4	0,82 aA	0,75 bcA	0,81 aA	0,79 a
Média	0,829 A	0,794 A	0,81 A	
CV%	6,57			

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Neste estudo houve elevação de F_o nas plantas irrigadas com T2 e T4 na quarta época, o que pode indicar a ocorrência de injúrias as moléculas de clorofila, bem como ao centro de reação do fotossistema II. A elevação em F_o nestes tratamentos refletiu em redução da máxima eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m) (0,71 para T2 e 0,75 para T4), o que segundo Bjorkman e Demmig (1987) é um indicativo da ocorrência de estresse, uma vez que para plantas saudáveis os valores desta relação situam-se próximos a 0,83. Na última avaliação, os valores para estes dois tratamentos restabeleceram os valores considerados normais. Por outro lado, as plantas irrigadas com

água de reuso não apresentaram alterações nos parâmetros da fluorescência semelhante às plantas irrigadas com água deionizada (T1) (Tabela 33).

Tratamentos estressantes como a salinidade, podem desencadear alterações no sistema de transporte de elétrons no aparato fotossintético, ocasionando a emissão de fluorescência de clorofila em nível do FSII. Em outros trabalhos com manjeriço, este parâmetro não foi capaz de revelar a ocorrência de estresse salino. Tarchoune et al. (2012 a) e Tarchoune et al. (2012 b) conduziram experimentos com manjeriço com irrigação salina de 50 mM, ou seja, superior a maior concentração salina utilizada no presente ensaio (30 mM NaCl) e não detectaram alterações de F_v/F_m , o que, segundo os autores, parece ser devido a um ajuste osmótico nos tecidos para suportar o efeito iônico do sal. Entretanto, quando considerada a avaliação do índice relativo de clorofila (IRC) que é um dos parâmetros utilizados para identificar a tolerância das plantas a salinidade verifica-se redução deste índice a partir da quarta época de amostragem nos mesmos tratamentos onde foi verificada redução da relação F_v/F_m (Tabela 33).

4.6 Índice relativo de clorofila

As plantas de *O. basilicum* L. apresentaram alterações significativas do índice relativo de clorofila (IRC) quando comparadas as diferentes qualidades de água aplicada. A comparação entre as médias deste fator aponta redução significativa de IRC promovido pelo tratamento salino suplementado com 15mM NaCl (T2) em comparação ao tratamento controle (T1) e água de reuso (T3). Numericamente T3 obteve a maior média de IRC dentre os tratamentos (Tabela 34).

Houve efeito significativo na comparação entre as épocas de amostragem sobre IRC. A avaliação da sexta época apontou redução significativa de IRC em comparação a primeira e quarta época. Da mesma forma, foi encontrada interação significativa entre as qualidades de água vs. épocas de amostragem. Na quarta época de avaliação T2 foi significativamente menor que T1, não diferindo dos demais tratamentos. Na sexta época T2 foi significativamente reduzido em relação a T3, não diferindo dos demais (Tabela 34).

Tabela 34. Resultados médios do índice relativo de clorofila (SPAD), em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl)

Tratamentos	Épocas			Média
	1 ^a	4 ^a	6 ^a	
T1	20,8 aA	24,3 aA	15,3 abB	20,1 a
T2	21,7 aA	19,6 bA	11,0 bB	17,4 b
T3	23,3 aA	23,8 abA	16,1 aB	21,1 a
T4	24,4 aA	20,0 abB	13,6 abC	19,3 ab
Média	22,6A	21,9 A	14,0 B	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 10,31.

Embora não seja estatisticamente significativo, é interessante ressaltar que T1 e T3 aumentaram IRC na quarta época em comparação com a primeira época, reduzindo este índice apenas na sexta época, ao passo que T2 e T4 foram gradativamente reduzidos na quarta e sexta época (Tabela 34), evidenciando um provável efeito cumulativo de sais deletério a estrutura fotossintética das plantas, em especial as moléculas de clorofila.

Nestes tratamentos (T2 e T4) ocorreu a elevação do Na nos tecidos foliares (Tabela 25), que embora não significativo, é numericamente superior aos tratamentos controle e água de reuso, portanto a diminuição de IRC é provavelmente devido a elevação do Na nestes tecidos. Além disso, segundo Didonet et al. (2005) a reserva nutricional da planta, principalmente o elemento nitrogênio, está relacionada com o teor de clorofila, sendo o nitrogênio o componente da molécula nos cloroplastos. Provavelmente, para estes tratamentos salinos, a molécula de clorofila (após sua degradação) poderia se constituir como fonte alternativa para suprir a demanda maior por nitrogênio (N). Como não é observada redução do N foliar em nenhum tratamento específico, é provável que o N proveniente da degradação das clorofilas tenha sido realocado para a produção de proteínas, como enzimas relacionadas a prevenção de danos oxidativos. De outra forma, como recurso adaptativo ao estresse no sentido de economia de energia e menor captação de energia luminosa para evitar o estresse oxidativo, e não um efeito danoso em si, as plantas podem reduzir a biossíntese de clorofila (SILVEIRA et al., 2010).

A água de reuso, embora concentre níveis salinos, parece ter evitado a remobilização de N da molécula de clorofila para outros processos fisiológicos, evitando assim, a queda de IRC. A redução do IRC pode ser um sintoma da ocorrência de

estresse oxidativo, uma vez que o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) é responsável pela oxidação de pigmentos fotossintéticos, lipídeos de membrana, proteínas e ácidos nucléicos (SMIRNOFF, 1995).

4.7 Análises bioquímicas

4.7.1 Determinação do teor de proteína solúvel total (PST)

Em condições de estresse as plantas iniciam reações em cascata visando desarmar eventos oxidativos em nível citossólico, mitocondrial e cloroplastidal. Estes ambientes celulares, devido a sua alta atividade metabólica são passíveis de iniciar a ativação de um sistema de resposta antioxidativo (SRA). Este sistema é composto por enzimas que visam dismutar espécies reativas de oxigênio (ERO), protegendo assim os constituintes celulares e sistemas de membranas. A salinidade é uma modalidade de estresse físico capaz de induzir a explosão oxidativa em várias espécies vegetais. Desta forma a medida da ativação dos diversos processos relativos a defesa antioxidativa das plantas constitui uma ferramenta eficiente para identificar a ocorrência de estresses.

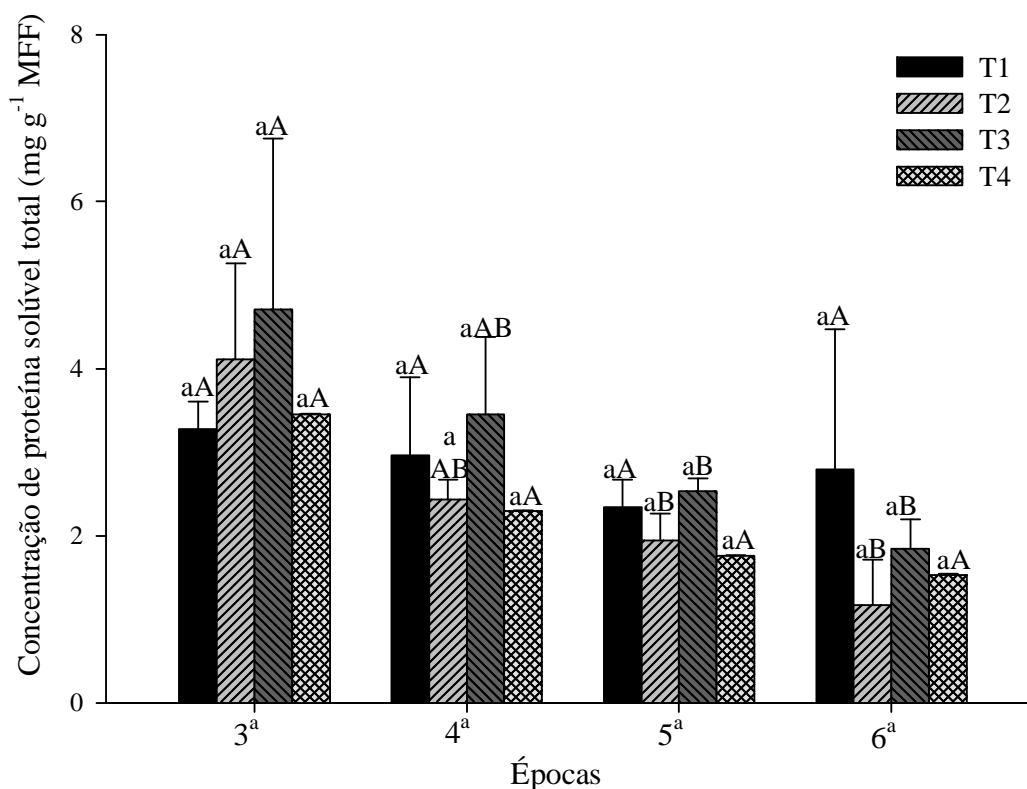


Figura 31. Valores médios para a concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 33,25.

A avaliação do teor de proteína solúvel total (PST) em folhas é um indicador de referência utilizado para o cálculo da atividade de várias enzimas. A concentração de PST, apontou efeito significativo na média somente para épocas de amostragem sobre as plantas de *O.basilicum* L, reduzindo gradativamente no decorrer das épocas avaliadas (Tabela 35). Não houve diferenças significativa na interação entre os tratamentos (Figura 31).

Tabela 35. Valores médios da concentração de proteína solúvel total (mg g^{-1} MFF) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Épocas				Média
	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	3,28 aA	2,95 aA	2,34 aA	2,79 aA	2,84 a
T2	4,10 aA	2,43 aAB	1,94 aB	1,17 aB	2,41 a
T3	4,70 aA	3,45 aAB	2,53 aB	1,84 aB	3,13 a
T4	3,45 aA	2,29 aA	1,76 aA	1,53 aA	2,26 a
Média	3,88 A	2,78 B	2,14 B	1,83 B	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, CV% = 33,25

4.7.2 Determinação do teor de L-prolina

O acúmulo de L-prolina tem sido associado a reações de tolerância a estresses físicos, constituindo-se em composto osmoregulador. No presente ensaio, interessava saber se esta estratégia poderia estar sendo utilizada pelas plantas, em cooperação com a ativação do sistema de resposta antioxidativo e outras reações descritas.

O teor de L-prolina foi afetado significativamente pela interação entre os fatores. Na terceira época de amostragem o tratamento de irrigação T3 (Água de reuso) foi significativamente superior a T4 (30 mM NaCl) não diferindo dos demais tratamentos. Na sexta época T2 (15 mM NaCl) apresentou maior teor de L-prolina do que os demais tratamentos de irrigação. Embora não seja estatisticamente significativo, observou-se um acúmulo de prolina na média dos demais tratamentos de irrigação quando comparados ao controle (T1) (Tabela 36).

Tabela 36. Valores médios da concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Épocas				Média
	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	0,53 abA	0,47 aA	0,44 aA	0,48 bA	0,48 a
T2	0,49 abB	0,44 aB	0,54 aAB	0,65 aA	0,53 a
T3	0,58 aA	0,50 aAB	0,44 aB	0,44 bB	0,49 a
T4	0,43 bA	0,53 aA	0,51 aA	0,47 bA	0,49 a
Média	0,51 A	0,49 A	0,48 A	0,51 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 10,53.

O acúmulo de L-prolina considerado um composto osmoregulador associado a reações de tolerância a estresses físicos, favorece muitas espécies no ajustamento osmótico e proteção celular, mas pode ser simplesmente um efeito de distúrbio metabólico provocado pelo estresse (SILVEIRA et al., 2010).

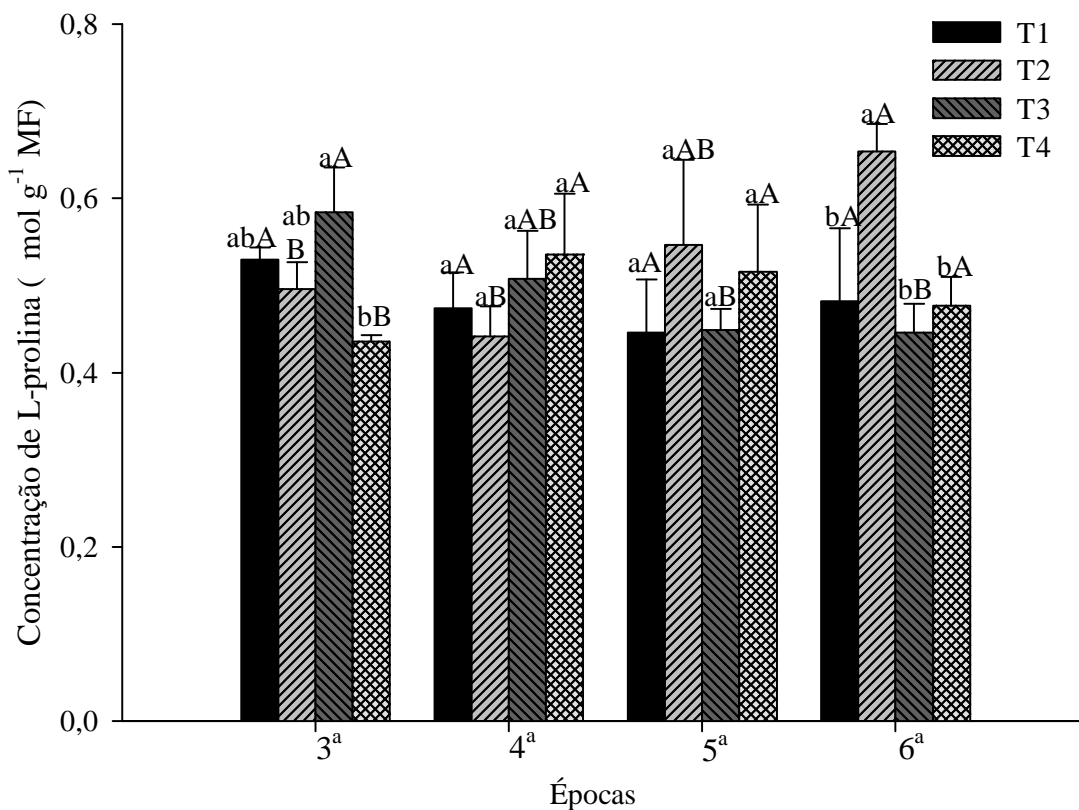


Figura 32. Concentração de L-prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 10,53.

No presente ensaio, interassava saber se esta estratégia poderia estar sendo utilizada pelas plantas, em cooperação com a ativação do sistema de resposta antioxidativo e outras reações descritas. Entretanto, esta estratégia parece não ter sido efetiva, pelo menos nos níveis de salinidade estudados, uma vez que o aumento de L-prolina observado para T3 em relação a T4 na terceira época de avaliação, foi diluído nas épocas seguintes (Figura 32).

Segundo Marur et al. (1994), o decréscimo da concentração de proteínas dos tecidos vegetais poderia tanto representar diminuição da biossíntese quanto a

sua degradação com conseqüente aumento nos níveis de aminoácidos livres. Segundo Meloni et al. (2001) o acúmulo de aminoácidos é variável entre as espécies e está associado, por muitos autores, a proteção sob condições salinas. Os aminoácidos como cisteína, arginina e metionina são reduzidos quando as plantas são estressadas com NaCl, outros aminoácidos como a valina, isoleucina aspartato e prolina, são aumentados em condições de estresse salino (ELSHINTINAWY; ELSHOURBAGY, 2001). Desta forma, a ausência da concentrações de L-prolina demonstra que as plantas não foram submetidas a condições de estresse suficientemente elevadas a ponto de ocasionar acúmulo de L-prolina.

4.7.3 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

A enzima superóxido dismutase (SOD) é responsável pela dismutação do $O_2^{\cdot-}$ com a produção imediata de H_2O_2 , outro tipo de ERO, sendo ela considerada a primeira linha de defesa antioxidativa enzimática, o H_2O_2 é posteriormente removido da célula pela ação de diferentes peroxidases sendo uma das mais importantes a catalase (CAT) (SILVEIRA et al., 2010).

A enzima SOD foi avaliada quanto a sua atividade em função dos tratamentos aplicados, e revelou que os tratamentos salinos (suplementados com NaCl) podem promover incremento em sua atividade. A maior atividade da SOD foi encontrada para o tratamento com 15mM de NaCl (T2) que foi significativamente superior ao tratamento com água de reuso. Nenhum destes tratamentos diferiu dos demais (Tabela 37).

Tabela 37. Valores médios da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (UI μg proteína⁻¹) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Enzima superóxido dismutase SOD (UI μg proteína ⁻¹)					
Tratamentos	Épocas				Média
	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	3,11 aA	3,68 aA	4,59 aA	4,83 bA	4,05 ab
T2	3,072 aB	4,38 aB	5,71 aB	9,13 aA	5,57 a
T3	2,40 aB	3,32aAB	4,01 aAB	5,98 bA	3,93 b
T4	3,00 aB	4,57 aAB	6,25 aA	7,03 abA	5,21 ab
Média	2,89 C	3,99 BC	5,14 B	6,74 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 29,90.

A atividade desta enzima também foi afetada pela interação entre os fatores, sendo evidenciada especificamente na sexta época de amostragem, quando foi significativamente superior ao T1 e T3. Resultado este que não se repete nas épocas anteriores quando não há diferenças entre estes tratamentos (Figura 33). Embora não significativo, ambos os tratamentos salinos, apresentam elevação na atividade da SOD a partir da quarta época de avaliação, resultado mantido até o final do experimento.

As plantas possuem um sistema antioxidante para minimizar o efeito do estresse oxidativo, e a enzima superóxido dismutase é integrante desse sistema (MITTLER, 2002; SCANDALIOS, 2005; FELIPE et al., 2009), sendo responsável por catalisar a dismutação de ($O_2^{\circ-}$ a H_2O_2 e O_2), de um radical superóxido em peróxido de hidrogênio, desempenhando um papel importante no sistema de defesa antioxidante das plantas (RESENDE et al., 2003; SCANDALIOS, 2005; CATANEO et al., 2005).

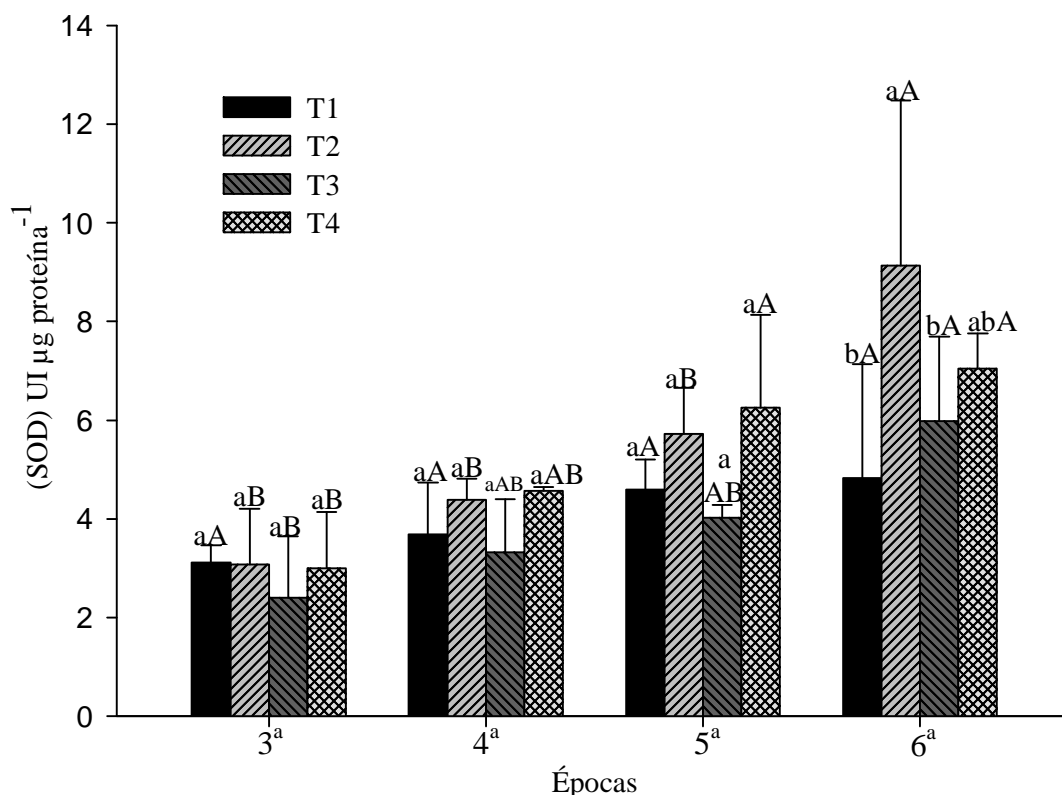


Figura 33. Atividade da enzima superóxido dismutase SOD ($UI \mu g \text{ proteína}^{-1}$) em folhas *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 29,90.

Este estudo avaliou a atividade de enzimas do sistema de reposta antioxidativo que podem demonstrar a ocorrência de estresse promovido pela aplicação dos tratamentos que receberam NaCl, bem como da água de reuso. Conforme Broetto et al. (2002), a SOD apresenta um aumento de atividade sempre que as plantas são submetidas a um ambiente estressante, como salinidade, altas temperaturas, estresse hídrico, alta intensidade luminosa, ataque fitopatogênico e ou insetos, entre outros

4.7.4 Atividade da enzima Catalase (CAT; EC.1.11.1.6)

A catalase (CAT) é a enzima responsável por completar a dismutação do peróxido de hidrogênio em água. A aplicação dos tratamentos com diferentes qualidades de água de irrigação teve efeito significativo sobre a atividade desta enzima. O tratamento T4 com maior concentração de NaCl foi responsável por promover a maior ativação de CAT seguido pelo tratamento T2 menos concentrado. Estes tratamentos suplementados com NaCl, foram significativamente diferentes entre si, diferindo também de T1 e T3 (controle e água de reuso, respectivamente). Para CAT não houve diferença significativa entre T1 e T3. A comparação entre as épocas de amostragem revelou maior atividade de CAT na quarta e sexta época. Houve interação significativa entre as qualidades de água e épocas de amostragem. De forma geral T4 apresentou a maior atividade de CAT nas diferentes épocas, sendo superado numericamente apenas na sexta época por T2, embora nesta época não haja diferença significativa entre estes dois tratamentos (Tabela 38).

Tabela 38. Valores médios da atividade da enzima catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Enzima catalase (CAT) ($\mu\text{Kat } \mu\text{g proteína}^{-1}$)				
	Épocas				
	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	Médias
T1	6,69 bA	7,31 bA	7,85 bA	13,64 bcA	8,87 c
T2	5,60 bB	14,64 bB	14,80 bB	24,74 aA	14,94 b
T3	8,76 abA	7,12 bA	6,48 bA	9,64 cA	8,00 c
T4	18,08 aA	26,90 aA	24,12 aA	21,52 abB	22,90 a
Médias	9,78 B	21,18 A	8,70 B	25,85 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 32,10

Diferentemente dos tratamentos que receberam NaCl, o T3 (água de reuso) não diferiu do T1 em nenhuma das épocas avaliadas, sendo o tratamento com menor atividade da CAT em todas as épocas a partir da quarta. Na sexta época avaliada, quando foi atingido o maior tempo de exposição das plantas aos tratamentos, T3 foi significativamente inferior aos tratamentos salinos. Este tratamento manteve a atividade da CAT estável durante todo o experimento não apresentando elevações significativas desta enzima, resposta análoga ao tratamento controle (Figura 34).

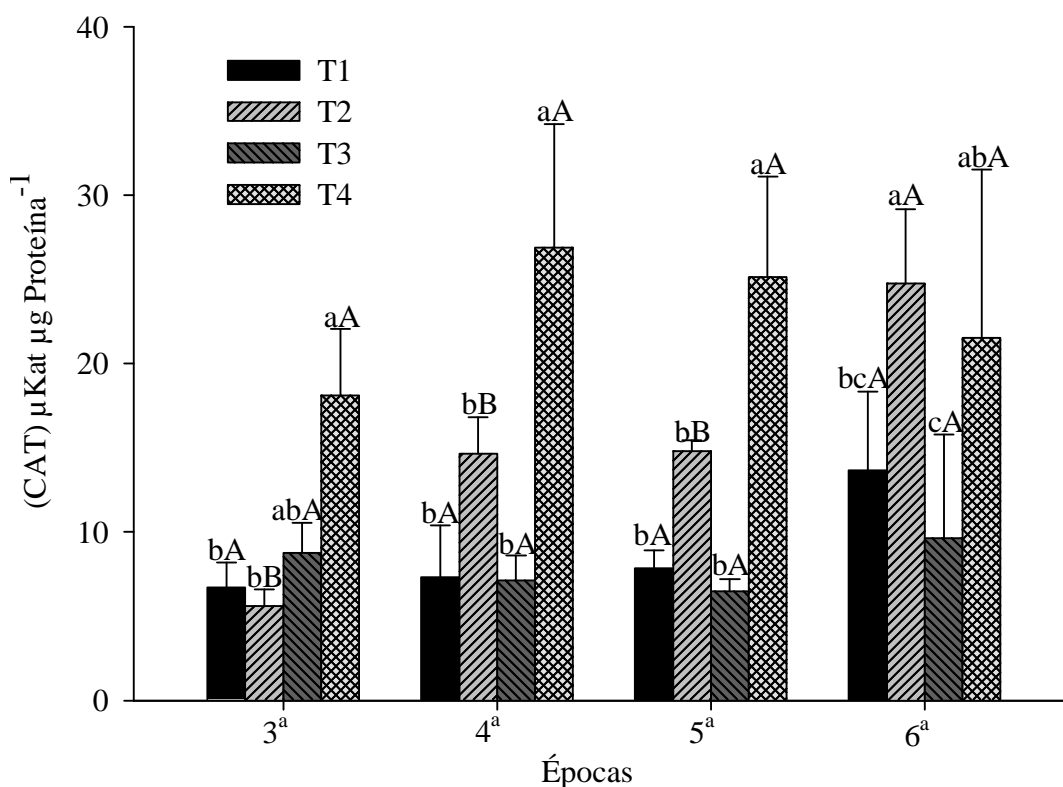


Figura 34. Atividade da enzima catalase CAT ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de \u00e1gua (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - \u00e1gua de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes \u00e9pocas de amostragem. As m\u00e9dias seguidas pela mesma letra min\u00fasculas representa a compara\u00e7\u00e3o entre tratamentos e letras mai\u00fasculas comparam as \u00e9pocas pelo teste de Tukey ao n\u00edvel de 5% de probabilidade. CV% = 32,10.

As plantas exibem v\u00e1rias respostas bioqu\u00edmicas para prote\u00e7\u00e3o contra agentes oxidantes produzidos durante o metabolismo ou induzidos quando as plantas s\u00e3o submetidas a condi\u00e7\u00f5es ambientais adversas (MITTLER, 2002). Dentre essas respostas a produ\u00e7\u00e3o de per\u00f3xido de hidrog\u00eanio (H_2O_2) (MITTLER, 2002; RESENDE et

al., 2003; SCANDALIOS, 2005) está envolvida no fortalecimento celular, sendo necessário para a biossíntese de lignina (RESENDE et al., 2003) além de poder causar danos celulares e agir como moléculas sinalizadoras, que ativam múltiplas respostas de defesa (SOARES; MACHADO, 2007). No entanto, quando ocorre a superprodução das espécies reativas de oxigênio como o H_2O_2 , ocorre um estresse oxidativo nas células. Para que não ocorra a morte celular, mecanismos antioxidantes são ativados, como, por exemplo, a síntese de enzimas antioxidativas.

O aumento da atividade das enzimas SOD e CAT em T2 e T4 provavelmente ocorre em resposta aos danos oxidativos evidenciados na avaliação de IRC, indicando o aumento da produção de ERO nestes tratamentos. O aumento na atividade destas enzimas pode estar contribuindo como ferramenta de tolerância desta espécie a este estresse físico, pelo menos para as concentrações molares estudadas e indica que as plantas de manjerição possuem sistema de resposta antioxidativo operante, o que provavelmente esteja auxiliando as células na contenção dos efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio. Notável que o mesmo efeito não tenha sido observado para o T3. A baixa concentração salina do tratamento de irrigação com água de reuso (T3) pode não ter sido capaz de iniciar o processo de ativação das enzimas antioxidativas, o que de certa forma, pode justificar o uso desta água para fins de irrigação.

4.7.5 Nível de peroxidação de lipídeos

Diferentemente das enzimas anteriormente discutidas, as diferentes qualidades de água não provocaram danos sensíveis pelo método MDA em nível de membranas (Figura 35), independentemente de não haver diferenças entre os tratamentos, T3 (água de reuso) foi numericamente menor aos demais. Somente houve diferenças significativas para o fator épocas. O maior nível de peroxidação de lipídios foi observado na sexta época de amostragem (Tabela 39). A interação entre as diferentes qualidades de água vs. épocas de amostragem, não promoveu diferença significativa nesta variável pelo teste F.

Tabela 39. Valores médios peroxidação de lipídios (mol de MDA* g MF⁻¹) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos	Épocas				Média
	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
T1	5,344 aB	6.548 aB	9.551 aAB	12.575 aA	8,503 a
T2	7.773 aA	7.708 aA	9.429 aA	7.809 bA	8,180 a
T3	6.280 aAB	5.634 aB	7.388 aAB	10.540 abA	7,460 a
T4	5.572 aB	9.524 aAB	9.364 aAB	12.206 abA	9,166 a
Média	6,242 C	7,354 BC	8,933 AB	10,782 A	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 24,34 (*) Malondialdeído.

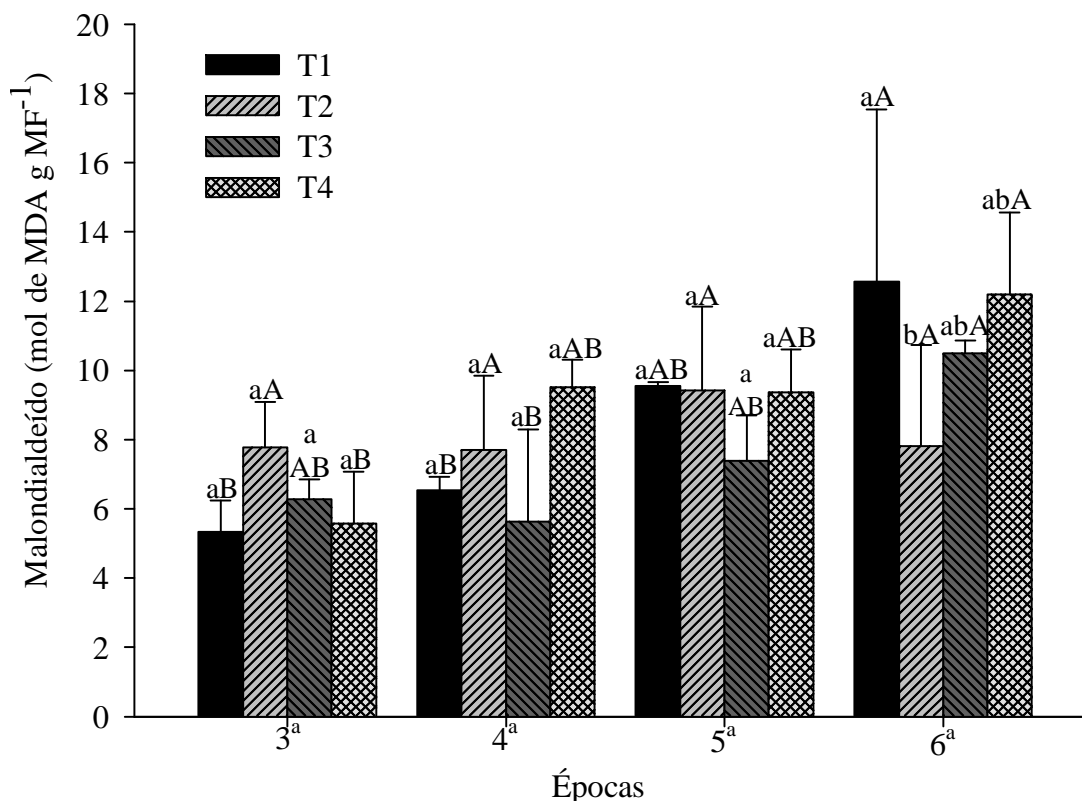


Figura 35. Peroxidação de lipídios (mol de MDA g MF⁻¹) em folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 24,34.

Em muitas espécies, os eventos oxidativos devido a estresse ambiental terminam por provocar danos oxidativos por alterações da integridade das

membranas celulares. Neste sentido o aumento na atividade das enzimas SOD e CAT resultaram em menor peroxidação de lipídios evidenciada na sexta época de avaliação, deste modo, é importante salientar a efetividade dos mecanismos de resposta antioxidativa em *O. Basilicum* L., uma vez que, os danos foram mitigados antes de serem perceptíveis por alterações nas trocas gasosas ou no acúmulo de biomassa.

4.8 Óleo essencial

4.8.1 Rendimento e produção do óleo essencial em folhas de *O. basilicum* L.

Este estudo demonstrou que a irrigação de *O. basilicum* L. com água de reuso (T3), bem como, com água salina com 15 mM de NaCl (T2) foi capaz de elevar o rendimento do óleo essencial. Sendo que o rendimento do óleo essencial foi significativamente superior nestes tratamentos em comparação ao controle (T1) e ao tratamento salino com 30 mM de NaCl (T4) (Figura 36).

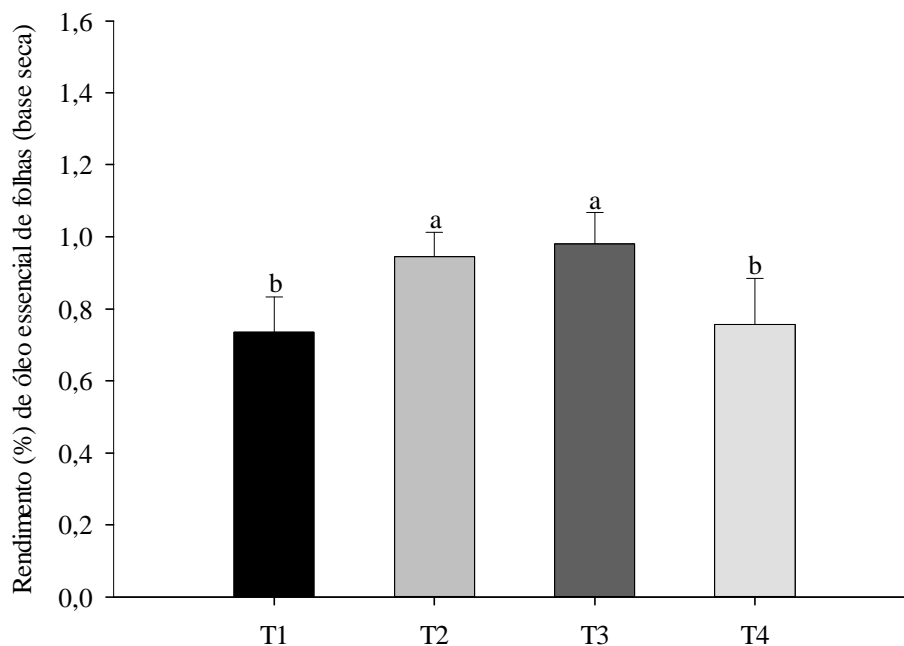


Figura 36. Rendimento de óleo essencial de folhas (base seca) de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl). As médias seguidas pela mesma letra representa a comparação entre tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 26,20.

Não houve alteração no rendimento do óleo essencial em função das épocas de amostragem. Da mesma forma, não houve interação significativa entre as diferentes qualidades da água de irrigação e as épocas de amostragem (Figura 37).

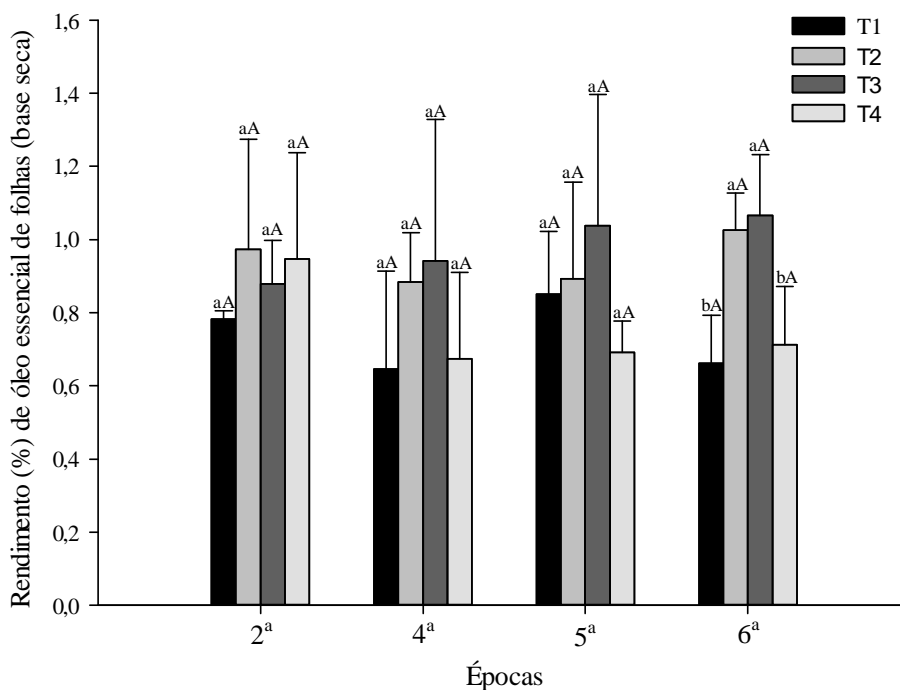


Figura 37. Rendimento de óleo essencial de folhas (base seca) de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem. As médias seguidas pela mesma letra minúsculas representa a comparação entre tratamentos e letras maiúsculas comparam as épocas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 26,20.

Correspondendo a elevação do rendimento do óleo essencial em função das diferentes qualidades de água, T2 e T3 apresentaram a maior produção de óleo essencial juntamente com T1. O tratamento T4 reduziu significativamente a produção do óleo essencial em plantas de *O. basilicum* L. (Figura 38).

Segundo Sangwan et al. (2001) em diversas espécies produtoras de óleo essencial, a produção foi reduzida em função do aumento da salinidade, estando este resultado associado a redução da produção de biomassa, bem como, do rendimento do óleo essencial. Neste estudo o valor obtido para a produção do óleo essencial para T4 está associado a ambos os fatores, pois, este tratamento apresentou redução tanto na massa seca de folhas (Tabela 16) quanto no rendimento do óleo essencial (Figura 38).

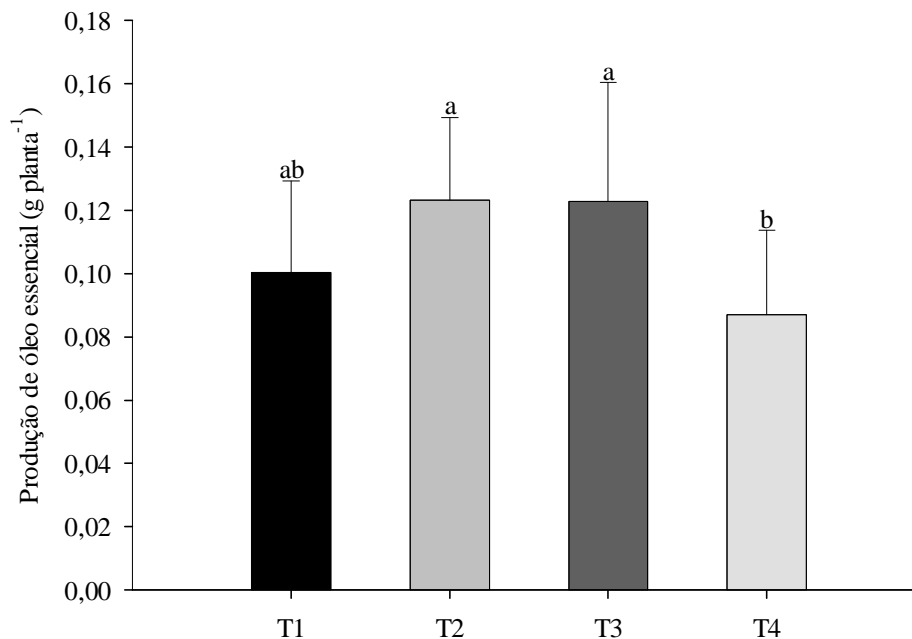


Figura 38. Rendimento do óleo essencial da massa seca de folhas de *Ocimum basilicum* L. (g planta⁻¹) irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 - 15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl). As médias seguidas pela mesma letra representa a comparação entre tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% = 28,04.

Ansari et al. (1998) estudando o desempenho de três gramíneas em diferentes níveis de NaCl (0, 27 e 44 mM), concluíram que a salinidade resultou na redução do crescimento e produção do óleo essencial das plantas.

A elevação da produção em T2 e T3, e a manutenção da produção de massa seca de folhas nestes tratamentos contribuíram para a obtenção dos maiores valores da produção de óleo essencial (Figura 38).

Os resultados obtidos ressaltam a importância de considerar um provável *estímulo* a produção de compostos secundários promovido pela exposição das plantas a NaCl em concentrações que não são capazes de promover efeito estressante.

Semelhante aos resultados obtidos neste estudo Oziemblowski et al. (2013), observaram a ativação de enzimas antioxidativas em plantas de *Baccharis trimera* expostas a NaCl. Os mesmos autores relatam que o NaCl poderia ser utilizado no processo de eliciação em plantas que apresentam potencial para a produção de metabólitos secundários que possuem aplicações na área da agricultura e farmacêutica.

4.8.2 Composição química do óleo essencial em folhas de *O. basilicum* L.

A análise do perfil químico do óleo essencial identificou 31 constituintes, agrupados em hidrocarbonetos monoterpênicos (6), monoterpênos oxigenados (7), fenilpropanóides (1), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (12), sesquiterpenos oxigenados (4), outros (1) (Tabela 40). Os (ROSADO et al., 2011) principais componentes majoritários do óleo essencial de *O. basilicum* L. encontrados no presente ensaio (Tabela 40) estão de acordo com os resultados encontrados na literatura sobre análise do perfil fitoquímico do óleo de *O. basilicum* L. (LEE et al., 2005; CHALCHAT; ÖZCA, 2002; ROSADO et al., 2011)

Neste ensaio o constituinte mais abundante no óleo essencial foi o linalol que corresponde a 55,9%, seguido do 1,8-cineol com 13,3% do total do óleo (Figura 39), que segundo Vieira et al. (2001) no gênero *Ocimum* são os componentes mais abundantes.

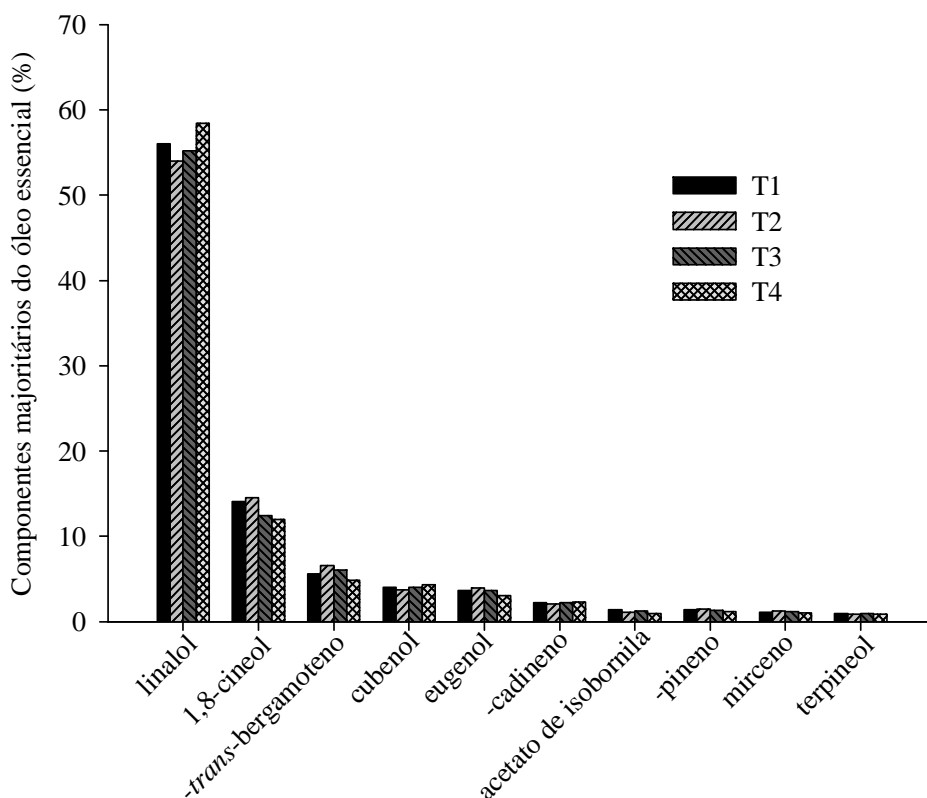


Figura 39. Principais componentes majoritários do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl).

Resultados semelhantes foram encontrados por González-Zúñiga et al. (2011) e Rosado et al. (2011) que analisaram a constituição química do óleo essencial de manjeriço e obtiveram como constituintes majoritários o linalol apresentando teores na faixa de 78,3 a 84,3%.

O linalol é um monoterpene alcoólico terciário de cadeia aberta (Figura 40) utilizado com sucesso como sedativo e anticonvulsivo, além de possuir propriedades acaricida, bactericida e fungicida é aplicado em várias áreas do conhecimento humano. Por apresentar dois isômeros em sua estrutura, tem sido muito aplicado nas atividades farmacológicas apresentando um alto valor comercial (SUGAWARA et al., 1998; ALCÂNTARA et al., 2010).

Curiosamente, a presença do composto canfeno (Tabela 40) embora não significativo, corroboram com Mazutti et al. (2006) que demonstram a presença de cânfora, um perfil químico distinto do óleo essencial de *O. basilicum* L.

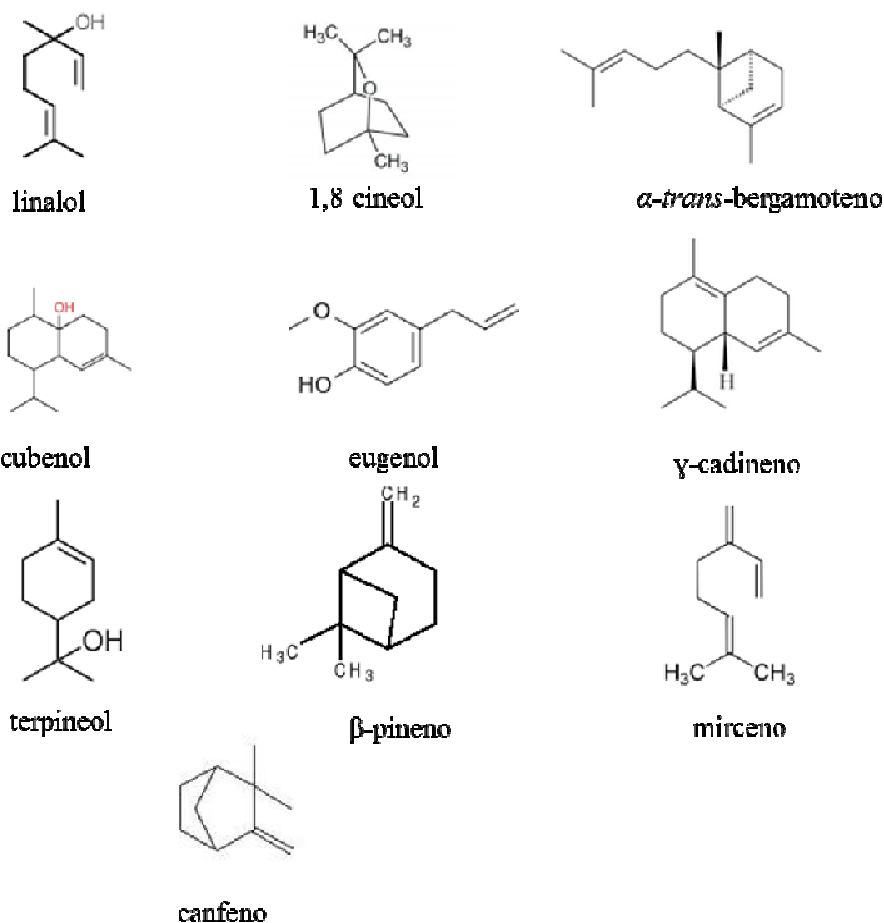


Figura 40. Estrutura química dos constituintes majoritários de óleo essencial de folhas de *Ocimum basilicum* L. cv. Genovese, submetidas a diferentes qualidades de água.

Tabela 40. Valores percentuais dos componentes do óleo essencial de plantas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Tratamentos Substâncias/Épocas	T1				T2				T3				T4				T. Retenção	Teste F		
	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	2 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a		Tratamentos	Épocas	Interação
Hidrocarboneto monoterpênico	(%)																(min)			
α-pineno	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,7	0,7	0,7	0,5	0,6	0,6	0,5	0,4	0,5	0,5	0,6	8,944	1,6343 ^{ns}	1,4480 ^{ns}	0,3703 ^{ns}
canfeno	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	0,2	0,1	0,1	0,1	9,451	0,0614 ^{ns}	0,4612 ^{ns}	0,5201 ^{ns}
sabineno	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,7	0,7	0,5	0,6	0,6	0,5	0,7	0,5	0,5	0,6	10,234	0,1797 ^{ns}	0,0505 ^{ns}	0,562 ^{ns}
β-pineno	1,4	1,4	1,4	1,4	1,2	1,4	1,6	1,6	1,2	1,4	1,4	1,3	1,0	1,2	1,3	1,4	10,395	1,3918 ^{ns}	1,2591 ^{ns}	0,3503 ^{ns}
mirreno	1,1	1,2	1,2	1,1	1,0	1,2	1,2	1,5	1,1	1,2	1,2	1,2	0,5	1,0	1,2	1,4	10,749	1,0968 ^{ns}	4,2007*	1,4719 ^{ns}
limoneno	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5	0,5	4,4	0,4	0,3	0,4	0,1	0,4	4,9	0,4	12,255	0,6152 ^{ns}	0,5858 ^{ns}	1,1892 ^{ns}
Monoterpeno oxigenado																				
1,8-cineol	14,3	15,3	13,3	13,5	12,2	13,2	15,5	17,1	9,0	13,5	13,6	13,6	11,6	12,3	8,7	15,4	12,350	1,3725 ^{ns}	1,5819 ^{ns}	0,8540 ^{ns}
sabineno	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	13,409	0,1797 ^{ns}	0,0505 ^{ns}	0,562 ^{ns}
cis-hidrato de sabineno	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	13,737	0,8884 ^{ns}	1,1606 ^{ns}	1,0603 ^{ns}
linalol	55,6	55,3	57,1	56,0	58,6	52,4	54,5	50,5	55,8	51,5	59,8	53,6	62,7	58,6	58,1	54,1	14,991	1,9666 ^{ns}	2,8960 ^{ns}	0,8833 ^{ns}
isoborneol	0,6	0,6	0,3	0,4	0,6	0,3	0,5	0,4	0,4	0,7	0,4	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3	17,857	0,3565 ^{ns}	1,5657 ^{ns}	0,9548 ^{ns}
terpineol	1,1	1,0	0,9	1,0	0,9	0,7	0,7	1,2	0,9	1,0	0,9	1,0	0,8	0,9	1,0	1,0	18,851	0,4864 ^{ns}	1,0961 ^{ns}	0,9029 ^{ns}
acetato de isobornila	1,7	1,4	0,6	1,9	0,6	0,9	1,3	1,7	0,7	1,7	1,0	1,7	0,6	1,2	1,2	0,8	22,848	1,0695 ^{ns}	2,1332 ^{ns}	1,2449 ^{ns}
Fenilpropanóide																				
eugenol	5,7	4,2	1,3	3,5	3,2	7,4	2,9	2,6	5,5	4,0	2,3	2,9	2,7	3,1	3,7	2,9	25,735	0,6898 ^{ns}	4,9662**	2,6267*
Hidrocarboneto sesquiterpênico																				
α-copaeno	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	26,645	0,8858 ^{ns}	0,7611 ^{ns}	0,7556 ^{ns}
β-bourboneno	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	27,027	0,9327 ^{ns}	2,4755 ^{ns}	1,5126 ^{ns}
β-elemeno	0,6	0,8	0,7	0,6	0,8	0,7	1,0	0,5	0,7	1,5	0,6	0,9	0,7	1,1	0,7	0,7	27,251	0,7070 ^{ns}	1,8562 ^{ns}	0,7925 ^{ns}
trans -cariofileno	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	28,407	0,7813 ^{ns}	2,1321 ^{ns}	0,5881 ^{ns}
α - trans - bergamoteno	4,3	4,2	7,9	6,1	6,6	6,8	5,1	8,0	5,4	4,7	5,8	8,4	4,8	3,6	5,0	6,1	28,949	1,0090 ^{ns}	1,9139 ^{ns}	0,6325 ^{ns}
aromadendreno	0,3	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	0,5	0,3	0,3	0,6	0,4	0,4	0,3	0,5	0,3	0,4	29,098	0,2728 ^{ns}	3,3037*	0,8332 ^{ns}
β-fameseno	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,4	0,6	0,8	0,4	0,5	0,5	0,6	0,4	0,5	29,74	0,2385 ^{ns}	3,7746 ^{ns}	0,7418 ^{ns}
cis-cadina-1(6),4-dieno	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	30,094	0,6743 ^{ns}	1,0992 ^{ns}	0,9404 ^{ns}
germacreno D	0,5	0,7	0,5	0,5	0,7	0,6	0,7	0,4	0,5	1,2	0,5	0,7	0,8	0,9	0,5	0,4	30,797	0,4058 ^{ns}	2,2518 ^{ns}	0,5726 ^{ns}
α-(E,E) fameseno	0,5	0,8	0,8	0,7	0,6	0,7	0,8	0,6	0,6	1,1	0,6	0,7	0,5	0,9	0,7	0,7	31,72	0,2385 ^{ns}	3,7746*	0,7418 ^{ns}
γ-cadineno	1,9	2,2	2,4	2,4	1,9	1,9	2,2	2,4	2,0	2,7	2,0	2,3	2,0	2,4	2,3	2,5	32,024	0,6974 ^{ns}	3,3517*	1,0460 ^{ns}
β-sesquifelandreno	0,4	0,4	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	32,335	0,3439 ^{ns}	1,5501 ^{ns}	0,7434 ^{ns}
Sesquiterpeno oxigenado																				
espatulenol	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4	0,4	34,408	1,7743 ^{ns}	2,9464*	0,8215 ^{ns}
1,10 - di - epi - cubenol	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6	35,76	2,2883 ^{ns}	0,5847 ^{ns}	0,7030 ^{ns}
cubenol	3,9	3,8	4,4	4,1	3,8	3,5	3,9	3,9	4,8	5,1	3,5	2,9	4,3	4,7	4,2	4,3	36,643	0,7823 ^{ns}	0,6153 ^{ns}	1,1135 ^{ns}
α-cadinol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	37,146	1,7300 ^{ns}	0,0793 ^{ns}	0,8431 ^{ns}
Outros																				
acetato de octila	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,4	19,623	0,2205 ^{ns}	11,8926*	0,3047 ^{ns}
Total Identificado	98,2	98,3	97,7	98,3	97,7	96,8	97,6	97,9	97,7	97,6	98,3	96,9	98,1	97,9	98,4	97,7				

Lawrence (1988) relata que os principais constituintes do óleo essencial de *Ocimum* são produzidos em duas diferentes vias metabólicas, ácido chiquimico (fenilpropanóides) e a via do ácido mevalônico (terpenos). Segundo Mazutti et al. (2006) os maiores constituintes da via ácido chiquimico são metil-chavicol, eugenol, metil-eugenol e cinamato de metila e pela via do ácido mevalônico, linalol e geraniol.

A proporção relativa dos componentes do óleo essencial foi influenciado significativamente pelas épocas de amostragem apenas para os componentes expostos na Tabela 41. De forma geral os componentes mirceno, acetato de octila, aromadendreno, α -(E,E) farneseno e γ -cadineno apresentaram elevação na percentagem relativa conforme o avanço das épocas de amostragem (Tabela 41).

Tabela 41. Valores percentuais dos componentes do óleo essencial da matéria seca de folhas de *Ocimum basilicum* L. em diferentes épocas de amostragem

Substâncias	Valores percentuais dos componentes do óleo essencial			
	Épocas			
	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
mirceno	0,91 B	1,14 AB	1,21 A	1,28 A
acetato de octila	0,17 B	0,18 B	0,2 B	0,35 A
eugenol	4,28 AB	4,65 A	2,54 B	2,98AB
aromadendreno	0,31 B	0,48 A	0,41 AB	0,39 AB
α-(E,E) farneseno	0,54 B	0,85 A	0,71 AB	0,67 AB
γ-cadineno	1,93 B	2,29 AB	2,24 AB	2,38 A
espatulenol	0,37 AB	0,44 A	0,35 AB	0,32 B

As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Eugenol decresceu da segunda para a quarta época, enquanto o espatulenol apresentou resposta diferenciada sendo reduzido conforme o avanço das épocas (Tabela 42).

Tabela 42. Valores percentuais do eugenol no óleo essencial, em base seca de folhas de *Ocimum basilicum* L. irrigadas com diferentes qualidades de água (T1 - Controle; T2 -15 mM NaCl; T3 - água de reuso e T4 - 30 mM NaCl), em diferentes épocas de amostragem

Valores percentuais do eugenol no óleo essencial					
Tratamentos	Épocas				Média
	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	
T1	5,69 aA	4,22 abAB	1,31 aB	3,5 aAB	3,68 a
T2	3,17 aB	7,37 aA	2,92 aB	2,58 aB	4,01 a
T3	5,52 aA	3,96 abA	2,26 aA	2,91 aA	3,66 a
T4	2,73 aA	3,06 bA	3,68 aA	2,93 aA	3,10 a
Média	4,28 AB	4,65 A	2,54 B	2,98 AB	

As médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV% =43,55

Eugenol foi o único componente do óleo essencial de *O. basilicum* L. que foi significativamente afetado pela interação entre as diferentes qualidades de água e épocas de amostragem. Este componente apresentou proporção relativa significativamente menor para T4 em comparação a T2, especificamente na terceira época de amostragem (Tabela 42).

5 CONCLUSÃO

A avaliação das diferentes qualidades de água demonstrou que apenas os tratamentos salinos promoveram queda do potencial hídrico das plantas de *O. basilicum* L., sendo que a água de reuso não alterou este parâmetro.

Os tratamentos aplicados não alteraram o crescimento e desenvolvimento das plantas, com exceção da massa seca de folhas que foi reduzida no tratamento com maior salinidade.

O sistema de resposta antioxidativa das plantas, caracterizada pela atividade das enzimas SOD e CAT, demonstrou-se ativo e foi eficiente em mitigar os danos causados pela irrigação com água salina (NaCl) de forma que apenas pequenas alterações na máxima eficiência quântica dos fotossistemas e no índice relativo de clorofila foram identificados, não sendo suficientes para alterar processos metabólicos como a fotossíntese ou promover danos a estruturas celulares através da peroxidação de lipídios.

A água de reuso não interferiu em parâmetros de trocas gasosas, fluorescência da clorofila, ou enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, bem como, não provocou danos na permeabilidade das membranas que indicasse estresse salino.

A análise da composição dos nutrientes nos tecidos vegetais apresentou efeito marcante de exclusão de Na^+ nos tecidos radiculares, sendo que o acúmulo deste sal ocorrido nas raízes não foi observado com a mesma proporção nos tecidos foliares.

A análise dos componentes do óleo essencial de *O.basilicum* L. revelou que as diferentes qualidades de água não alteraram o padrão conhecido para esta espécie. Observou-se que o composto linalol foi o que apresentou maior porcentagem.

A menor concentração salina utilizada neste experimento, bem como a água de reuso promoveram aumento no rendimento e na produção do óleo essencial de *O. basilicum* L. indicando a ocorrência de estímulo ao metabolismo secundário das plantas que pode ser entendido como indução de resistência a estresses.

Considerando-se os resultados obtidos, a água de reuso desde que manejada adequadamente pode ser uma alternativa para irrigação de *O.basilicum* L.

6 REFERÊNCIAS

AGUIRRE, J. et al. Reactive oxygen species and development in microbial eukaryotes. **Trends in Microbiology**, v.13, n. 3, 2005.

ALBUQUERQUE U.P.; ANDRADE, L.H.C. El genero *Ocimum* L. (Lamiaceae) en el nordeste del Brasil. **Anales Jardín Botánico de Madrid**, Madrid, v. 56, n.1, p. 43-64, 1998.

ALCÂNTARA, J. M. et al. Composição química de óleos essenciais de espécies de Aniba e Licaria e suas atividades antioxidante e antiagregante plaquetária. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p. 141–145, 2010.

ALEGRE, L. 2000. Regulación de las respuestas fisiológicas de las plantas al estrés. V Simposium Hispano-Portugués de Relaciones Hídricas en las plantas. **Libro de Comunicaciones**. p.43-47.

ALMEIDA, D. **Manual de culturas hortícolas**. Lisboa: Presença, 2006. 360p.

ALSCHER R.G.; DONAHUE J.L.; CRAMER C.L.; Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. **Physiologia Plantarum** 100, 224-233, 1997.

ÁLVAREZ, S. et al. 2012. Osmotic and saline effect on growth, water relations, and ion uptake and translocation in *Phlomis purpurea* plants. **Environmental and Experimental Botany**, 78: 138-145.

ALVES, F. A. L. et al. Efeito do Ca^{2+} externo no conteúdo de Na^{+} e K^{+} em cajueiros expostos a salinidade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 6, n. 4, p. 602–608, 31 dez. 2011.

ANSARI, S. R.; ABAD FAROOQI, A. H.; SHARMA, S. Interspecific Variation in Sodium and Potassium Ion Accumulation and Essential Oil Metabolism in Three *Cymbopogon* Species Raised under Sodium Chloride Stress. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 4, p. 413–418, jul. 1998.

AOYAMA, E. M. et al. Anatomia Foliar de *Ocimum basilicum* L. Genovese (Lamiaceae). **Revista Fitos Eletrônica**, v. 7, n. 04, 2013.

AZCÓN-BIETO, J. 1987. **Repuesta fotosintética de las plantas en condiciones de estrés de agua, luz y temperatura**. En Fisiología Vegetal 85 (J. L. Guardiola y C. Monerri, coords.). Universidad Politécnica de Valencia. 81-96.

BATES, L. S. et al. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**. v.39, p. 205-07.

BAÑÓN, S. et al. Effects of diluted and undiluted treated wastewater on the growth, physiological aspects and visual quality of potted lantana and polygala plants. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 4, p. 869–876, jul. 2011.

BARRS, HD. Determination of water deficit in plant tissues. Water deficits and plant growth. **Academic Press**, New Delhi, India. v.1. 1968.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42 p.

BIONE, M. A. A. et al. Crescimento e produção de manjeriço em sistema hidropônico NFT sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 12, p. 1228–1234, dez. 2014.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Plant**, v. 170, n. 4, p. 489–504, 1987.

BLANK, A. F. et al. Comportamento fenotípico e genotípico de populações de manjeriço. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 305–310, 2010.

BOSE, J.; RODRIGO-MORENO, A.; SHABALA, S. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 5, p. 1241–1257, 1 mar. 2014.

BRADFORD, M.M.. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye-binding. **Anal. Biochem**, v.72, 248- 254, 1976.

BRASIL. **Plantas medicinais e orientações gerais para cultivo**: boas práticas de plantas medicinais, aromáticas e codimentares. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2006, 48p.

BRAY, E. A. 1997. Plant responses to water deficit. **Trens in Plant Science**. v.2, p. 48-54.

BREGA-FILHO, D.; MANCUSO, P. C. S. **Conceito de reuso de água**. In: Reuso de água; Cap 2. Eds. P. C. Sanches Mancuso e H. Felício dos Santos. Universidade de São Paulo Faculdade de Saúde Pública, Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – ABES. São Paulo, 2002.

BRESSAN, D. et al. **Manual de utilização de águas residuárias em irrigação** (Cood, Oliveira, E.L de). In: O reuso de água na agricultura: Teorias e práticas. Botucatu, 2012, p. 13-89.

BROETTO, F.; LÜTTGE, U.; RATAJCZAK, R. Influence of light intensity and salt-treatment on mode of photosynthesis and enzymes of the antioxidativo response system of *Mesembryanthemum crystallinum*. **Functional Plant Biology**, v.29, p.13-23, 2002.

CAMARA, H. **Bioágua Familiar**: Reuso de água cinza para produção de alimentos no Semiárido/ Fábio dos Santos Santiago... [et al.]. 2012. Recife, 2012.

CAPRA, A.; SCICOLONE, B. Emitter and filter test for wastewater reuse by drip irrigation. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v.68, p. 135-149, 2004.

CARVALHO, A. C. P. P de.; RODRIGUES, A. A. J de.; SANTOS, E. O. Qualidade em plantas medicinais. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p 42. (**Documentos 162**). 2012

CARVALHO, L. M. et al. Efeito de potências decimais da homeopatia de *Arnica montana* sobre plantas de artemísia. **Rev. Bras. Plantas Med.**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 46-50, 2003.

CARVALHO, R. S. et al. Influência do reuso de águas residuárias na qualidade microbiológica do girassol destinado à alimentação animal). **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 8, n. 2, p. 157-167, 2013.

CARVALHO, W.A. Levantamento de Solos da Fazenda Lageado-Estação Experimental **Presidente Médici**. Botucatu, UNESP/F.C.A. 95p. 1983.

CASSANITI, C. et al. Growing floricultural crops with brackish water. **Environmental and Experimental Botany**, v. 92, p. 165–175, ago. 2013.

CATANEO, A. C. et al. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycinemax L.*) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**. v. 4, n. 2, 2005.

CAVALCANTE, L. F. et al. Água salina e esterco bovino líquido na formação de mudas de goiabeira cultivar Paluma. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 01, p. 251–261, 2010.

CAVALCANTE, L. F. et al. Fontes e níveis da salinidade da água na formação de mudas de mamoeiro cv. sunrise solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1281–1290, 2011.

CAVALCANTE, V.S.; SANTOS, V.R. et al. Biomassa e extração de nutrientes por plantas de cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16(5):521–528, 2012.

CHALCHAT, J.-C.; ÖZCAN, M. M. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum L.*) used as herb. **Food Chemistry**, v. 110, n. 2, p. 501–503, set. 2008.

CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum L.*) and its content of volatile oils. **Environmental and Experimental Botany**, v. 63, n. 1-3, p. 216–223, maio 2008.

CHAPIN III, F. S. et al. 1987. Plant responses to multiple environmental factors. **Bio-Science**. 37: 49-57.

CHAVES, F.C.M., Produção, rendimento e composição óleo essencial de alfava-cravo (*Ocimum grantissimum L.*) em função da adubação orgânica e época de corte: Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrônômicas, FCA, Botucatu, 146 p, 2001.

CHAVES, M.M. et al. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. **Ann. Bot.**, v. 89, p. 907-916, 2002.

CHAVES, M.M., MAROCO, J.P., PEREIRA, J.S. Understanding plant response to drought- from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239-264, 2003.

- CHAVES, M. M.; COSTA, J.M.; MADEIRA, SAIBO, N.J. 2011. Recent advances in photosynthesis under drought and salinity. **Advances in Botanical Research**, 57: 49-104.
- CONROY, D.M. The effects of dietary (n - 3) fatty acid supplementation on lipid dynamics and composition in rat lymphocytes and liver microsomes. **Biochimica et Biophysica Acta**. 861, p.457-462. 1986.
- COSTA, C. M. G. R. et al. Efeito inibitório do óleo essencial de manjeriço sobre o crescimento in vitro de *Erwinia carotovora*. **Tecnol. e Ciên. Agropec**, v.3, n.3, p. 35-38, set. 2009.
- CRAMER, G. R. 2002. Response of abscisic acid mutants of Arabidopsis to salinity. **Funct. Plant Biol.** 29: 561-67.
- CUNHA, A. H. N. et al. O reuso de água no Brasil: a importância da reutilização de água no país. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer-Goiânia**, v. 7, n. 13, 2011.
- CUNHA, A. R., MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, Botucatu, V. 14, n.1, p.1-11, jan, 2009.
- DASBERG, S.; BRESLER, E. **Drip irrigation manual**. Bet Dagan: International Irrigation Information Center, 1985. 95p.
- DELGADO-DÍAZ, S. 2003. Tendencias en la reutilización de aguas. El caso de Tenerife. **Tecnología del Agua**, 236: 30-42.
- DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, p.554. 2000.
- DIAS, N. D.; BLANCO, F. F. **Efeitos dos sais no solo e na planta**. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade. p. 129-140, 2010.
- DIDONET, A. D.; BRAZ, A. J. B. P.; DA SILVEIRA, P. M. Adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro irrigado: uso do clorofilometro. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 3, 2005.
- DOURADO NETO, D. et al. Programa SWRC (Version 3.0): Soil-Water Retention Curve (Software). Piracicaba: ESALQ; Davis: University of Califórnia, 1995.

DUARTE, A. S. Reuso de água residuária tratada na irrigação da cultura do pimentão (*Capsicum annuum* L.). Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 187p. 2006.

EJERT, M.; TEVINI, M. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, p. 43-49, 2002.

EL-SHINTINAWY, F.; EL-SHOUBAGY, N. Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedling by thiamine. **Biologia plantarum**. V.44, n.4, p.541-545, 2001.

EMONGOR, V. E.; RAMOLEMANA, G. M. Treated sewage effluent (water) potential to be used for horticultural production in Botswana. **Physics and Chemistry of the Earth, Oxford**, v. 29, p. 1101-1108, 2004.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. Nutrição mineral de plantas: **princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.

ESTEVES, B.S.; SUZUKI, M.S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Australis**, v.12, n.4, p.662-679, 2008.

FAGERIA, N. K.; SOARES FILHO, W. S.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. In: Gheyi, H. R.; Dias, N. da. S.; Lacerda, C. F. (ed.) Manejo da salinidade na agricultura: **Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. cap 13, p.205-216.

FEACHEM, R. G et al. Sanitation and disease: health aspects of excreta and wastewater management. **Chichester**: John Wiley, 1983.

FELIPE, R. T. A.; OLIVEIRA, J. A.; LEÃO, G. A. Potencial de *Cajanus cajan* e *Crotalaria spectabilis* para fitorremediação: absorção de arsênio e respostas antioxidativas. **Revista Árvore**, Viçosa, v.33, n.2, p.245-254, 2009.

FIRME, L. P. Efeito da irrigação com efluente de esgoto tratado no sistema solo-planta em Latossolo cultivado com cana de açúcar. (Doutorado) – Escola Superior Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 109p. 2007.

FLOWERS, T. J.; GALAL, H. K.; BROMHAM, L. Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants. **Functional Plant Biology**, v. 37, n. 7, p. 604, 2010.

FONSECA, A. F. Viabilidade agrônômica ambiental da disposição de efluentes de esgoto tratado em um sistema solo-pastagem. (Tese de Doutorado em Agronomia) – Escola Superior Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 174p. 2005.

FURLAN, M.C. Efeito da adubação com N, P2O5-K2O sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cv. genovese. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p. 172, 2000.

GOBI, S.A. Remoção de ovos de helmintos de esgostos secundários, por meio de filtro rápidos de areia, carvão antracitoso e zeólito para reuso agrícola e urbano não potável. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, p. 120, 2010.

GOMES, E. R. Eficiência no uso de água e de potássio no cultivo e na produção do morangueiro. Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, p. 99, 2013.

GONZÁLEZ-ZUÑIGA, J. A. et al. Microextracción en fase sólida de compuestos volátiles en albahaca (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Universitaria**, v. 21, n. 1, p. 17–22, 2011.

GUIDOLIN, J. C. **Reuso de efluentes**. Brasília: Secretaria de Recursos Hídricos, Ministério do Meio Ambiente, 2000.

GUIMARÃES, I. P. et al. Efeito da salinidade da água de irrigação na emergência e crescimento inicial de plântulas de mulungu. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 8, n. 1, p. 137–142, 28 mar. 2013.

HASEGAWA, PM. et al. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **The Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, 51: 463-499.

HERMS, D.A.; MATTSON, W.J. The dilemma of plants: to grow or defend. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v.67, n.3, p.283-335, set.1992.

HESPANHOL, I. A inexorabilidade do reuso potável direto. **Revista DAE**, v. 63, n. 198, p. 63–82, 2015.

HESPANHOL, I. **Potencial de reuso de água no Brasil**: agricultura, indústria, municípios, recarga de aquíferos. São Paulo, 2001. Separata de: Resumo de trabalhos técnicos III ENCONTRO DAS ÁGUAS, Chile, 2001.

HSIAO, T.C. et al. D.W. 1976. Water stress, growth and osmotic adjustment. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.** 273: 470-500.

HUSSAIN, A. I. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 986–995, jun. 2008.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIAS E TECNOLOGIA . Reuso de água com enfoque na produção da agricultura familiar: 2012. Camburiú: **IFC**, 2012.

JHA, D. et al. Variation in salinity tolerance and shoot sodium accumulation in *Arabidopsis* ecotypes linked to differences in the natural expression levels of transporters involved in sodium transport. **Plant, Cell & Environment**, fev. 2010.

JOSÉ, J. V. Adubação potássica e lâminas de irrigação na produção de biomassa e óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo , Piracicaba, p. 163, 2014.

JUBANY-MARI, T. et al. Hydrogen peroxide is involved in the acclimation of the Mediterranean shrub, *Cistus albidus* L., to summer drought. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 1, p. 107–120, 25 nov. 2008.

KHOSLA, M.K.; SOBOTI, S.N. Karyomorphological studies in genus *Ocimum* II. Sanctum group. **Citologia**, n.50, p.523-63, 2000.

KRAMER, P.J.; BOYER, J.S. Water relations of plants and soils. London: **Academic Press**, 1995. 495p.

KRAUSE.G.H.;WEIS.E. Chlorophyll a fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. **Photosyn. Res**, 5, p. 139-157. 1984.

LABRA, M. et al. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. **Plant Science**, v. 167, n. 4, p. 725–731, out. 2004.

LAOCHOWICZ, K.J. et al. Characteristics of plants extracts from five varieties of 104 basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.45, p.2660-5, 1997.

LARCHER, W. 1995: **Gas exchange in plants**. In W. Larcher: Physiological plant ecology. 3rd edition. Pp. 74-128. Berlin: Springer.

LAWRENCE, B. M. (Ed). Developments in food sciences, flavors and fragrances: a world perspective. Amsterdam: **Elsevier**, 1988. 161p.

LEE, S.-J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131–137, jun. 2005.

LEVITT, J. Responses of plant to environmental stresses. 2nd Edn. **Academic Press**, New York, USA. P.607. 1980.

LICHTENTHALER, H. K. Stress of Life: **From Molecules to Man**, vol. 851. p. 187-198. 1998.

LITTLE, T.M.; HILLS, F.J. **Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura**. México: Trillas, 1990. 270p.

MAIA, J. M. et al. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 342–349, 2012.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 319p. 1997.

MANCUSO, P. C. S.; SANTOS, H. F. dos. **A escassez e o reúso de água em âmbito mundial**. In: Reúso de água. Mancuso, P. C. S.; Santos, H. F. dos; Philippi Jr., A. (coord.). Barueri: Manole, 2003. 18p.

MAROUELLI, W.A.; SILVA, H. R. da. Aspectos Sanitários da água para fins de irrigação. **Comunicado Técnico da EMBRAPA Hortaliças**, Brasília, 1998. 7p.

MARTIN, J. K. et al. Phospholipase A2 as a probe of phospholipid distribution in erythrocyte membranes. Factors influencing the apparent specificity of the reaction. **Biochemistry**, v. 14, n. 25, p. 5400–5408, 16 dez. 1975.

MARUR, C. J. et al. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* Brasília, v. 6, n.2, p. 103-108, 1994.

MATHIS.P.; PAILLOTIN,G. (1981) **Primary processes of photosynthesis**. In Hatch.M.D. and Boardman.N K. 547 A.Neori et al. (ed). *The Biochemistry of Plants*. Academic Press, New York, Vol. 8, p. 98-161.

MATYSIK, J. et al. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. **Curr. Sci.** v. 82, p. 525–532, 2002.

MAZUTTI, M. et al. Caracterizacáo química de extratos de *Ocimum basilicum* L. obtidos através de extracáo com CO₂ a altas pressoes. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1198, 2006.

- MELONI, D. A. et al. Contribution Of Proline And Inorganic Solutes To Osmotic Adjustment In Cotton Under Salt Stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 599–612, 28 fev. 2001.
- MILLER, G. et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 4, p. 453–467, abr. 2010.
- MINAMI, K. et al. **A cultura do manjeriço**. Série produtor rural n°36. Piracicaba: ESALQ-Divisão de biblioteca e documentação, 2007. 25 p.
- MITLER, R. Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405-410, 2002.
- MORAIS, S. M et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de Croton do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v.29, p. 907-910. 2006.
- MOTOS, J. R. A. Utilización de aguas regeneradas para el riego de dos especies de la familia de las mirtáceas (*Myrtus communis* L. y *Eugenia myrtifolia* L.). Respuesta morfológica, fisiológica y bioquímica a distintos niveles de salinidad. Tese (Doutorado) - Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, Espanha. p.338, 2014.
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, n. 2, p. 239–250, fev. 2002.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.651-681, 2008.
- NICKNAM, S. R., MCCOMB, J. 2000. Salt tolerance of selected Australian woody species- a review. **Forest Ecology and Management**. 139: 1-19.
- NIU, G.; CABRERA, R. I. Growth and physiological responses of landscape plants to saline water irrigation: A review. **HortScience**, v. 45, n. 11, p. 1605–1609, 2010.
- NOBEL, P. S. 1991. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. **Academic Press**. New York. 488 p.
- OZIEMBLOWSKI, M. M. et al. 13899-Cloreto de sódio altera o sistema de defesa antioxidante de *Baccharis trimera*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.
- PADALIA, R. C.; VERMA, R. S. Comparative volatile oil composition of four *Ocimum* species from northern India. **Natural Product Research**, v. 25, n. 6, p. 569–575, mar. 2011.

- PARDO, J. M. Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 5, p. 1181–1199, 2 mar. 2006.
- PEDRERO, F. et al. Soil chemical properties, leaf mineral status and crop production in a lemon tree orchard irrigated with two types of wastewater. **Agricultural Water Management**, v. 109, p. 54–60, jun. 2012.
- PEIXOTO, P.H.P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 11, 137-143, 1999.
- PEREIRA, R. de C. A.; MOREIRA, A. L. M. Manjeriç o: cultivo e utilização. **Embrapa Agroind ustria Tropical**, *Documentos* 136, 31p, 2011.
- POLITEO, O.; JUKIC, M.; MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 379–385, jan. 2007.
- PRINS, C. L.; VIEIRA, I. J. C.; FREITAS, S. P. Growth regulators and essential oil production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 2010.
- PRISCO, J. T. Alguns aspectos da fisiologia do “stresse” salino. **Revista Brasileira de Bot nica**, v.3, p.85-94, 1980.
- PRISCO, J.T.; GOMES FILHO, E. **Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas**. In: GHEY, H.R.; DIAS, N.S da; LACERDA, C.F. de. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza-CE, INCSal, 2010. 472 p.
- RAIJ. et al. **Análise química para avaliação de fertilidade de solos tropicais**. 2001. 285p.
- RAMOS, MB. et al. Produção de capítulos florais da camomila em função de populações de plantas e da incorporação ao solo de cama-de-aviário. **Horticultura Brasileira**. v. 22, p. 566-572, 2004.
- REJILI, M. et al. Effect of NaCl on the growth and the ionic balance K⁺/Na⁺ of two populations of *Lotus creticus* (L.) (Papilionaceae). **South African Journal of Botany**. v.73, p.623-631, 2007.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, p. 123-130, 2003.

REY, P. et al. Molecular characterization of two chloroplast proteins induced by water deficit in *Solanum tuberosum* L. plants: involvement in the response to oxidative stress. In: SMALLWOOD, M.F.; CALVERT, C.M.; BOWLES, D.J. (eds.). Plant responses to environmental stress, p. 145-152. Oxford, **BIOS Scientific Publishers**, 1999.

RODRÍGUEZ, P. et al. Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 53, p.113-123. 2005.

ROSADO, L. D. S. et al. Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjeriço cv. Maria Bonita. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 291–296, 2011.

SALISBURY, F. B., ROSS, C. W. 1994. **Fisiología Vegetal**. Grupo Editorial Iberoamericana. 759 p.

SÁNCHEZ-DÍAZ, M., AGUIRREOLEA, J. 1991. Respuestas fisiológicas al estrés en leguminosas adaptadas a ambientes con clima mediterráneo. En J. López Gorge (eds.). **Fijación y movilización biológica de nutrientes**. C.S.I.C. Madrid. 1-18 p.

SÁNCHEZ-DÍAZ, M., AGUIRREOLEA, J. 1993. Relaciones hídricas. En: fisiología y Bioquímica Vegetal. **Interamericana**. McGraw Hill. 49-90 p.

SANTOS, O. S. et al. Growth and nutritional status of helicônia irrigated with treated wastewater in greenhouse. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 8, p. 820–827, 2012.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 38, p. 995-1014, 2005.

SCHOLANDER, P.F. et al. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148, 339-346.

SCHOSSLER, T.R. et al. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. Enciclopédia Biosfera, **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.15; p.1563-1578, 2012.

SCHÖTTLER, M. A. et al. Metabolic control of photosynthetic electron transport in crassulacean acid metabolism-induced *Mesembryanthemum crystallinum*. **Funct Plant Biol.** p.29:697–705. 2002

SHVALEVA, A.L. et al. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. **Tree Physiology**, v. 26, p. 239-248, 2006.

SILVA, F. DE A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, 2009.

SILVA, P.A. et al. Efeito da adubação mineral e orgânica e do horário de colheita em manjeriço doce. **Horticultura Brasileira**. v.19, suplemento, 2001.

SILVA, E. F. F. Manejo da fertirrigação e controle da salinidade na cultura do pimentão utilizando extratores de solução do solo. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, p. 136, 2002.

SILVEIRA, J.A.G. et al. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GREYI, H.R.; DIAS, N.S.; LACERDA, C.F. In: Manejo da salinidade na agricultura: **Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade, p.161-180, 2010.

SIMÕES CMO; SPITZER V. 1999. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES CMO. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC. p. 387-415.

SIMON, J.E. et al. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. **Journal of Essential Oil Research**, v.4, n.1, p.71-5, jan-fev. 1992.

SKERRETT, M., TYERMAN, S. D. 1994. A channel that allows inwardly directed fluxes of anions in protoplasts derived from wheat roots. **Planta**. 192: 295–305.

SMIRNOFF, N. Metabolic flexibility in relation to the environment. In: Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation. Oxford: **Bios Scientific publishers**, 1995. p. 1-13.

SMIRNOFF, N. Plant resistance to environmental stress. Curr. Op. **Biotechnology**, v. 9, p. 214-219, 1998.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. Revista Tropical – **Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n. 1, p. 9, 2007.

SOBOTI, S.N.; POUHPANGADAN, P. **Studies in the Genus *Ocimum***: cytogenetics, breeding and production of new strains of economic importance. In: ATAL, C. K., KAPUR, B. M. (Ed) Cultivation and utilization of aromatic plants. Jammu-Tawi: Regional Laboratory Council of Scientific and Industrial Research, 1982. v.3, 606p.

SRINIVAS, V.; BALASUBRAMANIAN, D. Proline is a protein-compatible hydrotrope. **Langmuir**, v. 11, n. 7, p. 2830–2833, jul. 1995.

SUGAWARA, Y. et al. Sedative effect on humans of inhalation of essential oil of linalool:: Sensory evaluation and physiological measurements using optically active linalools. **Analytica Chimica Acta**, v. 365, n. 1, p. 293–299, 1998.

SYVERTSEN, J. P.; GARCIA-SANCHEZ, F. Multiple abiotic stresses occurring with salinity stress in citrus. **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 128–137, jul. 2014.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 2, p. 89–97, fev. 2010.

TAIZ, L; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TARCHOUNE, I. et al. Changes in the antioxidative systems of *Ocimum basilicum* L. (cv. Fine) under different sodium salts. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 5, p. 1873–1881, set. 2012 a.

TARCHOUNE, I. et al. Effects of NaCl or Na₂SO₄ salinity on plant growth, ion content and photosynthetic activity in *Ocimum basilicum* L. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 2, p. 607–615, mar. 2012 b.

TATTINI, M. et al. 2006. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. **New Phytologist**. 170: 779-794.

TÁVORA, F. J. A. F.; FERREIRA, R. G.; HERNANDEZ, F. F. F. Growth and water relations in guava plants under nacl saline stress. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 441–446, 2001.

TESTER, M; DAVENPORT, R. Na⁺ Tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of Botany**. v.91, p. 503-527. 2003.

VALDÉS, R. et al. Saline reclaimed wastewater can be used to produce potted weeping fig (*Ficus benjamina* L.) with minimal effects on plant quality. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 4, p. 1167, 28 nov. 2012.

VIEIRA, R. F. et al. Genetic diversity of *Ocimum grantissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. **Biochemical Systematic Ecologic**. v.29, p. 287-304, 2001.

VOLAIRE, F., THOMAS, H., LELIEVRE, F. Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought. I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. **New Phytol.** v. 140, p. 439-449, 1998.

WALTERS, D. R.; BINGHAM, I. J. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. **Annals of Applied Biology**, v. 151, n. 3, p. 307–324, dez. 2007.

WESTCOT, D. W. Quality control of wastewater for irrigated crop production. Rome: Food and agriculture organization, **Water Reports**, 10, 1997.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater: **Wastewater use in agriculture**, Geneva. v. 2, 2006.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture: report of a WHO scientific group. **Technical Report Series**, Geneva, 778, 74p. 1989.

YOSHIDA, K. Plant Biotechnology Genetic Engineering to Enhance Plant Salt Tolerance. **Journal of Bioscience And Bioengineering**.v. 94, n. 6, p.585-590. 2002.

7 APÊNDICE

Apêndice 1. Dias de cultivo de *O. basilicum* L. e épocas de amostragem. As datas representam o início e término das épocas estabelecidas no ano de 2013.

Épocas de amostragem	Datas	Dias após a semeadura	
-	26/12/2012	1	Semeadura
-	03/01/2013	9	Emergência
-	19/01/2013	25	Transplântio
	26/02/2013	63	<i>Sem aplicação dos Trat.</i>
1^a	27/02/2013	64	
	27/02/2013	64	Apl. dos Tratamentos
2^a	07/03/2013	72	
3^a	13/03/2013	78	
4^a	21/03/2013	86	
5^a	28/03/2013	93	
6^a	04/04/2013	100	Final

Apêndice 2. Parâmetros avaliados durante a condução do experimento em plantas de *O. basilicum* L., irrigadas com diferentes qualidades de água em diferentes épocas de amostragem.

Parâmetros avaliados	Épocas de amostragem					
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a
1) Potencial Hídrico	x	x	x	x	x	x
2) Conteúdo Relativo de Água – CRA	x		x		x	
3) Crescimento e Biomassa	x	x		x	x	x
4) Fotossíntese e Condutância Estomática	x	x	x	x	x	x
5) Fluorescência			x	x	x	
6) Índice Relativo de Clorofila	x			x		x
7) Análises Bioquímicas (Prot, Prol, Sod, Cat, Lip)	x		x	x	x	x
8) Óleo Essencial		x		x	x	x
9) Nutrientes Foliaves			x			x
10) Nutrientes da Radiculares			x			x
11) Solução da Extração do Solo						x
12) Variáveis físicas do Solo	x		x			x

Apêndice 3. Médias dos tratamentos

Parâmetros Avaliados	Tratamentos			
	Controle	15mM NaCl	Água de reuso	30mM NaCl
$\Psi_{w\text{ foliar}}$ (KPa)				
CRA (%)	70,71 a	77,17 a	73,09 a	71,39 a
Altura das plantas (cm)	63,80 a	65,40 a	63,86 a	65,20 a
Diâmetro do caule (mm)	6,03 a	6,08 a	6,00 a	5,93 a
Área foliar (m^2 de folha planta ⁻¹)	0,118 a	0,110 a	0,115 a	0,097 a
Número de folhas	180 a	188 a	184 a	180 a
MFF (g planta ⁻¹)	37,01 a	40,52 a	37,58 a	36,51 a
MFC (g planta ⁻¹)	31,83 a	33,70 a	35,90 a	32,31 a
MSF (g planta ⁻¹)	6,20 ab	6,31 a	5,74 ab	5,37 b
MSC (g planta ⁻¹)	6,36 a	6,88 a	7,18 a	6,70 a
MSR (g planta ⁻¹)	3,40 a	3,48 a	3,48 a	3,07 a
Relação MS Folha/caule (g planta ⁻¹)	1,39 a	1,32 a	1,24 a	1,19 a
MST - Folha/caule/raiz (g planta ⁻¹)	15,97 ab	16,68 a	16,40 ab	15,15 b
MST - Folha/caule (g planta ⁻¹)	12,56 a	13,20 a	12,92 a	12,08 a
SLA - (cm^2 folhas g ⁻¹ MS _{folhas})	195,70 a	182,14 a	202,66 a	187,75 a
LAR - (m^2 folhas g ⁻¹ MS _{planta})	0,0083 a	0,0076 a	0,0080 a	0,0074 a
LWR - (g folhas g ⁻¹ MS _{total})	0,424 a	0,413 a	0,390 a	0,391 a
A - ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	13,24 a	12,39 a	12,81 a	12,63 a
gs - ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$)	0,236 a	0,214 a	0,204 a	0,229 a
E - ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ S}^{-1}$)	4,77 a	4,29 a	4,21 a	4,42 a
Ci - ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$)	251,19 a	252,33 a	253,75 a	251,31 a
Fo	424,50 a	492,24 a	415,11 a	505,65 a
Fm	2497,63 a	2400,31 a	2354,32 a	2469,21 a
Fv/Fm	0,83 a	0,79 a	0,82 a	0,79 a
IRC (SPAD)	20,18 a	17,49 b	21,19 a	19,38 ab
PST (mg g ⁻¹ MF)	2,84 a	2,41 a	3,13 a	2,26 a
L- prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MF)	0,48 a	0,53 a	0,49 a	0,49 a
SOD (UI $\mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$)	4,05 ab	5,57 a	3,93 b	5,21 ab
CAT ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prote\u00edna}^{-1}$)	8,87 c	14,94 b	8,00 c	22,90 a
Peroxidação Lipídios (mol MDA* MF ⁻¹)	8,50 a	8,18 a	7,46 a	9,16 a
UR do solo (%)	13,60 a	12,95 a	13,40 a	13,37 a
CE do solo (dS m ⁻¹)	80,96 d	264,40 b	131,25 c	323,81 a
T. do solo - (°C)	28,15 a	27,33 ab	26,54 b	27,24 ab