

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

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS INDUZIDOS POR
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE *Ocimum basilicum* L.**

RENATA BRUNA DOS SANTOS COSCOLIN

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Irrigação e Drenagem).

BOTUCATU – SP

Março – 2012

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

**EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS INDUZIDOS POR
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE *Ocimum basilicum* L.**

RENATA BRUNA DOS SANTOS COSCOLIN

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Irrigação e Drenagem).

BOTUCATU – SP

Março – 2012

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

C834e Coscolin, Renata Bruna dos Santos, 1982-
Efeitos fisiológicos e bioquímicos induzidos por deficiência hídrica em plantas de *Ocimum basilicum* L. / Renata Bruna dos Santos Coscolin. - Botucatu : [s.n.], 2012
xiii, 82 f. : il. color., gráfs., tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012

Orientador: Fernando Broetto
Inclui bibliografia

1. Antioxidantes. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Irrigação com déficit hídrico. 4. Manjerição. 5. Metabolismo secundário. 6. Plantas - Respiração. I. Broetto, Fernando. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFEITOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS INDUZIDOS POR
DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PLANTAS DE *Ocimum basilicum* L."

ALUNA: RENATA BRUNA DOS SANTOS COSCOLIN

ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO BROETTO

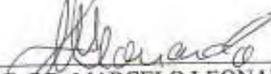
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. FERNANDO BROETTO



PROF. DR. ANTONIO EVALDO KLAR



PROF. DR. MARCELO LEONARDO

Data da Realização: 16 de março de 2012.

Oferecimento

“A minha família:

Que acreditou em minha capacidade de superar obstáculos e garantiu os meios para mais uma conquista importante em minha vida.”

Dedico

“A Deus:

A quem clamei tanto para agradecer as oportunidades e meus acertos quanto para pedir refúgio, equilíbrio e tranquilidade.

A minha Mãe Ana:

Pessoa imprescindível em minha vida pela qual tenho amor, respeito e admiração incondicional”.

AGRADECIMENTOS

“Este trabalho só foi possível devido a participação de muitas pessoas, meus sinceros agradecimentos a todos que, direta ou indiretamente, participaram e contribuíram neste estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa concedida.

Ao Dr^o. Antonio Evaldo Klar e ao Dr^o. Marcelo Leonardo por terem aceito o convite em participar da banca avaliadora de minha dissertação e por contribuírem na complementação do documento final.

Ao programa de pós-graduação em Agronomia (Irrigação e Drenagem) da Faculdade de Ciências agrônômicas Unesp Botucatu, ao qual estive vinculada, e ao Depto. de Engenharia Rural, pela infraestrutura disponibilizada, em especial ao técnico Gilberto, a quem recorri inúmeras vezes para me auxiliar na instalação do experimento. Gentil, nunca deixou de fazer elogios durante a condução do mesmo.

Ao Depto Química e Bioquímica, em especial ao técnico Rafael e as funcionárias Lourdes e Elaine pela companhia, suporte e paciência durante a temporada de análises. Ao Laboratório de Plantas medicinais do Dept. de Produção Vegetal -Horticultura da pela estrutura cedida para etapa de secagem e extração das plantas.

Aos colegas de pós graduação: Eduardo (Nando Reis), que muito gentilmente me auxiliou durante as leituras com o IRGA e Maria Izabel (Inxada), pela ajuda nas etapas de secagem e extração do óleo essencial e pela demonstração de carinho, compreensão e disponibilidade de sempre me “socorrer” e me tranquilizar.

A minha mãe Ana, a pessoa mais carinhosa, generosa, humilde e com o coração mais puro que conheço. Mesmo em momentos delicados, às vezes se colocava em segundo plano para me auxiliar durante essa trajetória quase nunca linear que é a vida.

Parceria perfeita, fechamos em um propósito e em comum acordo, mesmo com a distância, saudade e intercorrências do dia a dia foi a participação dela primordial para execução dessa dissertação. Com seu amor, sabedoria, força e amizade soube com perfeição cada palavra de incentivo e carinho, para manter a calma em meu coração nos momentos de mais desconforto.

Obrigada por sempre querer meu melhor, em acreditar que sou capaz, que sou especial e a me incentivar a correr atrás de minhas vitórias.

Todas as mães são únicas e especiais, mas quem teve a SORTE, GRAÇA E O PRIVILÉGIO, de ter você como mãe foi exclusivamente eu.

A minha tia-irmã Anacê também responsável por esse título, como sua sobrinha-irmã, você sempre aguentando minhas “pentelhices” desde pequenina. Quando levava tuas coisas para Botucatu emprestada (uma confusão- levava tanta bronca). Você jamais deixou de ser prestativa quando eu precisei, todos os agradecimentos seriam poucos, pois sem a sua participação esse título seria bem mais difícil de se obter.

As minhas crianças maiores de 70 anos, meus avós Joarez e Mariana (casal bem peculiar), os responsáveis pela maravilhosa família que tenho. A família a qual cresci, aprendi, chorei, ri. A família ideal para que eu me tornasse um ser humano admirador do nosso bem mais precioso – a VIDA.

Minha melhor amiga Gisele que nem mesmo a distância e o tempo conseguiu diluir a intensidade do carinho, amizade, cumplicidade e bem querer.

Mesmo a Km de distância, em um país literalmente gélido, nunca deixou de participar e se envolver nos principais acontecimentos da minha vida. Ela sem nem ao menos estar em meu convívio diário, torceu, vibrou, compartilhou e consegue entender como poucos o valor desse título. I always be at your side.

Ao meu orientador de longos anos, Fernando Broetto – Uma referência profissional e de vida, lembro do dia o qual solicitei uma vaga para estágio logo após uma aula e assim dei início ao delineamento das minhas preferências na área. Sua confiança, amizade, ajuda e conselhos foram necessários e fundamentais para finalização desse trabalho. Não somos apenas companheiros de profissão, o senhor com sua experiência e destreza contribuiu para que me tornasse uma profissional responsável, honesta e persistente.

Minhas amigas: Helen Baldani, querida companheira de república durante todos os anos da graduação, nossa amizade permanece e se renova a cada dia (toda vez que ver os filmes do nosso amado ogro Shrek certeza, lembrarei muito de você) e Glaucy Vulcano, roxEVERfriend, agradeço pelos mais de 15 anos de amizade.

Ao meu namorado Diego, agradeço por aceitar e acreditar em nosso relacionamento iniciado em um momento delicado e que exigiu muito de mim. Seu apoio, cumplicidade e companheirismo demonstrados diariamente mesmo estando um pouquinho distante tornaram mais amenos meus dias de tensão e sufoco.

As “BINAS” Aline e Géssica, agradeço por me acolherem no momento em que mais precisei de compreensão (etapa final do mestrado). Vocês me contagiariam com essa alegria enorme presente em cada uma, me emocionaram, ajudaram e compartilharam momentos inesquecíveis comigo. Vocês estarão eternamente em minhas melhores lembranças desses oito anos de Botucatu.

As “des”orientadas - irmãs: Erika, Aline e Talita pela parceria, suporte e os momentos de descontração no laboratório mesmo quando todas estavam atarefadas.

Em especial a irmã mais “nova” Dayanne, que com muita personalidade, sensibilidade e disciplina soube me colocar nos eixos quando precisei, em tão pouco tempo você me deu conselhos valiosos que levarei comigo pelo resto da vida.

Ao meu amigo Rai pela força, apoio moral e os brindes do rock in Rio.

A Leticia, Priscila, Ronaldo e Silvia (Pais da Priscila) pela força durante a implantação do experimento.

A todos que me apoiaram, torceram e acompanharam mais um passo dessa caminhada que por ventura, eu possa ter esquecido de mencionar, muito obrigada!”

“Que você seja um vendedor de sonhos.

Ao fazer os outros sonhar, não tenha medo de falhar.

E se falhar, não tenha medo de chorar. E se chorar, repense a sua vida, mas não desista, dê sempre uma nova chance para si mesmo...”

Augusto Cury.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. RESUMO..... | 1 |
| 2. SUMMARY..... | 3 |
| 3. INTRODUÇÃO..... | 5 |
| 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 7 |
| 4.1 O estudo das plantas medicinais..... | 7 |
| 4.2 Aspectos da cultura do manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.)..... | 8 |
| 4.3 Desenvolvimentos da planta..... | 10 |
| 4.4. Composição do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> L..... | 11 |
| 4.5. Fatores que podem alterar a biomassa da planta, rendimento e composição do óleo essencial..... | 12 |
| 4.6 Deficiência hídrica..... | 14 |
| 4.7 Efeitos da deficiência hídrica sobre parâmetros de crescimento..... | 16 |
| 4.8 Efeitos da deficiência hídrica nas trocas gasosas e fotossíntese..... | 17 |
| 4.9 Efeito da deficiência hídrica no acúmulo de solutos orgânicos e nas relações hídricas da planta..... | 19 |
| 4.10 Influência da deficiência hídrica no metabolismo das plantas..... | 21 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS..... | 24 |
| 5.1 Localização e instalação dos experimentos..... | 24 |
| 5.2 Manejo da cultura..... | 24 |
| 5.3 Delineamento experimental..... | 26 |
| 5.4 Condução dos tratamentos..... | 27 |
| 5.4.1 Acompanhamento do potencial hídrico do solo (Ψ : base massa seca)..... | 27 |
| 5.5 Análises dos parâmetros biométricos..... | 29 |
| 5.5.1 Altura de plantas..... | 29 |

| | |
|--|----|
| 5.5.2 Comprimento de raiz | 29 |
| 5.5.3 Determinação da massa de matéria fresca (MMF) e seca (MMS) da planta..... | 30 |
| 5.5.4 Índices de crescimento. | 30 |
| 5.5.5 Conteúdo relativo de água (CRA) | 31 |
| 5.5.6 Teor de Clorofilas..... | 31 |
| 5.6 Determinação das características fisiológicas..... | 31 |
| 5.7 Análises bioquímicas | 31 |
| 5.7.1 Coleta e armazenamento do material vegetal..... | 31 |
| 5.7.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto..... | 32 |
| 5.7.3 Determinação do teor de proteína solúvel total | 32 |
| 5.7.4 Determinação do teor de L-prolina..... | 32 |
| 5.7.5 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)..... | 33 |
| 5.7.6 Atividade da enzima Catalase (CAT; EC 1.11.1.6)..... | 33 |
| 5.8 Determinação quantitativa do óleo essencial | 34 |
| 5.8.1 Coleta e armazenamento do material vegetal para extração do óleo essencial | 34 |
| 5.8.2 Determinação quantitativa do óleo essencial de plantas de <i>O. basilicum</i> L..... | 34 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 36 |
| 6.1 Parâmetros de crescimento..... | 36 |
| 6.1.1 Altura de planta..... | 36 |
| 6.1.2 Comprimento de Raiz..... | 38 |
| 6.1.3 Matéria seca de folhas, caule e raízes..... | 40 |
| 6.1.4 Área foliar, Razão de área foliar, Razão de peso foliar..... | 44 |
| 6.1.5 Conteúdo relativo de água | 47 |
| 6.1.6 Conteúdo de clorofila. | 48 |
| 6.2 Trocas Gasosas..... | 50 |
| 6.3 Análises Bioquímicas..... | 55 |
| 6.3.1 Determinação do teor de proteína solúvel total..... | 55 |
| 6.3.2 Teor de Prolina | 57 |
| 6.3.3 Análise da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)..... | 59 |

| | |
|---|----|
| 6.3.4 Análise da atividade da enzima catalase (CAT)..... | 60 |
| 6.4 Avaliação do rendimento e produtividade de óleo essencial em folhas (+inflorescências) de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. | 62 |
| 7. CONCLUSÕES..... | 66 |
| 8. REFERÊNCIAS..... | 68 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas..... | 14 |
| Figura 2. Instalação do experimento em estufa | 25 |
| Figura 3. Início da suspensão da suspensão da irrigação- 50% das plantas florescidas..... | 29 |
| Figura 4. Visualização do procedimento de hidrodestilação | 35 |
| Figura 5. Diferenças visuais para altura de plantas entre tratamentos (T1, T2, T3 e T4) na época de amostragem (E3)..... | 38 |
| Figura 6. Diferenças visuais entre as plantas dos tratamentos controle (T1) e os tratamentos submetidos a DH (T2, T3 e T4) na época (E3)..... | 48 |
| Figura 7. Valores médios para fotossíntese líquida (A) e condutância estomática (Gs) de <i>O.basilicum</i> L sob diferentes níveis hídricos em três épocas a partir do florescimento..... | 51 |
| Figura 8. Valores médios para transpiração (E) e concentração interna de CO ₂ (Ci) de <i>O.basilicum</i> L sob diferentes níveis hídricos em três épocas de amostragem partir do florescimento..... | 55 |
| Figura 9. Valores médios para teor proteína solúvel (µg µL ⁻¹) em folhas de plantas de <i>O. basilicum</i> L. submetidas á diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem | 56 |
| Figura 10. Valores médios para teor de prolina (µM prolina g ⁻¹ MF) em folhas de plantas de <i>O. basilicum</i> L. submetidas á diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem..... | 57 |
| Figura 11. Valores médios para atividade da enzima superóxido dismutase (U SOD µg prot ⁻¹) em plantas de <i>O. basilicum</i> L. submetidas á diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem..... | 60 |
| Figura 12. Valores médios (n=6) para atividade da enzima catalase (µKat µg prot ⁻¹) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. submetidas á diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem..... | 61 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Análise química do substrato - Latossolo Vermelho distrófico textura média (Led), utilizado no experimento..... | 25 |
| Tabela 2. Delineamento experimental no esquema fatorial 4 x 3 para os experimentos com DH em <i>O. basilicum</i> | 26 |
| Tabela 3. Relações entre teores de água e potenciais de água do solo (base massa seca) utilizados no experimento..... | 27 |
| Tabela 4. Relações entre teores de umidade e potenciais de água do solo definidos para os tratamentos..... | 28 |
| Tabela 5. Valores médios para altura de plantas (cm) de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem durante o ciclo da cultura..... | 37 |
| Tabela 6. Valores médios para comprimento de raiz (cm) de plantas de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem | 39 |
| Tabela 7. Valores médios para matéria seca das folhas (g) de plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de DH em três épocas de amostragem | 40 |
| Tabela 8. Valores médios para matéria seca do caule (g) de plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de DH em três épocas de amostragem | 41 |
| Tabela 9. Valores médios para matéria seca da raiz (g) de plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de DH em três épocas de amostragem | 42 |
| Tabela 10. Valores médios para matéria seca total (g) de plantas de plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de DH em três épocas de amostragem | 43 |
| Tabela 11. Valores médios para biomassa final (%) de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem | 44 |
| Tabela 12. Valores médios para área foliar de plantas de plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de DH em três épocas de amostragem | 45 |
| Tabela 13. Valores médios para razão de área foliar RAF (m ² g ⁻¹ MS planta) em plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de DH em três épocas de amostragem..... | 45 |

| | |
|---|----|
| Tabela 14. Valores médios para razão de peso foliar RPF (g MS m^{-2}) em plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivadas sob diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem | 46 |
| Tabela 15. Valores médios para conteúdo relativo de água (%) de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem | 47 |
| Tabela 16. Teores médios de clorofila a ($\mu\text{g cm}^{-2}$) nas folhas de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes tratamentos com D H em três épocas de amostragem | 49 |
| Tabela 17. Teores médios de clorofila b ($\mu\text{g cm}^{-2}$) em folhas de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem | 49 |
| Tabela 18. Valores médios para fotossíntese líquida (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de <i>O. basilicum</i> L. sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem..... | 50 |
| Tabela 19. Valores médios para condutância estomática (Gs) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de <i>O. basilicum</i> L. sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica, aferidos em três épocas de amostragem a partir do florescimento | 52 |
| Tabela 20. Valores médios para transpiração (E) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em plantas de <i>O. basilicum</i> L. sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica, aferidos em três épocas de amostragem partir do florescimento | 53 |
| Tabela 21. Valores médios para concentração interna de CO_2 (Ci) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ L}^{-1}$) em plantas de <i>O. basilicum</i> L. sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica, aferidos em três épocas de amostragem de amostragem partir do florescimento | 53 |
| Tabela 22. Valores médios para teor de óleo essencial (%) de plantas de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica na época intermediária E2 (pleno florescimento) e época final E3 (pós florescimento) | 62 |
| Tabela 23. Valores médios para produtividade de óleo essencial (mg planta^{-1}) de plantas de <i>O. basilicum</i> L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica na época intermediária E2 (pleno florescimento) e época final E3 (pós florescimento) | 65 |

1. RESUMO

Um dos mais importantes fatores ambientais e agronômicos que afetam a produção de metabólitos secundários em plantas é a disponibilidade de água. Quantidade limitada de água tem efeito negativo sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. Entretanto, a deficiência hídrica (DH), muitas vezes tem se mostrado favorável ao acúmulo de constituintes ativos em espécies medicinais, aromáticas e condimentares. Neste trabalho verificou-se a influência da DH na partição de assimilados, acúmulo e composição de óleo essencial em manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). Paralelamente, foram avaliados parâmetros bioquímicos e fisiológicos relacionados com a resposta das plantas a DH. Os tratamentos foram constituídos por T1 (controle) que foi mantido sempre irrigado, T2 (DH Leve), T3 (DH Moderada) e T4 (DH Severa). Nas plantas dos tratamentos, as quais foram submetidas à deficiência hídrica, suspendeu-se o fornecimento de água quando 50% das plantas iniciaram florescimento. Observou-se que as plantas cultivadas sob DH responderam aos tratamentos com redução da altura, comprimento de raiz, conteúdo relativo de água e diminuição da fotossíntese líquida. Para as plantas submetidas à DH severa, a diferença observada nesses parâmetros com relação ao controle, foram mais evidentes. Desta maneira, constatou-se que todos os parâmetros biométricos e fisiológicos relativos às trocas gasosas

foram influenciados negativamente pela DH. A análise da atividade enzimática indicou que o estresse causado por DH ativou as enzimas relacionadas ao sistema de resposta antioxidativo (SOD e CAT). Neste trabalho portanto as plantas de *O. basilicum* que foram mantidas durante o período experimental em condições próximas a capacidade de campo (T1) apresentaram melhores resultados de produção e teor de óleo essencial.

Palavras-chave: *Ocimum basilicum*, deficiência hídrica, metabólitos secundários, trocas gasosas, enzimas antioxidativas, Óleo essencial.

2. SUMMARY

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS, INDUCED BY HYDRIC DEFICIENCY IN PLANTS OF *Ocimum basilicum* L. Botucatu, 2012. (Mestrado em Agronomia/ Irrigação e Drenagem) Faculdade de Ciências Agronômicas – Universidade Estadual Paulista.

Author: RENATA BRUNA DOS SANTOS COSCOLIN

Adviser: FERNANDO BROETTO

The water is of one of the most important environmental and agronomic factors that affect the production of secondary metabolites in plants. Limited amount of water has a negative effect on growth and development of plants. However, water stress (DH), has often proved positive in the accumulation of active constituents in medicinal, aromatic and culinary species. There was the influence of DH on the participation of assimilation, accumulation and composition of essential oil in basil (*Ocimum basilicum* L.). In parallel, we evaluated biochemical and physiological parameters

related to the response of plants to DH. The treatments were T1 (control) was always kept irrigated and T2 (DH Light), T3 (DH Moderate) and T4 (DH Severe). In plants which were subjected to water stress, was suspended the supply of water when 50% of the plants began to flourish. It was observed that plants grown under DH responded with reduced height, root length, relative water content decreased rate photosynthesis. Plants that are subjected to severe DH, the difference of these parameters with the control were more evident. Therefore, it was found that all biometric and physiological parameters related to gas exchange were negatively impacted by the DH. The analysis of enzyme activity indicated that the stress caused by DH activated the enzymes related to antioxidant response system (SOD and CAT).

Keywords: *Ocimum basilicum*, water deficiency, secondary metabolites, gas exchange, antioxidant enzymes, essential oil.

3. INTRODUÇÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) pertence à família botânica Labiatae e teve suas origens nas regiões tropicais da África.

Nos últimos anos, vem aumentando a procura pelo manjeriço devido às suas propriedades medicinais atribuídas ao óleo essencial extraído desta espécie. Este óleo essencial é empregado na indústria alimentícia farmacêutica (TESKE; TRENTINI, 1995) e formulação de cosméticos (NOLASCO, 1996).

A água exerce influência em diversos processos, como a assimilação de CO₂, transpiração, expansão foliar e partição de fotoassimilados para órgãos da planta. Segundo Kudrev (1994), a redução da quantidade de água disponível às plantas também leva ao aumento da atividade das enzimas hidrolíticas e à redução da intensidade fotossintética o que induz respostas metabólicas, como o declínio na taxa de crescimento, acúmulo de solutos e substâncias antioxidantes e expressão de genes específicos de estresse (SINGH-SANGWAN et al., 1994)

Por isso, nas últimas décadas, o estudo de estresse vem ganhando mais importância em muitos campos da ciência e uma ampla variedade de abordagens tem sido empregada na tentativa de conhecer profundamente os processos envolvidos.

As plantas medicinais, incluindo as condimentares, ainda são pouco pesquisadas e inúmeras destas plantas não têm recebido atenção sobre certos aspectos agronômicos como: a forma mais adequada de propagação, espaçamentos, exigências nutricionais, época de colheita e principalmente demanda hídrica.

Nesse sentido, o presente trabalho busca avaliar o efeito da deficiência hídrica no solo sobre os parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos nas plantas de manjeriço (*O. basilicum* L.).

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 O estudo das plantas medicinais.

Antes de se iniciar o cultivo de plantas medicinais e aromáticas em escala comercial, faz-se necessário conhecer o comportamento da espécie em relação às características climáticas da região de plantio, as técnicas de cultivo e aos fatores bióticos e abióticos responsáveis pelo pleno desenvolvimento da planta. De acordo com Silva et al. (2002), poucos são os trabalhos referentes ao efeito da deficiência hídrica em plantas medicinais, principalmente aos relacionados com os produtos gerados através do metabolismo secundário que são influenciados por esses fatores acima citados (TREUTTER,2006).

Esses efeitos variam com o tipo, a intensidade e a duração do estresse, levando ao aumento ou redução do teor de algumas substâncias provenientes desse metabolismo, como os óleos essenciais encontrados nessas espécies.

Os produtos químicos produzidos pelos vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos, os chamados essenciais que são os metabolitos primários, em que estão incluídos os lipídeos, os protídeos e glicídios e os metabolitos secundários os quais apresentam estruturas complexas. Muitas destas classificadas como substâncias

farmacologicamente ativa. Em geral os metabólitos secundários possuem baixo peso molecular sendo encontrados em baixas concentrações (BOURGAUD et al., 2001; SIMÕES et al., 2001).

Então, os compostos resultantes desse metabolismo foram considerados por um longo tempo como excretas do vegetal, mas agora são reconhecidos como substâncias que estão envolvidas nos mecanismos de adequação do vegetal ao meio.

Sendo assim, faz-se necessário o incentivo à produção e as pesquisas em todas as áreas da cadeia produtiva de plantas medicinais, garantindo uma boa qualidade do produto e conseqüentemente melhor preço.

Esse aumento de valor agregado pode ser garantido, por exemplo, com um manejo hídrico adequado uma vez que este pode proporcionar um aumento no teor de óleo essencial levando a regularidade da oferta do produto.

4.2 Aspectos da cultura do manjericão (*Ocimum basilicum* L.).

O manjericão (*Ocimum basilicum* L.) pertence à família Labiatae e a ordem Lamiales (CRONQUIST, 1981) a qual possui aproximadamente 300 gêneros e 7500 espécies, no Brasil ocorrem 26 gêneros e cerca de 350 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005).

As espécies dessa família estão distribuídas na Ásia Tropical, África, América Central, América do Sul e Europa (SOBOTTI, et al., 1982; KHOSLA, 2000); porém existe uma controvérsia sobre o centro de origem do manjericão, segundo Paton et al., 1999 e Roveratti, 1999 o maior número de espécies pode ser encontrado nas florestas tropicais da África entretanto, além da África a América do Sul (Brasil) e Ásia são os principais centros de diversidade do gênero.

Muitos desses gêneros aclimataram-se facilmente, sendo cultivados em hortas e jardins como o gênero salvia (*Salvia officinalis* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), hortela-pimenta (*Mentha piperita* L.) e manjericão (*Ocimum basilicum* L.) (JUDD et al., 1999). Todos possuem uma importante característica desta família que é a presença de odor intenso conferido pela presença de óleos essenciais (MARTINS et al., 1998).

Essas espécies, segundo Fahn (1988) e Metcalfe e Chalk (1979), são caracterizadas também pela presença de numerosos tricomas glandulares que recobrem a

maior parte dos órgãos aéreos. A grande importância econômica desta família se deve principalmente aos óleos essenciais produzidos e armazenados nessas estruturas (MARTINS, 1996).

A planta de *O. basilicum* L, também conhecida como basilico, é um arbusto com a altura entre 45 a 90 cm, segundo Bown (1995). As folhas possuem de 2,5 a 7,5 cm de comprimento, caule ramificado com flores as quais dependendo da variedade são de coloração branca, rósea, branco amarelada, avermelhada, lilás ou levemente púrpura. Os frutos do tipo aquênio (VON HERTWIG, 1991) estão dispostos em numerosas inflorescências (espigas ou racemos) típicas do gênero.

Quanto ao seu desenvolvimento, alguns autores a consideram como anual (SANTOS et al., 1988; ROIG, 1992; TECEDDEIRO, 1996; FUENTES; GRANDA, 1997; PANIZZA, 1998), porém na literatura encontram-se citações que indicam que a espécie pode ser tanto perene quanto anual dependendo do clima, da variedade ou cultivar (GARLAND, 1989; HERTWING, et al., 1992; CASTRO, 1995; CORRÊA JUNIOR et al., 1998).

Vieira et al. (2001) caracterizaram quimicamente diversas espécies de *Ocimum* e encontraram grande diversidade em termos quantitativos e qualitativos na produção do óleo essencial, revelando mais de 100 compostos orgânicos.

Conforme Simões e Spitzer (2000) esses compostos presentes no óleo essencial são altamente complexos, sendo que seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis, aldeídos, cetonas, fenóis e ácidos orgânicos.

Chaves (2001) salienta que no Brasil grande parte da produção de plantas medicinais não é tecnificada e sim obtida por extrativismo através da agricultura familiar por pequenos produtores rurais principalmente da região nordeste (BLANK et al., 2004). Dessa forma, o manejo da cultura é conduzido de forma pouco padronizada, o que pode afetar a produção de biomassa, qualidade e quantidade do óleo essencial (FURLAN, 2000). A época de colheita, o horário e o modo de secagem do material vegetal também podem ter influência sobre a composição e o teor do óleo (SILVA et al., 2007).

O gênero *Ocimum* é uma importante fonte de óleos essenciais, úteis na medicina popular em praticamente todos os continentes (SIMON et al. 1999; VIEIRA; SIMOM, 2000; CHAVES, 2001). Além disso, o óleo essencial é empregado na indústria alimentícia (aromatizante e flavorizante), farmacêutica (ação antiespasmódica, estomacal,

carminativa, estimulante, anti-séptica intestinal, diurética, anti-helmíntica, antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatória, analgésica e anestésica) (TESKE; TRENTINI,1995) e por fim na formulação de cosméticos (produção de perfumes) (NOLASCO, 1996).

Montes-Belment e Carvajal (1998) confirmam que o óleo essencial tem ação fitopatogênica para o controle de fungos causadores de doenças em milho.

A utilização do extrato de plantas deste gênero também como inseticida foi relatada por alguns autores. Rigueiro (1992) estudou a função do óleo como repelente de *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Musca domestica nebulosa*, *Culex pipiens fatigans*, *Culex quinquefasciatus* (mosquitos, moscas e pernilongos). Côrrea Jr et al. (1994) também obtiveram atividade larvicida e repelente para várias espécies de moscas, mosquitos.

Observamos pela literatura que a espécie de manjeriço mais comum no Brasil é a que apresenta folhas pequenas como o *O. basilicum* L. ou como *O. basilicum* var. *minimum* (FURLAN, 2000).

4.3 Desenvolvimentos da planta.

Com relação ao clima, segundo Hay e Waterman (1993) e CORRÊA JUNIOR et al. (1998) as plantas de manjeriço se adaptam melhor a climas amenos ou quentes e úmido não tolerando temperaturas frias e geadas. von Hertwig (1991) cita que quando as plantas dessa espécie estão submetidas a baixas temperaturas durante o ciclo há o comprometimento de seu desenvolvimento e redução do teor de óleo essencial, se acaso essas condições climáticas coincidirem com a época de corte. Recomenda-se para espécies medicinais a aplicação de adubação orgânica, pois além de favorecer a resistência das plantas a pragas e doenças não compromete a produção de massa fresca e de princípios ativos (CARVALHO, 2004).

Também são consideradas como espécie intermediária com relação ao fotoperíodo (MATHON, 1972). A propagação pode ser por estaquia ou sementes.

Segundo Furlan (2000) o cv. genovese apresenta 50% do seu florescimento na 12ª semana, com pico na 14ª semanas após o plantio (mais de 80% das flores totalmente abertas). Após a 16ª semana ocorrerá a queda significativa das flores e folhas o que corresponderá ao início da fase de frutificação.

Hertwing (1992), Treske e Trentini (1995) e Oliveira et al. (1996) recomendam para a extração do óleo essencial que a colheita seja feita no início da floração, quando a produção de óleo essencial é máxima, entretanto, Simon (1990) e Pillai e Chinnamma (1996) indicam que o maior acúmulo de óleo essencial na espécie *O. basilicum* encontra-se na fase de pleno florescimento.

Laochowicz et al. (1997) ressaltam que muitos fatores, como variedade, condição climática e época de colheita podem interagir, sendo que a variação desses fatores altera o rendimento, composição química e a qualidade sensorial do manjeriço.

Dessa forma, o cultivo do manjeriço é normalmente feito em ambiente protegido, minimizando assim as interferências causadas por esses fatores. Como resultado, pode-se obter maior crescimento das plantas, precocidade de colheita além da redução de um possível estresse fisiológico.

4.4. Composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L.

A ISO (International Standard Organization) define óleos essenciais como óleos voláteis obtidos na maioria dos casos por hidrodestilação. De forma geral são substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas que também podem ser chamados de óleos etéreos ou essências. Além disso, os óleos essenciais tem como características o odor, sabor (SILVA et al., 1998; SIMÕES; SPITZER, 1999; SILVA; CASALI, 2000) e são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (AKISUE, 1972; CECY, 1989).

Os constituintes dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas sendo então classificados como fitogênicos. Nessa mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações e, normalmente, um deles é o composto majoritário seguidos de outros que apresentam teores inferiores (SIMÕES; SPITZER, 2000).

Os produtos derivados de plantas medicinais detêm uma parcela do mercado mundial em torno de 14 bilhões, de um total estimado de 280 bilhões de US\$ (cerca

de 5% do mercado mundial de produtos farmacêuticos) (CARVALHO et al., 2007). Para a Europa e Estados Unidos, o mercado fitoterápico foi estimado no ano de 2000, o equivalente a 8,5 e 6,3 bilhões de US\$, respectivamente (SIMÕES; SHENKEL, 2002).

O óleo essencial de manjeriço mais valorizado é tipo Europeu (SIMON et.al, 1990), tendo como constituintes principais o linalol (40,5 a 48,2%) e metilcavicol (28,9 a 31,6%) (FLEISHER, 1981; CHARLES; SIMON, 1990).

Na indústria de vitaminas, o linalol é um importante intermediário na produção de vitamina E, e constitui, junto com o geraniol ponto de partida para a produção da vitamina A (BAUER; GARBE, 1985).

Além do linalol, constituinte com grande valor no mercado internacional (ALVES, et al., 2006), o manjeriço contém altas concentrações de outros compostos fenólicos que estão associados ao alto potencial antioxidante da planta (LEE; SCAGEL, 2009; SURVESWARAN et al., 2007; SHAN et al., 2005) como o ácido rosmarínico também presente na composição do óleo essencial de manjeriço (LEE; SCAGEL, 2009; JAVANMARDI et al , 2002) .

4.5. Fatores que podem alterar a biomassa da planta, rendimento e composição do óleo essencial.

As concentrações de vários produtos secundários provenientes das espécies medicinais são fortemente dependentes das condições de crescimento e situações de estresse causam um forte impacto sobre as vias metabólicas responsáveis pelo acúmulo desses constituintes.

Alguns dos fatores que podem afetar a biomassa e as propriedades físico-químicas de uma espécie medicinal ou condimentar, segundo Palevitch (1987), estão relacionados a alguns aspectos agrônômicos como tais como: preparo do solo, época de semeadura, espaçamento, herbicidas seletivos, pesticidas, adubação, irrigação, reguladores vegetais, tratamentos de sementes e as práticas utilizadas durante os procedimentos de pré-colheita, colheita e pós-colheita.

Para se determinar, por exemplo, quando uma alteração nas lâminas de irrigação foi benéfica ou prejudicial, deve ser realizada uma análise química baseada na relação entre a massa seca da planta pelo teor de princípios ativos, isto estabelecerá se a alteração do manejo hídrico durante o cultivo adotado foi adequada ou não. (MONTANARI JUNIOR, 2000; SANTOS et al., 2004).

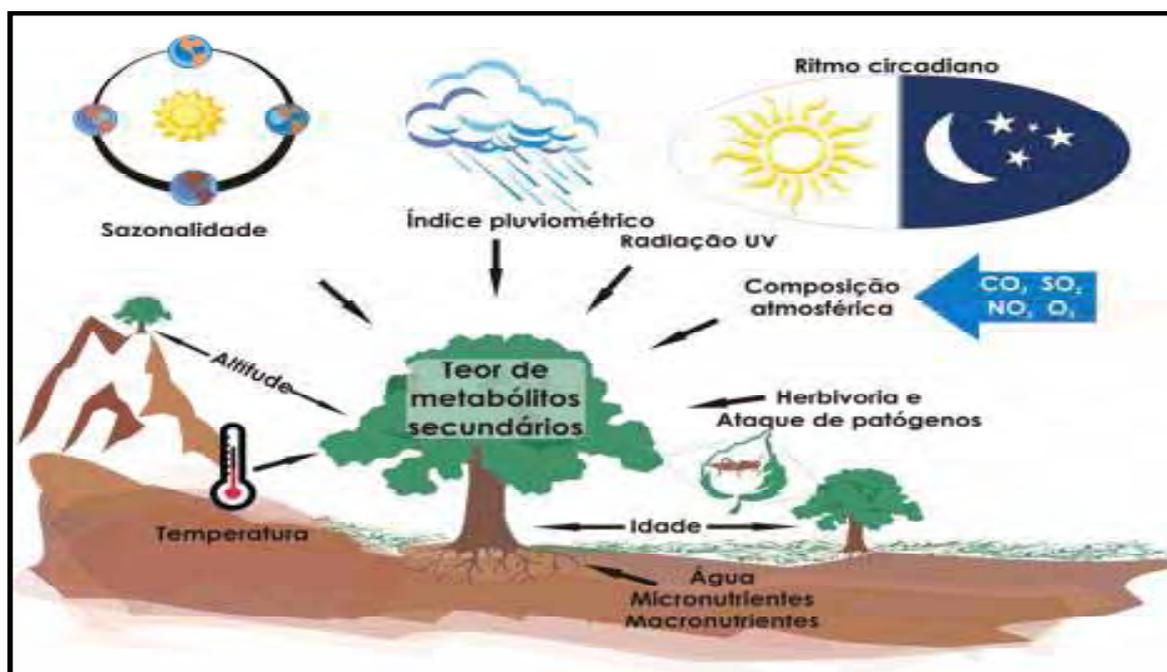
De acordo com Andrade e Casali (1999), sendo a água essencial à vida e ao metabolismo das plantas, seria esperado que em ambientes mais úmidos a produção de metabólitos secundários fosse maior; no entanto, para algumas plantas medicinais a maior disponibilidade de água pode diminuir a produção de óleo essencial.

Para Corrêa Júnior et al. (1994), plantas irrigadas podem compensar o baixo teor de metabólitos secundários com maior produção de biomassa, o que resulta um maior rendimento final de metabólitos/área.

No cultivo de manjeriço-italiano, Simon et al. (1992) citam que há o aumento do conteúdo de óleo essencial e alteração na composição do mesmo quando as plantas foram submetidas a deficiência hídrica moderada.

A idade e o estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar não apenas a quantidade total de metabólitos secundários produzidos, mas a proporção relativa destes compostos. Tecidos mais jovens geralmente apresentam grande atividade biossintética, aumentando a produção de vários compostos, dentre estes, os óleos essenciais.

Silva et al. (2003) avaliaram a relação entre o estágio de desenvolvimento e o teor de óleo essencial em plantas de *O. basilicum*. Os autores relataram maior produtividade na colheita realizada em plantas que passaram maior tempo no campo.



Fonte: Gobbo-Neto e Lopes (2007).

Figura 1. Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas.

4.6 Deficiência hídrica.

O suprimento de água para uma cultura resulta das interações que se estabelecem ao longo do sistema solo-planta-atmosfera. Quanto maior for a demanda evaporativa da atmosfera mais elevada será a necessidade do fluxo de água neste sistema.

Desta forma, o estresse causado pela deficiência hídrica pode ser interpretado como uma consequência da diminuição sazonal da disponibilidade de água no solo devido às variações da demanda evapotranspiratória de cada região ou a capacidade de retenção de água de cada solo.

Em solos arenosos, há predominância de grandes espaços entre as partículas. Já solos argilosos têm como características partículas e poros menores que dificultam a drenagem e retêm a água mais firmemente.

Essas características interferem na capacidade de retenção da água no solo, logo em solos de textura argilosa e com alto teor de matéria orgânica essa capacidade é maior que em solos de textura arenosa (KIEHL, 1979).

Numa situação de deficiência hídrica no solo, os vegetais podem, tanto apresentar desordens fisiológicas quanto mecanismos que permitam a sobrevivência sob essas condições. Sendo assim, as respostas das plantas à deficiência hídrica irão variar dependendo da espécie, do genótipo, da duração e severidade do estresse, do estágio fenológico e de qual órgão será mais afetado.

Logo, algumas adaptações a deficiência hídrica iram se manifestar em geral das seguintes formas: alteração do crescimento, adaptações morfológicas, fisiológicas e alterações metabólicas.

Larcher (2004) relata que um organismo vegetal atravessa uma sucessão de características em resposta a condições de estresse, subdivididas em três fases: *fase de alarme*, onde ocorre a perda da estabilidade das estruturas que mantêm as funções vitais (processos bioquímicos ligados ao mecanismo fotossintético); *fase de resistência*, a qual tem maior durabilidade quando as plantas são submetidas a um estresse contínuo, iniciando assim um processo de rusticidade, no qual dependendo da duração a planta pode apresentar adaptações através do ajustamento osmótico, por exemplo; *fase de exaustão* a qual ocorre quando a planta está submetida a condições sub-ótimas por um período prolongado ou intenso deixando a planta suscetível à pragas ou doenças por consequência da diminuição das defesas.

De acordo com Blum (1997), apesar dos muitos estudos sobre as respostas dos vegetais à baixa disponibilidade hídrica desde o começo do século XX, ainda há muita discussão sobre os efeitos da seca em plantas, tendo em vista uma grande variabilidade no grau de tolerância demonstrada pelos vegetais.

Segundo Angelocci, (2002), a deficiência hídrica é uma medida que relacionada ao balanço hídrico que representa a defasagem entre absorção e a transpiração do vegetal; enquanto que o termo estresse hídrico caracteriza uma situação em que a deficiência hídrica é de grau potencialmente danoso à planta.

Teoricamente, para Kramer e Boyer (1995), as plantas são os melhores indicadores da disponibilidade hídrica. Contudo, no caso de indicadores da própria planta, o mais comum é utilizar variáveis relacionadas à folha, pela importância desse órgão e pela

maior facilidade de nela se realizarem as medidas dos parâmetros estudados. Segundo os autores, o potencial de água foliar é o indicador mais utilizado.

De acordo com Nogueira et al. (2005), a maioria dos aspectos de crescimento e desenvolvimento dos tecidos vegetais são afetados pela deficiência hídrica.

Segundo os autores, como consequência da deficiência hídrica, verifica-se uma diminuição do volume celular, um aumento na concentração de solutos e, aos poucos, a desidratação do protoplasma. Aliado a isto, a diminuição da turgescência pode ser admitida como uma das respostas ao estresse hídrico, sendo o processo de crescimento, principalmente em extensão, o primeiro afetado.

4.7 Efeitos da deficiência hídrica sobre parâmetros de crescimento.

A primeira resposta das plantas à deficiência hídrica é a diminuição de turgescência, e juntamente a esse evento também são previstas alterações no processo de crescimento (LARCHER, 2006). Portanto, as atividades dependentes da turgescência celular, como a expansão foliar e alongamento das raízes, são os mais sensíveis (TAIZ E ZEIGER, 2004).

A seca está entre as restrições ambientais que afetam o crescimento das culturas e da produção agrícola em todo o mundo (ASHRAF; FOOLAD, 2007; FAROOQ et al., 2009).

Devido à redução da área foliar, a transpiração conseqüentemente é reduzida, conservando o suprimento de água do solo por um período maior. No entanto, essa redução limita a produtividade devido à queda na absorção de CO₂ e na interceptação de luz (MATTOS et al., 2008).

Silva et al. (2002) estudaram o efeito do estresse hídrico sobre o crescimento, teor e a composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) e observaram que a deficiência hídrica severa diminuiu o crescimento, a produção de biomassa fresca e seca das plantas e, o teor de óleo essencial.

Já Singh (2004) ao estudar alecrim (*Rosmarinus officinalis*), obteve resultado contrário aos encontrados por Silva sobre o parâmetro de crescimento, obtendo

plantas maiores com 50% de evaporação do tanque classe A. Porém não houve diferenças no teor e na qualidade do óleo.

Carvalho et al. . (2003) ao estudarem plantas de artemísia (*A. annua* L.), as quais foram cultivadas a 100, 90, 70 e 50% da capacidade de campo, também verificaram reduções de 16% na altura e 22,5% na MF nas plantas crescidas a 50% da capacidade de campo, em relação às crescidas a 90% da capacidade de campo.

Em condições de estresse hídrico, o crescimento de biomassa em *M. alternifolia* também foi limitado quando a água disponível no solo era inferior a 69% (MURTAGH, 1996).

Entretanto, períodos de deficiência hídrica no solo podem incrementar o desenvolvimento das raízes e acumular fotoassimilados, o que aumenta a absorção de água das camadas do solo que têm água disponível (CALVACHE et al., 1997). Esta expansão do sistema radicular, estimulada pela deficiência hídrica nas camadas mais profundas do solo, possibilita às plantas explorarem além da umidade a fertilidade do solo, dependendo das características morfológicas e genotípicas da espécie (PIMENTEL, 2004; NOGUEIRA et al., 2005).

4.8 Efeitos da deficiência hídrica nas trocas gasosas e fotossíntese.

A tolerância das culturas à escassez de água é complexa a nível celular (FOOLAD et al., 2003; ASHRAF; HARRIS, 2004), sendo demonstrada pelas alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas que acarretam na redução do crescimento e rendimento das plantas (BOUTRAA, 2010 ; INGRAM; BARTELS, 1996).

Como efeito fisiológico geralmente observamos o aumento da resistência estomática, reduzindo a transpiração e conseqüentemente o suprimento de CO₂ para a realização do processo de fotossíntese (NOGUEIRA et al., 2001).

Outros mecanismos também são relatados como a inibição da atividade da enzima Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase / (Ribusco) (Parry et al., 2002) e comprometimento da síntese de ATP (TEZARA et al., 1999).

Em situação de baixa disponibilidade hídrica, a atividade fotossintética declina paralelamente à diminuição do volume celular, ou seja, ao declínio da turgescência das células (MORAIS et al., 2003).

Além disso, condições de seca diminuem o conteúdo de clorofila (NIKOLAEVA et al., 2010; BELTRANO; RONCO, 2008).

Concluindo, temos então que uma planta, ao se encontrar em um status hídrico desfavorável, a manutenção da turgescência das células-guarda utiliza como mecanismo para manter a água no interior da planta o fechamento dos estômatos (HSIAO, 1990). Com isso, haverá alterações em alguns processos metabólicos tais como: o aumento da atividade de enzimas hidrolíticas, a variação da taxa de assimilação de carbono (difusão do CO₂ no interior das células), alocação de fotoassimilados (variação entre a relação parte aérea e o sistema radicular) (KUDREV, 1994), transpiração e expansão celular, o que levará ao comprometimento da habilidade reprodutiva da planta (LARCHER, 2004; CHAVES et al., 2002).

Esses fatores somados ocasionarão uma redução geral da produtividade, expressa pela queda na taxa fotossintética.

A regulação estomática é outra linha de defesa das plantas submetidas às condições de deficiência hídrica (MATTOS, 1992) e não só atua como um recurso para prevenir a dessecação do tecido, como também tem a capacidade de variar a resistência à difusão de CO₂, a fim de aumentar a relação entre a taxa média de assimilação e a taxa média de transpiração da planta (ROBELO, 1982).

Sendo assim, tem sido demonstrada a relação direta entre a redução da concentração intercelular de CO₂ e o fechamento dos estômatos, o que promoverá o decréscimo na assimilação do CO₂ e no rendimento quântico do fotossistema 2 (BAKER, 1991).

Entretanto, também tem sido relatado que, sob deficiência hídrica severa, além das restrições estomáticas no suprimento de CO₂, podem ocorrer limitações em componentes não estomáticos como danos nos centros de reação do fotossistema 2, os quais poderiam apresentar reversão parcial após reidratação (ANGELOPOULOS et al., 1996).

Sabe-se que aproximadamente 98% de toda água absorvida pelos vegetais é perdida pelo processo de transpiração durante as fases fenológicas. Logo, o fluxo de

vapor d'água e CO₂ e a manutenção da temperatura interna da folha promovida pelo processo de transpiração, são fundamentais para o desenvolvimento pleno do vegetal e quaisquer alterações podem ocasionar danos na produção.

Em Oliveira et al. (2005), observou-se que em plantas de feijão sob estresse hídrico, a temperatura da folha e a transpiração apresentaram estreita relação com a resistência estomática.

4.9 Efeito da deficiência hídrica no acúmulo de solutos orgânicos e nas relações hídricas da planta.

Para avaliar o grau de deficiência hídrica de uma planta é comum se utilizar variáveis que possam ser medidas em folhas, como o conteúdo relativo de água e o potencial hídrico foliar, sendo este o mais utilizado em estudos fisiológicos (ANGELOCCI, 2002).

O conteúdo relativo de água (CRA) é um dos indicadores das relações hídricas da planta, que corresponde à quantidade de água no tecido num dado instante, comparando com a capacidade máxima de água que ele poderá reter (CAIRO, 1995).

O potencial hídrico foliar (Ψ_w), por sua vez, corresponde ao estado de energia da água nas plantas, o qual é mensurado por uma metodologia descrita por Scholander et al. . (1965) e pode ser estimado como a tensão de água no xilema, ou a pressão necessária para que a água possa ser retirada do mesmo.

Este potencial em plantas sob efeito da deficiência hídrica tende a decrescer, seja pela desidratação dos tecidos ou pela hidrólise dos compostos de reserva (CAIRO,1995), e afeta processos como a condutância estomática, a fotossíntese e a transpiração, pois estes processos dependem de um constante fluxo de entrada e saída de CO₂ e O₂ na célula. Grande parte desse fluxo é feita pela abertura dos estômatos, controlada pela turgescência tanto das células guardas quanto das células epidérmicas do mesmo.

As espécies *Melaleuca uncinata* R. Br. e *Melaleuca lanceolata* Otto, quando submetidas à deficiência hídrica, reduziram significativamente o potencial hídrico, o potencial osmótico, o potencial de turgor e o conteúdo relativo de água da folha, aumentando o conteúdo de prolina e seus análogos (NAIDU et al., 1987).

Em condições favoráveis as plantas, através dos processos de fotossíntese, sintetizam carboidratos para o consumo imediato e para armazenamento. Entretanto, em condições de baixa disponibilidade hídrica, a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos pode ser afetada (SOUZA et al., 1982).

Para Nepomuceno et al. (2001), certos carboidratos (alguns carboidratos solúveis) podem servir como solutos compatíveis que desempenham a função de manter o potencial hídrico foliar, devido ao reajuste osmótico, e também proteger as membranas das células durante a desidratação.

A habilidade de algumas espécies de plantas em ajustar osmoticamente suas células é outra resposta fisiológica e molecular a deficiência hídrica muito documentada na literatura. O acúmulo de açúcares, ácidos orgânicos e íons no citosol, no período da seca, pelas plantas superiores visa diminuir o potencial hídrico e, conseqüentemente, mantê-lo próximo do nível ótimo, assim como o turgor de suas células (BRAY, 1993).

Portanto, o ajustamento osmótico é um processo pelo qual o potencial hídrico pode ser diminuído sem que haja decréscimo da turgescência ou do volume celular (TAIZ e ZEIGER, 2004), tornando possível a manutenção da absorção de água e da pressão de turgescência da célula representando assim um importante mecanismo de aclimação (TAIZ E ZEIGER, 2004) e tolerância (CARVALHO, 2005) das plantas as condições de baixa disponibilidade hídrica.

De acordo com Larcher (2004), sob a influência do estresse, a síntese de protéica é inibida e a degradação de proteínas é acelerada, o que leva a um acúmulo de aminoácidos e aminas livres.

Característica marcante de um distúrbio no metabolismo das proteínas é a mudança nas proporções entre os aminoácidos e como conseqüência, um aumento na concentração dos chamados solutos compatíveis.

Os reguladores osmótico ou solutos compatíveis possuem a capacidade de manter a integridade das membranas e a estabilidade de enzimas (FAROOQ et al., 2009 ; ASHRAF; FOOLAD, 2007).

Um dos solutos compatíveis encontrado com maior frequência em diversas espécies vegetais, como resposta a deficiência hídrica, é o aminoácido L-prolina (SZABADOS; SAVOURÉ, 2010; SHAO et al., 2006; TAN et al., 2006).

A prolina pode se acumular nas células também pelos efeitos da salinidade e baixas temperaturas (NOGUEIRA et al., 2001). Além disso, outras funções são atribuídas a esse aminoácido como estabilizador de estruturas e dismutador de radicais livres (SARADHI et al., 1995).

4.10 Influência da deficiência hídrica no metabolismo das plantas.

O estresse oxidativo em vegetais pode ser definido como o desequilíbrio entre a formação e a remoção de agentes oxidantes no organismo, decorrente da geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO).

Segundo Mittler (2002), os agentes oxidantes das ERO são resultantes de uma redução parcial do oxigênio molecular, podendo estes estar na forma de oxigênio singlete $^1\text{O}_2$, radical hidroxila OH^\bullet , ânion superóxido O_2^\bullet e peróxido de hidrogênio H_2O_2 (SCANDALIOS, 2005; RESENDE et al., 2003 ; MITTLER, 2002).

Porém, atuam de várias maneiras durante a resposta de defesa nas plantas, podendo induzir a expressão de genes de defesa (SOARES; MACHADO, 2007).

Fatores como a deficiência hídrica, variações de luminosidade e temperatura, salinidade, injúrias provocadas por patógenos, uso de herbicidas, entre outros, podem intensificar a formação dessas espécies aumentando sua concentração no meio celular.

O principal ponto de produção das ERO durante as situações de estresse são as organelas com alta atividade de oxidação metabólica isto devido ao intenso fluxo de elétrons, exemplo: cloroplastos e mitocôndrias, sendo que nos cloroplastos a formação das ERO esta relacionada aos eventos fotossintéticos.

Os radicais superóxidos são os primeiros a serem formados, os quais não conseguem atravessar as membranas biológicas ficando confinados no compartimento onde foram gerados. Em seguida, haverá a formação da espécie peróxido de hidrogênio que tem a capacidade de atravessar as biomembranas e se distribuir a partir do local de sua produção (BREUSEGEM et al., 2001). A última e mais reativa espécie a ser formada é o

radical hidroxil (OH \cdot). Esse radical é formado pela redução do H₂O₂ por íons metálicos (Fe²⁺ e Cu²⁺) e tem grande afinidade por moléculas biológicas em seu sítio de produção, também apresenta uma meia-vida curta, pois reage rapidamente com moléculas biológicas sequestrando um átomo de hidrogênio (BREUSEGEM et al., 2001; NORDBERG; ARNER, 2001).

Portanto todas essas espécies destacam-se pela grande reatividade com biomoléculas que, por conseqüência, provocam a lipoperoxidação das membranas celulares (BREUSEGEM et al., 2001), bem como a oxidação de proteínas e quebra na cadeia do DNA (ARGUIRRE et al., 2005 ; HAMID et al., 2002).

Logo, um dos mecanismos que a célula dispõe para dismutar radicais livres produzidos em condição de DH, é a ativação de enzimas antioxidativas, dentre elas a 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).

Portanto, o monitoramento dessas enzimas pode ser utilizado como marcadores bioquímicos, para a avaliação dos diferentes níveis de estresse das plantas.

A enzima superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) são metaloproteínas que catalisam a dismutação de radicais superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio.

São encontradas três classes de SOD diferenciadas de acordo com o metal presente em seu sítio ativo: cobre/zinco (Cu/Zn SOD), ferro (Fe-SOD) e manganês (Mn-SOD) e localizadas em diferentes compartimentos celulares (SCANDALIOS, 2005).

Em trabalhos realizados com *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel, planta de sombra (MARCHESE et al., 2008) observaram que em condições de pleno sol, houve a produção das ERO e em resposta ocorreu a ativação da SOD, através de suas isoenzimas Cu / Zn SOD, Fe-SOD, e MnSOD.

Outra enzima importante no sistema de resposta antioxidativa em plantas é a catalase (CAT; EC 1.11.1.6), a qual decompõe o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) gerado nos peroxissomos durante a fotorrespiração (GERBLING et al., 1984), bem como o produto de reação da SOD.

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).

Essa enzima tem sido descrita como susceptível a fotoinibição e degradação, após sua inativação por luz, a atividade da catalase é fortemente dependente de uma nova síntese da enzima, como relatado por Hertwig et al. (1992).

Observa-se então que na literatura ainda são poucos os trabalhos referentes aos efeitos da deficiência hídrica em plantas medicinais, principalmente com os relacionados aos parâmetros bioquímicos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Localização e instalação dos experimentos.

Os experimentos foram conduzidos em estufa agrícola no Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrônômicas -FCA/UNESP e no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências - UNESP, Campus de Botucatu, SP.

5.2 Manejo da cultura.

As mudas de *Ocimum basilicum* L. variedade *folha fina* foram fornecidas pela empresa Caco Agrícola (Botucatu, SP). Após 20 dias da semeadura, as plântulas foram transferidas (tubetes) para vasos plásticos com capacidade de 5 kg de substrato. O substrato utilizado foi coletado na Fazenda Experimental Lageado (UNESP) na gleba denominada “Patrulha”.

De forma preliminar, foi realizada a análise da composição mineral do substrato no Laboratório do Departamento de Recursos Naturais - Ciência do Solo da Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP, Campus de Botucatu, SP, utilizando-se metodologia descrita por Rajj e Quaggio (1983).

Tabela 1. Análise química do substrato - Latossolo Vermelho distrófico textura média (Led), utilizado no experimento.

| Solo | pH | M.O. | P | H+Al | K | Ca | Mg | SB | CTC | V% |
|------|-------------------|--------------------|---------------------|-----------------------|-----|----|-----|----|-----|----|
| | CaCl ₂ | g dm ⁻³ | mg dm ⁻³ | mmol dm ⁻³ | | | | | | |
| | 4,7 | 10 | 7 | 31 | 1,5 | 15 | 1,0 | 20 | 51 | 40 |

Baseado nos resultados apresentados na Tabela 1 e na recomendação descrita pelo Boletim Técnico 100 do IAC (Raij et al., 1996) para *O. basilicum*, formulou-se a adubação química do solo para todos os tratamentos. Assim, aplicou-se 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, 45 kg ha⁻¹ de fósforo e 60 kg ha⁻¹ de potássio.

Para elevar a V% a 80, foi aplicado calcário dolomítico e os nutrientes necessários para adubação de plantio.



Figura 2. Instalação do experimento em estufa

Os vasos que receberam os adubos e calcário dolomítico permaneceram em incubação por 30 dias, cobertos com plásticos para manter a umidade e favorecer a reação do corretivo aplicado.

5.3 Delineamento experimental.

O delineamento experimental definido consistiu em quatro tratamentos correspondentes a diferentes níveis de deficiência hídrica (T1, T2, T3 e T4) observados em três épocas (E1, E2 e E3) conforme descrito na tabela 2.

As médias dos tratamentos submetidos à DH foram comparadas com as do tratamento controle pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa ASSISTAT 7.6 beta .

Tabela 2. Delineamento experimental no esquema fatorial 4 x 3 para os experimentos com DH em *O. basilicum*.

| Tratamentos | Épocas de amostragem | | |
|-----------------------|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| | E1(época 1) 60 DAP S I | E2 (época 2) 90 DAP 30 DASI | E3 (época 3) 120 DAP 60 DASI |
| T1 Controle | T1 x E1 | T1 x E2 | T1 x E3 |
| T2 DH Leve | T2 x E1 | T2 x E2 | T2 x E3 |
| T3 DH Moderado | T3 x E1 | T3 x E2 | T3 x E3 |
| T4 DH Severo | T4 x E1 | T4 x E2 | T4 x E3 |

SI – Suspensão da irrigação; DAP- Dias após o plantio; DASI- Dias após a suspensão da irrigação.

5.4 Condução dos tratamentos.

5.4.1 Acompanhamento do potencial hídrico do solo (Ψ : base massa seca).

As relações entre os potenciais hídricos e os teores de água do solo foram determinadas pelo método da placa de pressão de Richards (KLAR, 1984), conforme indicado na tabela 3.

Tabela 3. Relações entre teores de água e potenciais de água do solo (base massa seca) utilizados no experimento.

| | | Potencial hídrico solo (Mpa) | | | | | | |
|------------------|--|------------------------------|-------|-------|-------|------|------|------|
| | | Saturado | -0,01 | -0,03 | -0,05 | -0,1 | -0,5 | -1,5 |
| Teor de água (%) | | 24 | 15 | 12 | 11,2 | 10,3 | 9,2 | 8,3 |

Os manejos hídricos, aplicados durante o experimento, foram atribuídos de acordo com o teor de água correspondente ao potencial mínimo do solo definidos para cada tratamento (Tabela 4). A partir do peso seco do solo determinou-se o peso aproximado que este deveria ter quando alcançasse o teor de água correspondente ao manejo hídrico imputado para cada tratamento. O potencial mínimo do solo de cada tratamento foi monitorado pelo método da pesagem.

Todos os vasos foram pesados diariamente e quando atingido o peso aproximado determinado foram mantidos até o final do experimento através da reposição da água evapotranspirada .

Tabela 4. Relações entre teores de umidade e potenciais de água do solo definidos para os tratamentos.

| Tratamentos | Ψ_{solo} (MPa) | % Umidade |
|-------------------------|--|------------------|
| T1 – Controle | - 0,01 | 15 |
| T2- DH Leve | - 0,02 | 12,5 |
| T3 - DH Moderada | - 0,03 | 11 |
| T4- DH Severa | - 0,05 | 9 |

Cada tratamento foi composto por 50 vasos do tipo citros pote cônico de dimensões de 20 cm de abertura e 30 cm de comprimento. Cada vaso uma unidade experimental (repetição). As plantas atingiram 50% do florescimento aos 60 DAP sendo que, de acordo com a literatura, seria o período próximo à fase fenológica a qual a espécie teria maior acúmulo de óleo essencial. Conforme a presente hipótese, possivelmente a suspensão da irrigação a partir dessa fase, acarretaria alterações em parâmetros biométricos, fisiológicos e bioquímicos.



Figura 3. Início da suspensão da irrigação- 50% das plantas florescidas.

Após a suspensão da irrigação, realizaram-se avaliações, coletas e processamentos conforme descrito a partir do item 5.5.

5.5 Análises dos parâmetros biométricos.

5.5.1 Altura de plantas.

Foram realizadas determinações de altura das plantas, a partir dos 60 DAP; nesta determinação, as plantas foram medidas do colo até o ápice da haste maior, com frequência de 30 em 30 dias.

5.5.2 Comprimento de raiz.

Para a avaliação do comprimento do sistema radicular, quatro plantas de cada tratamento de foram cuidadosamente removidas dos vasos e o excesso de terra

presente nas raízes retirado em água corrente, e para medição do comprimento da raiz principal utilizou-se uma fita métrica.

5.5.3 Determinação da massa de matéria fresca (MMF) e seca (MMS) da planta.

Em cada época de amostragem do experimento foram coletados dados para verificar a MMF e posteriormente a MMS da parte aérea das plantas (folhas, caule e raiz), em g planta⁻¹. Esta análise foi realizada com o objetivo de se avaliar os índices de crescimento e distribuição da biomassa vegetal entre as diferentes partes da planta. Para a condução desta 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°C ± 5 até peso constante, para posterior medida da massa de matéria seca.

5.5.4 Índices de crescimento.

Para a determinação dos índices de crescimento foram coletadas todas as folhas de cada planta, sendo quatro plantas por tratamento (T1, T2, T3 e T4) em cada época (E1, E2 e E3).

Os dados da área foliar (cm² planta⁻¹) foram determinados através do medidor LICOR LI-3000 e utilizados para compor os seguintes índices de crescimento: AFE (área foliar específica), RPF (razão de massa foliar, ou o inverso de AFE) e RAF (razão da área foliar), de acordo com Atwell et al., (1999) e Wilson et al. (1999).

RPF - Relata a fração de biomassa total investido nas folhas:

$$RPF = MSF / MST - (\text{Massa seca de folhas} / \text{Massa seca total}), \text{ em g cm}^{-2}$$

RAF - Reflete o tamanho da área fotossintética em relação á massa respiratória:

$$RAF = AF / W (\text{área foliar} / \text{MS total}), \text{ em folhas cm}^2 \text{ g}^{-1}$$

5.5.5 Conteúdo relativo de água (CRA).

Após a suspensão da irrigação, o conteúdo relativo de água na folha (CRA) das plantas nas *Ocimum basilicum*, L foi analisado conforme Barrs e Weatherley (1962), através da pesagem da massa fresca (MF), túrgida (MT) e seca (MS) dos discos foliares de três plantas por tratamento, usando a expressão:

$$\% = [(MF-MS) / (MT-MS)]*100$$

5.5.6 Teor de Clorofilas.

Para a análise de pigmentos, foram utilizados discos foliares com 1,13 cm² de diâmetro os quais foram mantidos em 1 mL de dimetil-formamida (DMF) por 48 h para extração de clorofilas (a e b). Após a incubação, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda 646,8 e 663,8 nm. Os teores de clorofila foram determinados a partir de expressões específicas, descritas por Lee et al. (1987).

5.6 Determinação das características fisiológicas.

Avaliou-se os parâmetros taxa assimilatória líquida de CO₂, condutância estomática, transpiração e concentração interna de carbono. Os valores foram obtidos através de um medidor portátil de fotossíntese Mod. IRGA LI-6400. Foram utilizadas cinco plantas de cada tratamento durante o período experimental.

5.7 Análises bioquímicas.

5.7.1 Coleta e armazenamento do material vegetal.

Para a realização das análises bioquímicas, foram coletadas quatro plantas de cada tratamento. Após a coleta as folhas foram acondicionadas em tubos plásticos

do tipo *Falcon* e imediatamente imersas em nitrogênio líquido para congelamento rápido. Em seguida, os tubos foram mantidos em *Freezer* a -80°C .

Para o processamento, as folhas foram moídas em almofariz, na presença de nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino. Após pesagem, as amostras foram armazenadas transferidas para frascos *Eppendorf* e armazenadas em *Freezer* a -80°C .

5.7.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto.

As amostras foram processadas para obtenção de dois extratos diferentes: o primeiro para a análise do teor de L-prolina e o segundo para as análises de atividade enzimática.

Para o primeiro extrato (análise de prolina), amostras de tecido foliar (100 mg) foram ressuspensas em 2,0 mL de ácido sulfosalicílico (3% em água destilada). Após centrifugação por 10 min a $4.000 \times g$, o sobrenadante foi coletado e armazenado em freezer a -80°C .

O extrato para as análises das enzimáticas (SOD, CAT) e para a análise da concentração de proteína foi obtido pela ressuspensão do material vegetal (200 mg) em 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0.1 M, pH 7,8. Após centrifugação por 20 minutos a $5.000 \times g$, o sobrenadante foi coletado e armazenado em freezer a -80°C .

5.7.3 Determinação do teor de proteína solúvel total.

A concentração de proteína solúvel presente nos extratos foi determinada em triplicata, utilizando-se o método descrito por Bradford (1976) com albumina de soro bovino (BSA) como proteína padrão.

5.7.4 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

100 μL do extrato bruto; 2,0 mL de ninhidrina ácida; 2,0 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 .

5.7.5 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 fotoredução do NBT (Azul de nitrotetrazólio cloreto). A atividade foi determinada pela adição de 50 μL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM 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, conforme descrito por (DEL LONGO et al., 1993).

A reação foi iniciada pela iluminação dos tubos, em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25° C. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotoredução do NBT foi determinado pelo incremento na absorção, feita por espectrofotometria com leituras a 560 nm. Os tubos considerados “branco” para a análise receberam os mesmos reagentes, porém foram mantidos cobertos com papel alumínio, portanto, abrigados da luz. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para a inibição de 50 % da fotoredução 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 ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

5.7.6 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, pH7,0 suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12.5 mM. A variação

da absorção (ΔE) foi calculada em um intervalo de 80 s, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar $\varepsilon = 39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) da catalase, levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

5.8 Determinação quantitativa do óleo essencial.

5.8.1 Coleta e armazenamento do material vegetal para extração do óleo essencial.

Para a realização das análises de rendimento de óleo essencial, foram coletadas amostras de folhas e da inflorescência das plantas, nas épocas definidas para cada amostragem. Após a coleta as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas estufa a 30°C , para secagem. Ao atingir massa constante, foram separadas amostras para a realização das avaliações quantitativas (rendimento e produtividade) .

5.8.2 Determinação quantitativa do óleo essencial de plantas de *O. basilicum* L.

A análise quantitativa do óleo essencial foi realizada no laboratório de plantas medicinais localizado no Departamento de Produção Vegetal - Setor de Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Campus de Botucatu-SP. O aparelho utilizado para a hidrodestilação foi um modelo Clevenger modificado. As amostras de material foliar seco foram colocadas em balões (1000 mL) contendo 500 mL de água destilada. Após a hidrodestilação, o hidrolato (água + óleo essencial) foi retirado com auxílio de pipeta de Pasteur e transferido para recipientes fechados e levados por algumas horas no secador para retirada da umidade. A determinação quantitativa (rendimento do óleo essencial) foi feita através da diferença do peso dos recipientes previamente tarados, em balança analítica.



Figura 4. Visualização do procedimento de hidrodestilação.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Parâmetros de crescimento.

6.1.1 Atura de planta.

De acordo com a tabela 5 para a altura de plantas (cm), observou-se que na época 1 (E1, ou 60 DAP) não se observou diferenças significativas entre os tratamentos, indicando que as plantas até este ponto de observação, mantiveram padrões de crescimento semelhantes, provavelmente devido ao fato de que o solo ainda estava em condição de capacidade de campo. A partir da suspensão da irrigação (épocas E2 e E3; 90 e 120 DAP, respectivamente) observou-se que as plantas dos tratamentos T3 e T4 apontaram decréscimo para altura de plantas, quando comparadas ao controle.

Tabela 5. Valores médios para altura de plantas (cm) de *Ocimum basilicum* L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem durante o ciclo da cultura.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|-----------|------------------------------------|----------|----------|----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 40.60 cA | 41.20 cA | 41.20 cA | 40.60 bA |
| E2 | 51.20 bA | 51.60 bA | 48.60 bB | 44.00 aC |
| E3 | 56.20 aB | 59.00 aA | 51.40 aC | 46.60 aD |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula) ou na mesma linha (maiúscula) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV %= 2,89

Conforme discutido por Soha et al. (2010), plantas de *O. basilicum* apresentam redução nos parâmetros de crescimento, quando submetidas à DH (30% da capacidade de campo). Jaleel et al. (2010), Khorasaninejad et al. (2011) e Carvalho et al. (2003) também observaram redução nos parâmetros de crescimento de espécies medicinais, quando avaliados os parâmetros fisiológicos e de crescimento.

Segundo Kudrev (1994), a deficiência hídrica é um fator capaz de interromper processos de crescimento, não apenas diminuindo o acúmulo de massa fresca e seca, mas também alterando o processo de crescimento e acelerando processos catabólicos.

De acordo com Larcher (2000) a primeira e mais sensível resposta à deficiência hídrica é a diminuição da turgescência e associada a esse evento, a diminuição do processo de crescimento (em especial o crescimento em extensão).

A acentuada redução na altura das plantas submetidas aos tratamentos de DH moderada e severa pode estar associada com o alongamento celular, devido à perda da turgescência das células (Lacher, 2006).

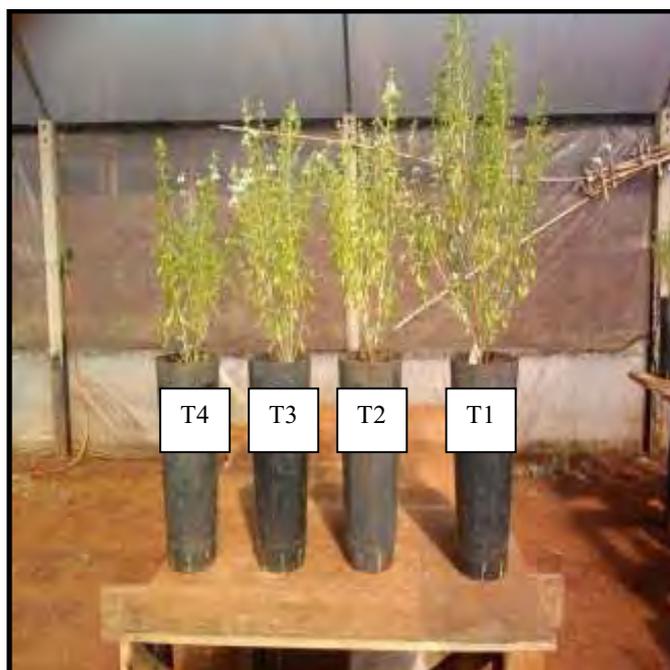


Figura 5. Diferenças visuais para altura de plantas entre tratamentos (T1, T2, T3 e T4) na época de amostragem (E3).

6.1.2 Comprimento de Raiz.

O comprimento radicular (Tabela 6) entre os tratamentos e durante E1 e E2, não diferiu estatisticamente. Houve redução deste parâmetro para os tratamentos de DH, comparados ao controle, somente a partir da terceira avaliação (120 DAP). Diferentemente da altura de plantas, o comprimento de raízes respondeu mais tardiamente aos efeitos da DH.

Tabela 6. Valores médios (n=5) para comprimento de raiz (cm) de plantas de *Ocimum basilicum* L nos diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|----------|----------|----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 26.00 cA | 26.00 bA | 26.00 aA | 26.00 aA |
| E2 | 33.80 bA | 35.60 aA | 31.80 aA | 32.00 aA |
| E3 | 41.20 aA | 34.00 aB | 31.40 aB | 29.60 aB |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula- tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 12,7%

O trabalho de Kannan e Kulandaivelu (2011) aponta também a redução no comprimento de raízes em ginseng (*Withania somnifera* Dun.) cultivado sob maior intervalo entre as irrigações (3 dias). O mesmo comportamento foi citado pelos trabalhos de Sankar et al. (2007) em plantas de *Abelmoschus esculentus* L., Wang et al. (2005) em espécies de *Populus* submetidos a DH.

Já Jaleel (2008) apresentou resultados contrários em plantas de *Catharanthus roseus*, quando estas foram cultivadas a 60% da capacidade de campo.

Os parâmetros de crescimento são influenciado por vários fatores internos e externos, sendo uma importante ferramenta para avaliação da produtividade.

Características da raiz, especialmente o comprimento, densidade radicular e espessura, são importantes para o pleno desenvolvimento da parte aérea. O incremento desses parâmetros favorece a capacidade da planta em absorver água e é um importante mecanismo de adaptação à seca.

A relação raiz-parte aérea depende de uma complexa rede de processos nutricionais e do desenvolvimento (TAIZ; ZEIGER, 2004). Estes autores ainda argumentam que há a possibilidade de se considerar a existência de um balanço funcional entre a absorção de água pelas raízes e a fotossíntese na parte aérea. A parte aérea de uma planta crescerá em função da absorção de água pelas suas raízes, sendo que a água é um dos fatores ambientais que mais limitam o crescimento vegetal.

Quando as plantas são submetidas em DH, os ápices radiculares começam a perder turgidez e o crescimento radicular se processa essencialmente em zonas que permaneçam úmidas. Assim, é freqüente encontrar-se um sistema radicular predominantemente superficial quando todas as camadas estão úmidas; quando as camadas superficiais começam a secar, ocorre um crescimento radicular para áreas mais profundas do solo (TAIZ; ZEIGER, 2004).

6.1.3 Matéria seca de folhas, caule e raízes.

A DH aplicada ao manjeriço (tratamentos T2,T3 e T4) provocou reduções significativas no acúmulo ou produção de matéria seca de folhas e caule (parte aérea).

A massa seca das folhas (MSF) das plantas do T1 (controle) foram as que apresentaram melhor resultado, com maiores médias em todas as épocas (0.36 g planta⁻¹ em E1 / 0.52g em E2/ 0.69g em E3 respectivamente) de acordo com a tabela 7.

Tabela 7 Valores médios (n=4) para matéria seca das folhas (g) de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|-----------|------------------------------------|---------|----------|----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 0.36 cA | 0.35 bA | 0.35 bA | 0.36 bA |
| E2 | 0.52 bA | 0.52 aA | 0.39 aB | 0.38 abB |
| E3 | 0.69 aA | 0.54 aB | 0.42 aC | 0.39 aC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 4,5 %

Na época de observação 1 (E1) não se observou diferença significativa entre os tratamentos.

Na E2, observou-se que o controle e a DH leve (T1 e T2) não apresentaram diferença significativa. Entretanto, diferiram dos tratamentos T3 e T4, que também não apresentaram diferença para MSF entre si. Na época 3 (E3) a média dos tratamentos T3 e T4 não diferiram entre si e apresentaram os menores valores para MSF.

Com relação á matéria seca do caule (MSC), tabela 7, as plantas não apresentaram diferenças estatísticas significativas, na época 1 (E1), independentemente do tratamento.

Na E2, os tratamentos T1 e T2 foram os que apresentaram maiores valores (média de 1,37 g planta⁻¹), o que se manteve constante até E3 (Tabela 8).

Tabela 8. Valores médios (n=4) para matéria seca do caule (g) de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 0.3733 bA | 0.3681 bA | 0.3623 bA | 0.3595 bA |
| E2 | 1.3711 aA | 1.3604 aA | 0.9076 aB | 0.7985 aC |
| E3 | 1.3786 aA | 1.2941 aA | 0.8933 aB | 0.7650 aC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 5.9%

Ainda em E2 os tratamentos T3 e T4 diferiram estatisticamente entre si, quando encontrou-se os menores valores para MSC, respectivamente 0,907g e 0,798g.

Finalmente em E3, observou-se que as plantas do tratamento controle e DH leve apresentaram valores de MSC acima daqueles observados para plantas do tratamento DH moderada e DH severa (as quais tiveram os valores de MSC diferentes estatisticamente entre si).

O parâmetro matéria seca de raiz (MSR), revelou que a DH interferiu no desenvolvimento deste órgão. Enquanto os tratamentos controle (T1) e DH leve (T2)

mantiveram-se em valores de 0.4578g e 0.4338 g para E3, as plantas dos tratamentos T3 e T4 apresentaram médias superiores (0.7008g e 0.7468g respectivamente). Este resultado indica que a DH aplicada em níveis moderado e severo apresentou efeito de indução do crescimento radicular (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios (n=4) para matéria seca da raiz (g) de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de D H em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|-----------|----------|----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 0.2333bA | 0.2393 bA | 0.2378bA | 0.2465bA |
| E2 | 0.4546aC | 0.4870 aC | 0.6758aB | 0.7418aA |
| E3 | 0.4578aB | 0.4338 aB | 0.7008aA | 0.7468aA |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 7.3 %

Segundo Marques (2011), o comprimento das raízes de plantas de calêndula não apresentou diferenças significativas entre os diferentes níveis das lâminas de irrigação testadas, entretanto a massa seca de raízes foi maior para o tratamento sem irrigação.

Avaliando-se a matéria seca total (MST) em E3, nota-se que os maiores valores foram encontrados nas plantas dos tratamentos T1 e T2 (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios (n=4) para matéria seca total (g) de plantas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de D H em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 0.9672 cA | 0.9697 bA | 0.9597 cA | 0.9522 cA |
| E2 | 2.3535 bB | 2.3727 aB | 2.8976 aA | 2.7800 aA |
| E3 | 2.5307 aA | 2.2764 aB | 2.0184 bC | 1.9130 bC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 3,7 %

Marques et al. (2009) observou que as diferentes lâminas de irrigação influenciaram as variáveis relacionadas ao crescimento e a produção em plantas de orégano este resultado corrobora com Pravuschi et al. (2010).

Singh (2003) constataram diferenças significativas na matéria seca das folhas, caule, raízes e total em todos os tratamentos hídricos, havendo crescente redução, de acordo com a severidade do estresse aplicado.

Como o estresse hídrico causado pela seca se desenvolve de maneira gradual, há sequência de eventos que ocorrem, sendo a primeira e a mais sensível resposta ao déficit hídrico a diminuição do processo de crescimento em consequência da diminuição da turgescência (LARCHER, 2006). Desse modo, justificam-se as reduções na MSF, MSC, MSR e MST, à medida que o estresse hídrico se torna mais severo.

Desde modo, justificam-se as reduções na MSF, MSC, MSR e MST a medida em que a deficiência hídrica se torna mais intensa.

A partir dos dados de massa seca (MS) de *O. basilicum* avaliou-se a distribuição da biomassa ao final do experimento (%). Esta análise indicou que as porcentagem de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raízes (MSR) em relação a massa seca total (MST) apresentaram diferenças significativas. Assim observou-se que houve interferência na distribuição da biomassa final nos tratamentos submetidos a DH. Por outro

lado quando a parte aérea foi dividida entre folhas e caule, observou-se que a relação entre a MSF/MST foi menor que a relação entre MSC/MST.

Portanto em ambas as relações os tratamentos T3 e T4 foram que apresentaram os menores valores, os quais estão demonstrados na tabela 11.

Tabela 11. Valores médios (n=4) para biomassa final (%) de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de D H em três épocas de amostragem.

| PARÂMETROS | TRATAMENTOS DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA | | | | |
|-------------------|------------------------------------|----------|----------|----------|-----|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo | CV% |
| MS Folha/MS Total | 27.483 a | 24.123 b | 21.064 c | 20.863 c | 4,3 |
| MS Caule/MS Total | 54.437 a | 56.797 a | 44.285 b | 40.037 c | 4 |
| MS Aérea/MS Total | 81.921 a | 80.920 a | 65.349 b | 60.901 c | 2,5 |
| MS Raiz /MS Total | 18.078 c | 19.079 c | 34.650 b | 39.098 a | 6,5 |

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%.

6.1.4 Área foliar, Razão de área foliar, Razão de peso foliar.

Os níveis de DH aplicados causaram alterações significativas na área foliar (Tabela 12).

As plantas dos tratamentos T2, T3, T4 comportaram-se de modo semelhante ao controle na época 1 (E1, 60 DAP); Por outro lado, E2 (90 DAP) e E3 (120 DAP) as plantas submetidas à DH (T2, T3 e T4) apresentaram reduções significativas em na área foliar total, quando comparadas as plantas do tratamento controle (T1).

Tabela 12. Valores médios (n=4) para área foliar (cm²) de plantas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de D H em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|------------|------------|------------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 34.0150 bA | 34.2650 cA | 33.7650 bA | 32.9475 bA |
| E2 | 90.9350 aA | 59.8075 bB | 55.1700 aB | 45.8350 aC |
| E3 | 97.7075 aA | 71.7975 aB | 48.1950 aC | 48.1950 aC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV= 11,5%

Para razão de área foliar (RAF) os tratamentos T2, T3 e T4 também apresentaram valores inferiores a T1 durante E2 e E3. (tabela 13).

Tabela 13. Valores médios para razão de área foliar RAF (m²folha g⁻¹ MS planta) em plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem.

| Tratamentos | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|-------------|------------------------------------|-----------|-----------|----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 46.33 aA | 46.08 aA | 45.83 aA | 45.08 aA |
| E2 | 47.82 aA | 37.88 bB | 42.35abAB | 30.21 bC |
| E3 | 47.31 aA | 32.46 bBC | 36.64 bB | 26.62 bC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 8.5%

Segundo BENINCASA (2003), a RAF 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. Desse modo, com o crescimento da planta sob condições de baixa disponibilidade hídrica haverá interferência no

pleno desenvolvimento das folhas (diminuição da área foliar útil) promovendo então o decréscimo desse parâmetro.

Finalmente, o último índice avaliado a razão de peso foliar os tratamentos (T1, T2, T3 e T4) apresentaram diferenças significativas, porém pouco expressivas para esse parâmetro ao decorrer do ciclo da planta (Tabela 14).

Tabela 14. Valores médios para razão de peso foliar RPF (g MS folhas.m⁻²folhas) em plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivadas sob diferentes tratamentos de eficiência hídrica em três épocas e amostragem.

| Tratamentos | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|-------------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 0.4908 aA | 0.4971 aA | 0.4933aA | 0.4983 aA |
| E2 | 0.2779 cB | 0.2773 bB | 0.3036bAB | 0.3281 bA |
| E3 | 0.3355 bA | 0.2983 bB | 0.3225bAB | 0.3426 bA |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 5.09%.

Os índices avaliados AF, RAF e RPF foram influenciados pela DH, provavelmente pelos efeitos causados na expansão celular em folhas.

Com uma menor absorção de água, espera-se baixa pressão sobre as estruturas da parede celular, o que pode explicar um menor índice de alongamento da célula o que trará como consequência a redução da área foliar.

Está redução é facilmente verificada em plantas que vivem sob restrição hídrica, como a que foi observada nesta pesquisa, na qual reduções de até 50% foram observadas pelos tratamentos T3 e T4 ao final do ciclo.

Dessa forma, plantas de *O. basilicum* parecem ter adotado uma estratégia para a manutenção do estado hídrico que foi verificada nos índices fisiológicos descritos.

6.1.5 Conteúdo relativo de água

Durante E1, o conteúdo relativo de água (CRA) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Entretanto observou-se a partir de E2 houve redução significativa do CRA para os tratamentos T3 e T4. Na E3 (final do ciclo), o menor valor correspondente a esse parâmetro foi encontrado em T4 (Tabela 15).

Rahimi (2010) ao avaliar o desempenho de duas espécies de plantago (*Plantago ovata* e *P. psyllium*) submetidas à DH observou que ambas reduziram o CRA a partir do 7º dia após a suspensão da irrigação e encontrado valores para CRA em torno de 60%.

Egert e Tevine (2002) também avaliaram os efeitos da suspensão da irrigação na planta *Allium schoenoprasum*. A condição de seca resultou em reduções significativas no CRA e na transpiração das folhas.

Finalmente, Pacheco (2001) após nove dias de suspensão a irrigação em plantas de calêndula (*Calendula officinalis* L.) também constatou uma expressiva redução do CRA.

Concordando com os autores citados, o presente trabalho aponta uma relação direta entre a redução do CRA e paralela com a redução de parâmetros de crescimento e trocas gasosas.

Tabela 15. Valores médios para conteúdo relativo de água (%) de *Ocimum basilicum* L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem durante o ciclo da cultura.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|----------|-----------|----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E1 | 73.82 bA | 73.25 bA | 73.65 abA | 73.72 aA |
| E2 | 79.93 aA | 78.60 aA | 74.81 aB | 69.11 bC |
| E3 | 75.63 bA | 70.62 cB | 71.57 bB | 67.34 bC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 1,61%

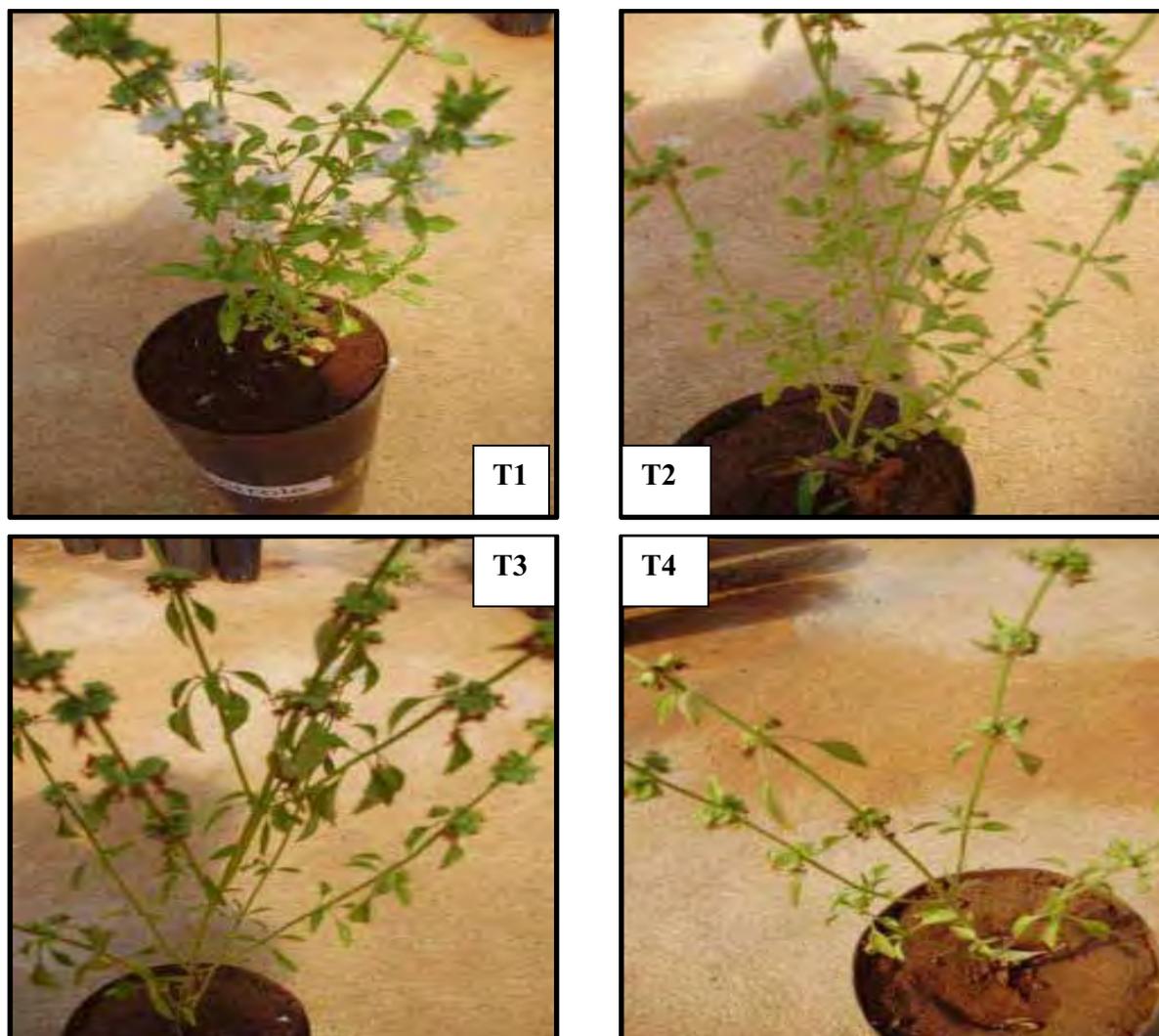


Figura 6. Diferenças visuais entre as plantas dos tratamentos controle (T1) e os tratamentos submetidos a DH (T2, T3 e T4) na época (E3).

6.1.6 Conteúdo de clorofila.

Decréscimo significativo no teor de clorofila **a** (Tabela 17) foram notados a partir da E2 em plantas do T4 e a partir da E3 pelo T3.

Observou-se também que em T2 também houve redução do teor de clorofila **a** em E3, porém não tão expressivo quanto nos demais níveis de DH.

Tabela 16. Teores médios (n=6) de clorofila a ($\mu\text{g cm}^{-2}$) nas folhas de *Ocimum basilicum* L. nos diferentes tratamentos com D H em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|-----------|----------|----------|
| | Controle | Def. Leve | Def. Mod | Def. Sev |
| E1 | 10.73 aA | 10.73 aA | 10.73 aA | 10.73 aA |
| E2 | 8.97 bA | 7.62 bB | 7.59 bB | 4.28 bC |
| E3 | 10.73 aA | 7.39 bA | 4.80 cB | 4.35 bB |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 11,23%

Para o teor de clorofila b (tabela 17) os níveis de deficiência hídrica não interferiram com a mesma intensidade quando comparados a clorofila a.

Tabela 17. Teores médios (n=6) de clorofila b ($\mu\text{g cm}^{-2}$) em folhas de *Ocimum basilicum* L. nos diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|--------|------------------------------------|-----------|----------|----------|
| | Controle | Def. Leve | Def. Mod | Def. Sev |
| E1 | 7.80 aA | 7.80 aA | 7.97 aA | 7.63 aA |
| E2 | 5.96 bB | 6.57 aB | 6.45 aB | 7.97 aA |
| E3 | 3.29 cB | 6.44 aA | 4.88 bAB | 4.65 bB |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 17,11%

Os danos causados ao processo de fotossíntese geralmente tornam-se evidentes e mais pronunciados em situações de DH severa como relatado por Massacci et al. (2008) em *Gossypium hirsutum*, Kiane et al. (2008) em *Helianthus annuus* e Jaleel et al. (2009) em *Catharanthus roseus*. Esses danos serão prejudiciais as plantas, pois à medida que

favorecem a formação de ERO ocorrerá a oxidação dos pigmentos fotossintéticos, lipídeos de membrana, proteínas e ácidos nucleicos.

Carvalho (2003) estudando a relação entre a disponibilidade de água no solo e crescimento em plantas de artemísia, afirma que a concentração de clorofila (SPAD) tende a diminuir quando as plantas são submetidas à DH, o que indica um possível início da senescência foliar. Portanto, os resultados encontrados no presente trabalho são confirmados também por outros autores (ASHRAF et al. 1994; SAIRAM et al., 1997).

Já Rahimi (2010) e Danda e Behl (2004) encontram resultados contraditórios, pois houve incremento no teor de clorofila (SPAD).

6.2 Trocas Gasosas

As taxas de fotossíntese líquida (A) foram significativamente reduzidas a partir da aplicação dos tratamentos de DH (de T2 para T4). Todos os tratamentos sujeitos a DH demonstraram diferença estatística com relação ao controle nas E2 e E3. (Tabela 18).

Tabela 18. Valores médios (n=5) para fotossíntese líquida (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de *Ocimum basilicum* L sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica, aferidos em três épocas de amostragem.

| Épocas | Tratamentos | | | |
|--------|-------------|-----------|----------|----------|
| | Controle | Def. Leve | Def. Mod | Def. Sev |
| E1 | 7.39 aA | 7.78 aA | 7.84 aA | 7.36 aA |
| E2 | 4.84 bA | 1.76 bB | 1.34 bB | 0.87 bB |
| E3 | 5.09 bA | 2.01 bB | 2.02 bB | 1.39 bB |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 17,76.

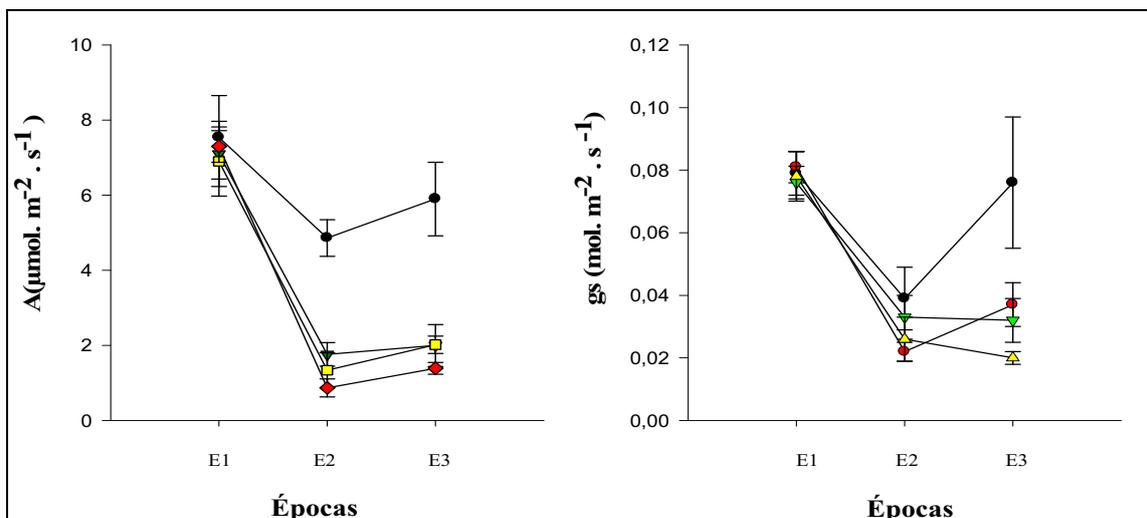


Figura 7. Valores médios para fotossíntese líquida (A) e condutância estomática (gs) de *Ocimum basilicum* L sob diferentes níveis hídricos (—●— - Controle , —◆— - DH Leve, —▼— - DH Moderada e —■— - DH Severa) em três épocas a partir do florescimento.

Lawlor (2002) relaciona o declínio da atividade fotossintética sob condições de DH com algumas limitações metabólicas, sendo uma delas a redução da síntese do ATP. No entanto, Cornic e Fresneau (2002) apoiam a ideia de que o fechamento dos estômatos é principal motivo para a redução das taxas de fotossíntese como resultado a DH. Isso ocorre porque a taxa máxima de fotossíntese líquida pode ser recuperada quando as folhas voltam a captar a quantidade de CO_2 padrão para a eficiência do processo.

Assim, as causas para a baixa taxa fotossintética em condições de DH dependem não só do estresse, da espécie ou cultivar, mas também na complexa interação entre fatores como a idade da planta e das folhas e a intensidade luminosa (FLEXAS et al., 2004).

Os valores da condutância estomática (gs) (Figura 7) diminuíram gradualmente durante as três épocas de amostragem. Na E1, os tratamentos submetidos à DH não diferiram do controle, sendo que só a partir da E2 verificou-se significativa redução; entretanto não foi aferida diferença estatística entre os diferentes níveis de DH.

Finalmente, na E3 os tratamentos de DH diferiram entre si e os menores valores encontrados foram no tratamento de DH severa, seguido pelo DH Moderada e DH leve (Tabela 19).

Em condições DH as plantas normalmente apresentam um decréscimo paralelo de A e gs (NI e PALLARDY, 1992). Um rápido fechamento estomático pode estar associado à adaptação das plantas a deficiência hídrica (MENCUCCINI et al., 2000).

Tabela 19. Valores médios para condutância estomática (gs) ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de *Ocimum basilicum* L. sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem. três épocas de amostragem partir do florescimento.

| Épocas | Tratamentos | | | |
|--------|-------------|-----------|------------|------------|
| | Controle | Def. Leve | Def. Mod | Def. Sev |
| E1 | 0.0753 aA | 0.0792 aA | 0.0742 aA | 0.0710 aA |
| E2 | 0.0393 bA | 0.0225 bB | 0.0329 bAB | 0.0264 bAB |
| E3 | 0.0761 aA | 0.0369 bB | 0.0316 bBC | 0.0199 bC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%.CV= 20,08%

Em plantas de *O. basilicum* a sensibilidade de gs demonstrada frente às reduções da disponibilidade hídrica no substrato, comprovada em E2, indicam a regulação estomática permitindo à planta menor transpiração (E) (Tabela 19), controlando a perda de água e diminuindo os possíveis danos a planta, apesar da redução da assimilação de CO_2 (A). A sensibilidade de gs e a redução da disponibilidade hídrica também foi encontrada por Pacheco et al. (2011) e Jallel et al. (2007)

Tabela 20. Valores médios para transpiração (**E**) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas de *Ocimum basilicum* L sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica, aferidos em três épocas de amostragem três épocas de amostragem partir do florescimento.

| Épocas | Tratamentos | | | |
|--------|-------------|-----------|-----------|----------|
| | Controle | Def. Leve | Def. Mod | Def. Sev |
| E1 | 2.110 aA | 2.710 aA | 2.471 Aa | 2.241 aA |
| E2 | 1.003 bA | 0.587 cB | 0.848 bAB | 0.923 bA |
| E3 | 1.942 aA | 1.013 bB | 0.921 bB | 0.550 cC |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-época) ou na mesma linha (maiúscula-tratamento) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 12,75

No presente estudo também foi encontrado um incremento de Ci (Tabela 21) nos tratamentos de DH leve e moderada na E3 (final do ciclo).

O tratamento de DH severa diferiu do controle, porém valores inferiores aos encontrados na DH moderada e leve em E3 (Figura 8).

Tabela 21. Valores médios para concentração interna de CO_2 (**Ci**) ($\mu\text{mol CO}_2\text{.L}^{-1}$) em plantas de *Ocimum basilicum* L sob diferentes tratamentos com deficiência hídrica, aferidos em três épocas de amostragem três épocas de amostragem partir do florescimento.

| Épocas | Tratamentos | | | |
|--------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | Controle | Def. Leve | Def. Mod | Def. Sev |
| E1 | 224.27 aA | 224.27 bA | 224.27 bA | 224.27 bA |
| E2 | 181.98 bC | 222.45 bB | 222.35 bB | 250.29 aA |
| E3 | 238.44 aC | 281.77 aA | 295.85 aA | 252.19 aB |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula- tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 14,16%

Machado et al. (1999) sugerem que o aumento de C_i , sob baixa disponibilidade hídrica, pode estar relacionado à queda na atividade de enzimas envolvidas no processo de fixação de CO_2 .

Comportamento semelhante (incremento de C_i com baixos valores de g_s) foi observado por Nascimento, (2009) em plantas de *Attalea funifera* quando submetidas DH.

Fatores não estomáticos, como redução da atividade e concentração da enzima Ribulose 1-5 bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), taxa de transferência de elétrons e redução da eficiência fotoquímica de FS 2, em condições de DH podem prejudicar a fotossíntese (KAISER, 1987 ; FLEXAS e MENDRANO, 2002; LAWLOR e CORNIC, 2002).

A limitação da síntese de RuBP provavelmente está ligada à redução na síntese de ATP, por uma progressiva inativação de fatores de acoplamento resultante do aumento da concentração iônica (Mg^{+2}) e não à redução da capacidade do transporte de elétrons ou de prótons (LAWLOR, 2002).

Todavia, é importante considerar que o controle da entrada de CO_2 e da saída de água é realizado continuamente por ajustes nas aberturas dos estômatos distribuídos em todas as folhas.

À medida que ocorre maior decréscimo no CRA, a liberação de CO_2 de origem não foto-respiratória (isto é, proveniente da não-fixação fotossintética) se torna relativamente alta, levando a uma maior C_i (LAWLOR, 2002; PACHECO, 2011).

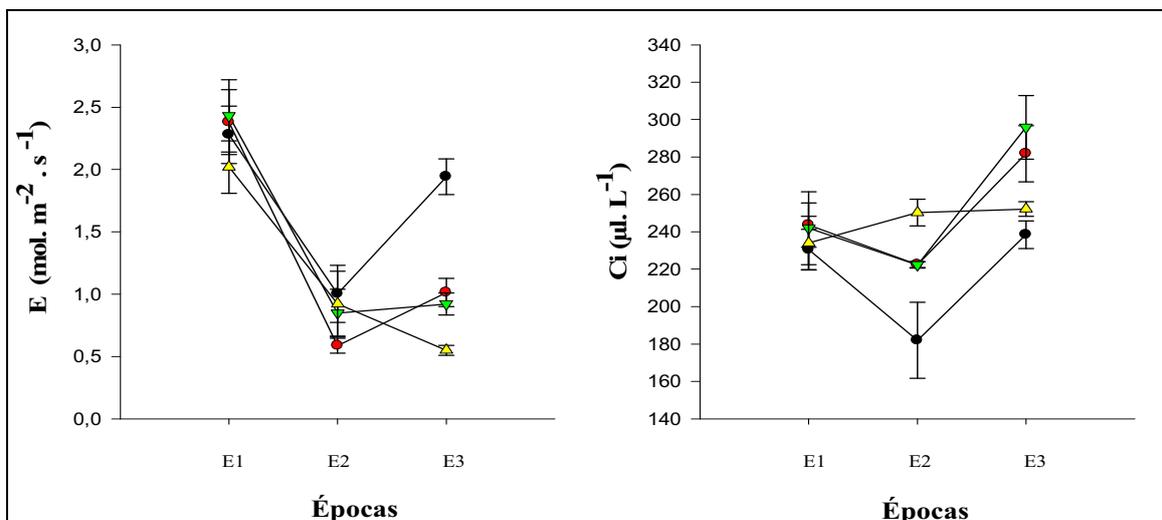


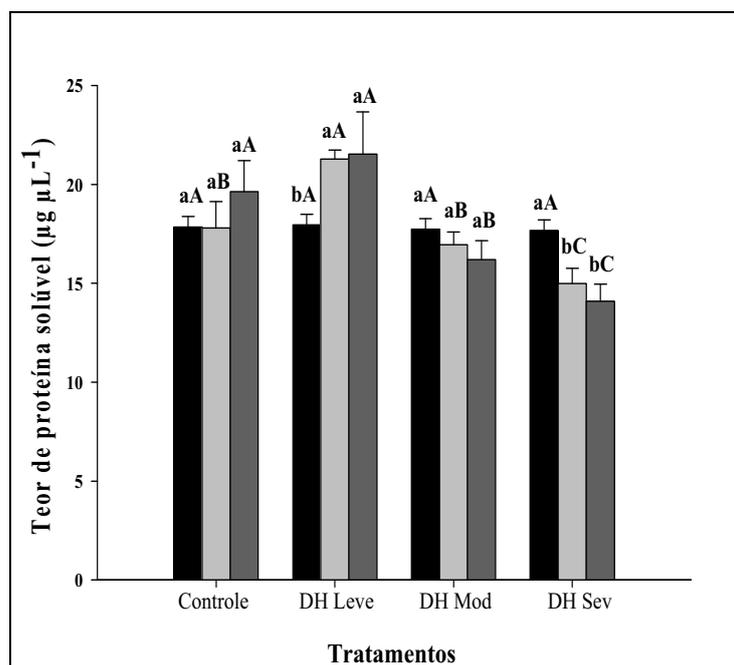
Figura 8. Valores médios para transpiração (E) e concentração interna de CO_2 (Ci) de *Ocimum basilicum* L sob diferentes níveis hídricos (—●— - Controle , —●— - DH Leve, —■— - DH Moderada e —▲— - DH Severa) em três épocas de amostragem partir do florescimento.

6.3 Análises Bioquímicas.

6.3.1 Determinação do teor de proteína solúvel total.

A análise do teor de proteínas solúveis nas folhas é um parâmetro de referência para os resultados da atividade de várias enzimas. Como as atividades das enzimas, estão diretamente ligadas ao teor de proteína solúvel nas folhas, pode-se previamente inferir que as mesmas tiveram suas atividades alteradas em função da DH. Resultados preliminares (LEONARDO, 2003 E TONIN, 2005), demonstraram que a salinidade interferiu no teor de proteína total em pimentão.

Conforme ilustrado na Figura 9, observou-se que com o aumento da DH houve uma redução na concentração de proteínas.



Médias seguidas pela mesma letra minúscula (tratamento) e maiúscula (época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 5,9%

Figura 9. Valores médios (n=6) para teor proteína solúvel ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. submetidas á diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem (■ E1; ■ E2; ■ E3).

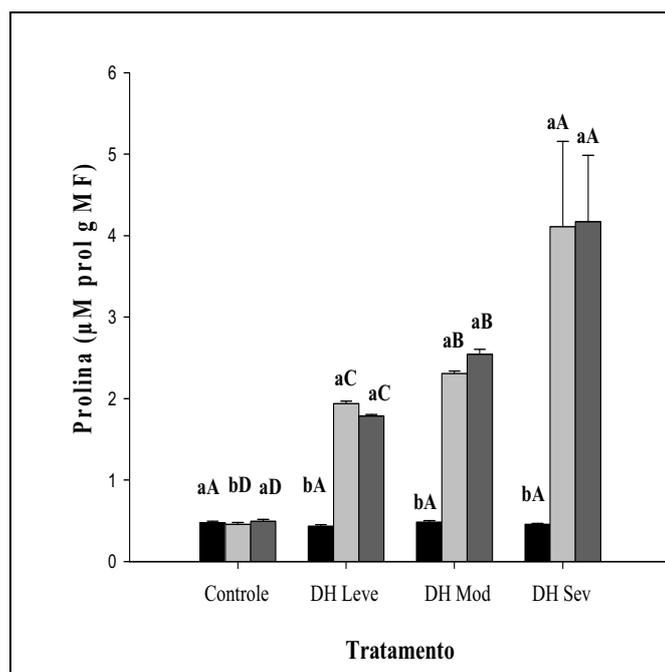
Ascher et al. (1997) descrevem que em plantas submetidas a condições ambientais adversas, ocorrem alterações no seu metabolismo primário. Em nível do complexo protéico, podem ocorrer mudanças na estrutura conformacional. Os autores afirmam que em condições de estresse pode ocorrer decréscimo no teor de proteínas, em função do aumento da síntese de proteases.

As proteínas são encontradas em todas as partes das células, uma vez que são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e função celulares, e alterações nos teores de proteínas podem representar um grande dano para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

6.3.2 Teor de Prolina.

A tolerância das plantas a condições desfavoráveis, principalmente em relação à DH, tem sido associada ao acúmulo de prolina, o que pode representar um marcador bioquímico de alterações metabólicas geradas por diferentes tipos de estresse (LIMA et al., 2004).

De acordo com a figura 10 a interação entre as épocas de amostragem e os diferentes níveis de DH observou-se que T1, T2, T3 e T4 não demonstraram diferença estatística em (E1). Entretanto em E2 e E3, todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si, quando analisados pelo teste T a nível de 5% de significância e o tratamento T4 apresentou os maiores valores para o teor de prolina.



Médias seguidas pela mesma letra minúscula (tratamento) e maiúscula (época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. durante o ciclo da cultura. CV = 15%

Figura 10. Valores médios (n=4) para teor de prolina (μM prolina g^{-1} MF) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. submetidas á diferentes níveis de deficiência hídrica em três épocas de amostragem (■ E1; ■ E2; ■ E3).

Existem na literatura contradições em relação à função do acúmulo de prolina em plantas submetidas a estresse, alguns autores afirmam que a prolina teria funções ligadas a processos de adaptação ao déficit hídrico (SINGH et al,1973), contudo outros apontam a prolina como indicador de estresse (BECKER; FOCK, 1986). Apesar de não haver claras evidências de maior acúmulo de prolina em espécies tolerantes que em espécies sensíveis (GREENWAY; MUNNS, 1980), e em alguns casos este mecanismo parece fazer parte do processo de proteção contra o estresse hídrico.

As plantas diminuem o seu potencial osmótico com o acúmulo de prolina e de outros solutos nos vacúolos celulares (ajustamento osmótico), ou caracterizando-se como reserva de nitrogênio, principalmente na síntese de enzimas específicas.

O mecanismo de acúmulo de prolina em situações estressantes, entretanto, não é ainda claramente entendido. Decréscimo nos níveis de proteína poderia, segundo Marur et al. (1994), refletir em diminuição da síntese ou em aumento da degradação, levando a altos níveis de aminoácidos livres.

O aumento no teor de prolina livre, devido a DH tem sido relatada por muitos autores (JOHARI PIREIVATLOU et al., 2010; SHAO et al., 2005; BAJJI et al., 2000; DELAUNEY; VERMA, 1993). Estes autores relataram que o acúmulo de prolina livre é muito importante no reforço das plantas para tolerar o desequilíbrio osmótico promovido no citoplasma das células em função do decréscimo da disponibilidade hídrica no solo.

Os resultados obtidos pelo estudo feito por Akhka et al. (2011) mostraram que a deficiência hídrica ocasionou um incremento nos teores de prolina livre em alguns cultivares de *Triticum durum* (cultivares: Hab- Ahmar, Sindy-1 e Sindy-2); em contraste, a deficiência hídrica causou uma diminuição no teor de prolina no cultivar Al-gaimi.

Tatar e Gevrek (2008) sugeriram que a prolina está envolvida também na proteção contra o estresse oxidativo (ERO) a medida que promove o ajustamento osmótico durante o início da DH. Isso ocorre uma vez que em sua síntese, a partir do glutamato, ocorrem duas reações de redução as custas de NADPH, primeiro na formação de glutamato semi-aldeído e posteriormente na redução da P5C (pirrolina 5-carboxilato) a prolina. Portanto a síntese de prolina fornece NADP que será receptor de elétrons no fotossistema 1 (LEHNINGER et al., 1993), evitando que esses elétrons reduzam o O₂ levando a geração de O₂^{•-} e H₂O₂, processo conhecido como reação de Meller (HALLIWELL, 1982).

Também foi comprovado que a prolina tem um papel essencial na estabilização de proteínas e membranas celulares nas células vegetais na presença de altos níveis de osmólitos (FAROOQ et al., 2009; ERRABII et al., 2006).

Além disso, tem sido proposto, também, que a prolina pode atuar na estabilização das estruturas das proteínas, favorecer a estabilização do pH citossólico e auxiliar no equilíbrio redox das células estressadas (VERBRUGGEN; HERMANS, 2008).

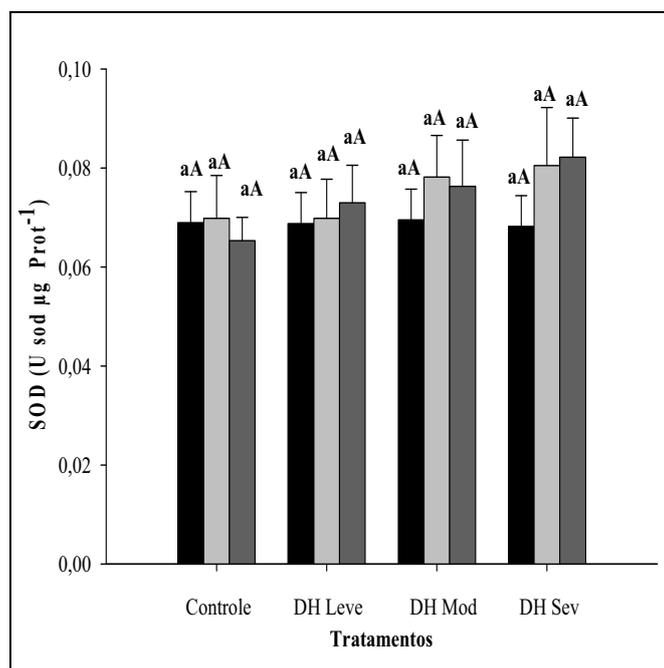
6.3.3 Análise da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD).

A análise para a atividade da enzima SOD (Figura 11) demonstra para E2 e E3, que houve incremento da atividade da SOD nos tratamentos de DH moderada e severa.

Miszalski et al. (1998) e Broetto et al. (2002) demonstraram que a enzima SOD apresenta um incremento na atividade quando as plantas são submetidas a uma condição ambiental limite, seja hídrica, térmica, salina, alta intensidade luminosa, injúrias por insetos ou fitopatógenos. Assim, Manivann et al. (2007) confirmam as informações citadas por estes autores ao relatar que o aumento da atividade da SOD favorece a tolerância de plantas de *Vigna unguilata* a DH.

A dismutação das ERO pode indicar a eficiência do sistema antioxidante, indicando assim a tolerância do vegetal frente aos fatores promotores do estresse oxidativo. Jaleel et al. (2007) citam que a eficiência desse sistema em plantas de *Phyllanthus amarus* favorece a resistência desta quando submetidas a condições salinas.

No entanto, a atividade da enzima pode ser requerida, mesmo em situações normais, para dismutar espécies reativas de oxigênio evoluídas do metabolismo de açúcares na mitocôndria, sendo, portanto, necessário para a utilização da SOD como marcador bioquímico de parâmetros da atividade da enzima em condições ambientais normais.



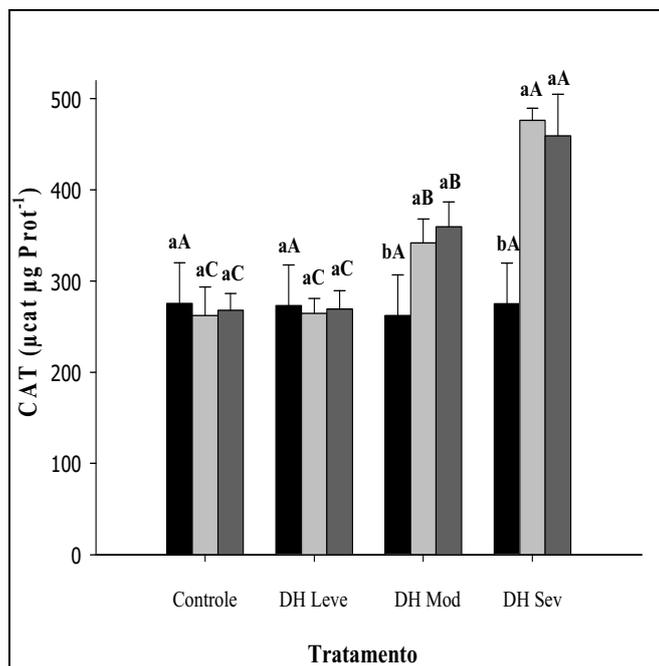
Médias seguidas pela mesma letra minúscula (tratamento) e maiúscula (época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L.

CV = 12,15%

Figura 11: Valores médios (n=6) para atividade da enzima superóxido dismutase (U SOD µg prot⁻¹) em plantas de *Ocimum basilicum* L. submetidas á diferentes tratamentos com deficiência hídrica em três épocas de amostragem (■ E1; ■ E2; ■ E3).

6.3.4 Análise da atividade da enzima catalase (CAT).

De acordo com a figura 12 a interação entre as épocas e os diferentes níveis de DH, observou-se que os tratamentos não diferiram do controle em E1; entretanto em E2 e E3 o tratamento de T4 e T3 diferiram estatisticamente entre si quando analisados pelo teste T a nível de 5% de significância. Os maiores valores para atividade de CAT foram encontrados, portanto no tratamento de DH severa (T4).



Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula-tratamento) ou na mesma linha (maiúscula- época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 12,6%

Figura 12. Valores médios ($n=6$) para atividade da enzima catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. submetidas á diferentes tratamentos de deficiência hídrica em três épocas de amostragem (■ E1; ■ E2; ■ E3).

Pela mesma tabela observa-se que os tratamentos T1 e T2 não ocorreram diferenças estatísticas entre as diferentes épocas de amostragem, sendo encontrados, portanto os menores valores para atividade da CAT.

A atividade da CAT desenvolve uma função assemelhada à atividade da SOD em condições de DH, mantendo uma relação positiva direta na medida em que há o aumento dos níveis de DH.

Este evento pode ter relação com um aumento das taxas de respiração celular, em função da alteração das rotas metabólicas (catabolismo) relacionadas com o desenvolvimento vegetativo. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido durante a foto-respiração nos peroxissomos pode ser decomposto pela catalase, sendo reduzido à água (H_2O).

Sabe-se que a SOD também pode ser responsável pela elevação do nível de peróxido de hidrogênio nas células devido à conversão de radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$).

Rosa et al. (2005), Tonin (2005), Zhujum et al. (2004), Leonardo, (2003) e Liang (1999) relataram aumento na atividade da CAT quando as plantas foram submetidas a estresse salino. De acordo com Jallel et al (2008) houve também um incremento na atividade da CAT quando as plantas de *Catharanthus roseus* foram submetidas a condições de seca. A ação combinada entre as enzimas CAT e SOD converte as ERO em a água e oxigênio molecular evitando assim os danos às estruturas celulares sob condições desfavoráveis como estresse hídrico (REDDY et al., 2004).

Alguns autores confirmam que um conjunto de condições ambientais estressantes pode interferir, causando alterações na estrutura protéica da enzima ou hidrólise, causando a redução de sua atividade. As alterações na atividade da catalase podem ocorrer como resposta à salinidade, altas intensidades luminosas, temperaturas e outros fatores estressantes (BROETTO et al., 2002, FEIERABEND; ENGEL, 1986 KALIR; POLJAKOFF-MAYBER, 1981).

A diminuição da atividade da catalase pode demonstrar que, em algumas plantas submetidas sob condições de estresse, o H_2O_2 produzido pode ser mais consumido em processos oxidativos, como na peroxidação de lipídeos, do que eliminado do metabolismo pela ação da enzima catalase (BENITEZ et al., 2010).

Cakmak e Horst (1991) analisando enzimas antioxidantes em plantas de arroz sob estresse salino, constataram redução da atividade da SOD e CAT com o aumento da concentração de salinidade na água de irrigação.

6.4 Avaliação do rendimento e produtividade de óleo essencial em folhas (+inflorescências) de plantas de *Ocimum basilicum* L.

O rendimento de óleo essencial foi avaliado apenas para o período intermediário (E2) e final do ciclo da cultura (E3). A época 1 (E1) foi descartada desta

avaliação, por coincidir com o início da fase de acúmulo (pré-florescimento), o que experimentalmente não resultaria em uma extração confiável.

A tabela 21 não aponta diferenças significativas entre os tratamentos T1, T2 e T3 aos 90 DAP, exceto o tratamento T4 que apresentou redução no teor de óleo essencial.

Já ao final do ciclo (120 DAP) o tratamento T1 manteve o teor de óleo essencial semelhante a E2. Para os demais tratamentos (T2, T3 e T4) quando comparados com o controle, verificou-se diminuição do teor de óleo. Ao final do ciclo E3 observou-se que para os tratamentos T2, T3 e T4 houve menor acúmulo de óleos essenciais.

Tabela 22. Valores médios (n=4) para teor de óleo essencial (%) de plantas de *Ocimum basilicum* L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica na época intermediária E2 (pleno florescimento) e época final E3 (pós florescimento).

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|-----------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E2 | 1.2173 aA | 1.1870 aA | 1.1996 aA | 0.7469 aB |
| E3 | 1.2556 aA | 0.5329 bB | 0.5934 bB | 0.5621 aB |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula- tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5%. CV = 14.5 %

Ao final do experimento (120 DAP), a massa seca da parte aérea (Tabelas 7 e 8) nas plantas do tratamento controle apresentou o maior valor em relação ao tratamento T4 (nível mais baixo de disponibilidade de água no substrato). Dessa maneira, o rendimento total de óleo no tratamento (T1) também foi superior quando comparado com os demais tratamentos de DH (T2, T3, T4). Tal comportamento também é verificado pelo trabalho de Pravuschi et al. (2010) ao avaliar os efeitos de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial de manjeriço. No trabalho citado, as plantas submetidas a 100% ECA (evaporação do tanque classe A) durante a primeira colheita (90 DAP) não apresentaram diferenças com relação ao teor de óleo essencial quando as plantas foram submetidas a

diferentes lâminas irrigação, sendo contrário ao presente trabalho apenas quando observamos os teores de óleo essencial obtido pelos tratamentos de maior restrição hídrica.

Na segunda colheita (150 DAP) apenas o tratamento controle (100% da ECA) manteve semelhante o teor de óleo quando comparado ao da primeira, porém os demais tratamentos (75% ECA, 50% ECA e 0% ECA) reduziram o teor de óleo essencial quando comparados aos mesmos tratamentos da primeira colheita.

Marques (2009), ao submeter plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) a diferentes lâminas de irrigação, verificou que aos 90 DAP, as plantas com a lâmina de 100 % ECA, obtiveram os valores do rendimento de óleo essencial superiores aos encontrados nas demais lâminas (75% da ECA até 0% ECA) da mesma forma que Marcum e Hanson (2006) observaram que a aplicação de lâminas inferiores a evapotranspiração provocam reduções no rendimento de óleo essencial de hortelã (*Mentha sp*).

Segundo Côrrea Junior et al. (1994), plantas irrigadas podem equilibrar o teor de princípios ativos com maior produção de biomassa, o que resulta em maior rendimento de óleo essencial por área. Conclui-se então que o rendimento de óleo essencial é função de seu teor no tecido e da produção de material vegetal (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2005).

Este efeito na redução do rendimento de óleo essencial encontrado no presente trabalho, também foi constatado por Lammerink et al. (1989), que apontou que a queda de flores durante o decorrer do ciclo foi o fator principal que afetou a produção de óleo essencial em *Lavandula intermédia*. Hornok et al., (1992) também observaram o mesmo fenômeno, quando as plantas *Nepeta catari* se encontravam entre o início e o completo florescimento.

Para a produtividade de óleo essencial em folhas de *O. basilicum* representados na tabela 23, verificou-se que a medida que aumenta os níveis de DH na E2 há uma redução nesse parâmetro. Já em E3 todos os tratamentos (T1, T2, T3 e T4) tiveram redução na produtividade, porém entre os tratamentos não foi encontrada diferenças estatísticas significativas.

Tabela 23. Valores médios (n=4) para produtividade de óleo essencial (mg planta⁻¹) de plantas de *Ocimum basilicum* L. nos diferentes níveis de deficiência hídrica na época intermediária E2 (pleno florescimento) e época final E3 (pós florescimento).

| Épocas | Tratamentos de deficiência hídrica | | | |
|-----------|------------------------------------|---------|----------|---------|
| | Controle | Leve | Moderado | Severo |
| E2 | 29,2 aA | 18,4 aB | 16,0 aB | 10,7 aC |
| E3 | 13,7 bA | 10,8 bA | 8,6 bA | 7,5 aA |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula- tratamento) ou na mesma linha (maiúscula-época) não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível 5 CV = 23,3 %

Não se observou efeito das lâminas de irrigação na parte radicular, ou seja, não foram observadas diferenças estatísticas para a massa seca de raiz e para o comprimento de raiz. Silva et al. (2002) obtiveram os mesmos resultados em *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) e Carvalho et al. (2003) em artemísia, em que a deficiência hídrica diminuiu o crescimento, a produção de biomassa fresca e seca das plantas e o teor de óleo essencial. Marcum e Hanson (2006) observaram quedas significativas na produção de óleo essencial de menta na Califórnia quando as plantas foram submetidas a lâminas de irrigação inferiores à evapotranspiração.

Assim, a resposta da planta à deficiência hídrica foi demonstrada a partir dos parâmetros biométricos, o que refletiu na diminuição da produção de óleo essencial. Conforme Pandey et al. (1984), a matéria seca é o resultado de uma resposta integrada da cultura ao estresse, desde a emergência até a maturidade fisiológica. Logo o efeito da deficiência é acumulativo. Assim, a deficiência hídrica altera o processo de crescimento, alterando o acúmulo de massa fresca e acelerando os processos catabólicos.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados, concluiu-se que:

- É possível o estabelecimento de diferentes tensões, definidas pelo teor real de água do solo, baseando-se na curva de retenção de água no solo.
- De acordo com os parâmetros biométricos conclui-se que a área foliar apresentou diminuição expressiva a partir do momento que as plantas foram submetidas a um estresse moderado; com relação ao comprimento de raiz ocorreu redução em função do aumento da DH. O índice de clorofila **a** diminuiu em função do aumento da DH.
- Para a produção de massa de matéria fresca, o aumento da DH causou diminuição significativa nos valores, quando as plantas atingiram estresse moderado. Em relação ao acúmulo de matéria seca houve alteração significativa apenas quando as plantas foram submetidas à DH considerada severa.
- Os parâmetros de crescimento avaliados apresentaram relação com a indução de deficiência hídrica.
- Os parâmetros fisiológicos (trocas gasosas) também demonstraram variações a medida que foi induzida a deficiência hídrica, sendo o tratamento considerado

Severo o que proporcionou maior alteração nesses parâmetros quando comparados as plantas que foram mantidas irrigadas durante todo o ciclo.

- O aumento de deficiência hídrica no solo foi proporcional ao aumento da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e ao aumento da atividade da enzima catalase (CAT).

- A atividade da enzima catalase (CAT) podem ser utilizadas como bioindicadores dos níveis de estresse na planta, pois as alterações durante a atividade dessas enzimas podem ocorrer como resposta à salinidade, temperatura, estresse hídrico e outros eventos estressantes.

- O acúmulo de prolina foi observado nos tratamentos de DH Leve (-0,02 MPa), Moderada (-0,03 MPa), e Severa (-0,05 MPa) a partir dos 90 DAP .

- O tratamento considerado Severo (-0,05 M Pa), com maior deficiência hídrica, interferiu diretamente no rendimento do óleo.

- As plantas submetidas à DH apresentaram aumento no rendimento de óleo essencial por grama de matéria seca.

8. REFERÊNCIAS

AKHKHA, A.; BOUTRAA, T.; ALHEJELY, A. The rates of photosynthesis, chlorophyll content, dark respiration, proline and abscisic acid (ABA) in wheat (*Triticum durum*) under water deficit conditions. **International Journal of Agriculture & Biology**, Faisalabad, v. 13, n. 2, p. 215–221, 2011.

AKISUE, G. Um novo aparelho extrator de óleo essencial. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 44, p. 158-160, 1972.

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

ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário**. Viçosa, MG: Arte Livros, 1999. 139 p.

ANGELOCCI, L. R. **Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico**. Piracicaba: Ed. do Autor, 2002. 272 p.

ANGELOPOULOS, K.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C. Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 1093-1100, 1996.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 206–216, 2007.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, Philadelphia, v. 166, p. 3–16, 2004.

- BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J. M. Physiological changes after exposure Drought-induced alterations in soybean cultivars to and recovery from polyethylene glycol-induced water deficit in callus culture issued from durum wheat (*Triticum durum*) cultivars differing in drought resistance. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 156, p. 75–83, 2000.
- BAKER, N. R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, n. 4, p. 563-70, 1991.
- BECKER, T.W.; FOCK, H. P. The activity of nitrate reductase and pool sizes of some amino acids and some sugars in water-stressed maize leaves. **Photosynthesis Research**, Hague, v. 8, p. 267-274, 1986.
- BELTRANO, J.; RONCO, M.G. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 20, p. 29–37, 2008.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.
- BLUM, A. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. In: BELHASSEN, E. (Ed.). **Drought tolerance in higher plants: genetical, physiological, and molecular biological analysis**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997. p. 57-70.
- BOURGAUD, F. et al. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant science**, Philadelphia, v. 161, p. 839-851, 2001.
- BOUTRAA, T. Improvement of water use efficiency in irrigated agriculture: a review. **Journal of Agronomy**, Madison, v. 9, p. 1–8, 2010.
- BOWN, D. **Enciclopedia of herbs and their uses**. London: Dorling Kindersley, 1995. p. 166-167.
- BRAY, E. A. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 103, p. 1035-1040, 1993.
- BREUSEGEM, F. V. et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, Philadelphia, v. 161, p. 405-414, 2001.
- BROETTO, F.; LÜTTGE, U.; RATAJCZAK, R. Influence of light intensity and salt-treatment on mode of photosynthesis and enzymes of the antioxidative response system of *Mesembryanthemum crystallinum*. **Functional Plant Biology**, Western, v. 29, p. 13-23, 2002.
- CAIRO, P. A. R. **Curso básico de relações hídricas de plantas**. Vitória da Conquista: UESB, 1995. 32 p.

- CAKMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 83, p. 463-468, 1991.
- CALVACHE, A.M. et al. Efeito da deficiência hídrica e da adubação nitrogenada na produtividade e na eficiência do uso de água em uma cultura do feijão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, n. 3, p. 232-240, 1997.
- CARVALHO, C. J. R. Respostas de plantas de *Schizolobium amazonicum* [S. parahyba var. amazonicum] e *Schizolobium parahyba* [*Schizolobium parahybum*] à deficiência hídrica. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, p. 907-914, 2005.
- CARVALHO, A. C. B. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T & C Amazônia**, Manaus, v. 5, n. 11, p. 1-7, 2007.
- CARVALHO, L. M. et al. Disponibilidade de água no solo e crescimento de artemísia. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 21, n. 4, p. 726-730, 2003.
- CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n.1, p. 24-30, 2006.
- CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. C. **Plantas medicinais, codimentares e aromáticas: descrição e cultivo**. Guaíba: Agropecuária, 1995. p. 102-104.
- CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 3, p. 458-462, 1990.
- 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**. 2001. 146 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- CHAVES, M. M. et al. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 7, p. 907-916, 2002.
- CORNICG, F. C. *Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought*, **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 887-894, 2002.
- CORREA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, codimentares e aromáticas**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1998.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification on flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. **The Plant Journal**, Oxford, v. 4, p. 215–223, 1993.

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

ERRABII, T. et al. Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, p. 1488–1493, 2006.

FAHN, A. Secretory tissue in vascular plant. **New Phytologist**, Cambridge, v. 108, p. 229-257, 1988.

FAROOQ, M. et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, p. 185-212, 2009.

FARRANT, J. M. A comparison of mechanism of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. **Plant Ecology, Dordrecht**, v. 151, p. 29-39, 2000.

FEIERABEND, J.; ENGEL S. Photoinactivation of catalase *in vitro* and in leaves. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, California, v. 251, p. 630-638, 1986.

FLEISHER, A. Essential oils from two varieties of *Ocimum basilicum* L. grown in Israel. **Journal of Science of Food and Agriculture**, London, v. 32, p. 1119-1122, 1981.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 183–189, 2002.

FLEXAS, J. et al. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 6, p. 269-279, 2004.

FOOLAD, M. R. et al. Genetic relationships among cold, salt and drought tolerance during seed germination in an interspecific cross of tomato. **Euphytica**, Wageningen, v. 130, p. 199–206, 2003.

FRANZ, C. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 132, p. 203-215, 1983.

FUENTES, V.; GRANDA, M. **Conozca las plantas medicinales**. Ciudad de La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1997. p. 176-177.

FURLAN, M. R. **Efeito da adubação com N-P₂O₅-K₂O sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cultivar Genovese**. 2000. 172 f.

Tese (Doutorado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

GERBLING, K. P. et al. Partial purification and properties of soluble ascorbate peroxidase from pea leaves. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 115, p. 59-67, 1984.

GHERSHENZON, J. Changes in levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. In: TIMMERMANN, B. N.; STEELIN, C.; LOEWUS, F. A. **Recent advances in phytochemistry: phytochemical adaptations to stress**. New York: Plenum Press, 1984. v. 18, p. 273-320.

GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. **Annual Review of Plant Physiology**, Athens, v. 31, p. 149-190, 1980.

GUENTHER, E. Essential oil the plant family Labitae: In: GUENTHER, E. **The essential oils**. New York: Krieger Publishing Company, 1974. v. 1, p. 398-401.

HALLIWELL, B. **The toxic effects of oxygen on plant tissues**. In: OBERLEY, L. W. (Ed.). Boca Raton: CRC Press, 1982. p. 89.

HAMID, A. A. et al. Characterization of antioxidative of *Centella asiatica* (L) urban. **Food Chemistry**, London, v. 77, p. 465-469, 2002.

HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, Sofia, v. 21, p. 79-102, 1997.

HAY, K. M.; WATERMAN, P. G. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Essex: Longman Scientific and Technical, 1993. 185 p.

HERTWIG, B.; STREB, P.; FEIERABEND, J. Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence stress conditions. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 100, p. 1547-53, 1992.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.

HSIAO, T. C. Measurements of plant water status. In: STEWART, B. A.; NIELSEN, D. R. **Irrigation of agricultural crops**. New York: *American Society of Agronomy*, 1990. p. 244-280.

INGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Athens, v. 47, p. 377-403, 1996.

JALEEL, C. A. et al. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, New York, v. 61, p. 298–303, 2008.

JALEEL, C. A. et al. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, New York, v. 59, p. 150-157, 2007.

JALEEL, C. A. et al. NaCl as a physiological modulator of proline metabolism and antioxidant potential in *Phyllanthus amarus*. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 330 p. 806–813, 2007.

JAVANMARDI, J. et al. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v. 50, p. 5878–5883, 2002.

JOHARI-PIREIVATLOU, M.; QASIMOV, N.; MARALIAN, H. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 1, p. 36-40, 2010.

JUDD, W. S. et al. Plant systematics: a phylogenetic approach. **Sunderland: Sinauer Associates**, 1999. 464 p.

KAISER, W. M. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 71, n. 2, p. 142-149, 1987.

KALIR, A.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Changes in activity of malate dehydrogenase, catalase, peroxidase and superoxido dismutase in leaves of *Halimione portulacoides* L. aellen exposed to high sodium chloride concentrations. **Annals of Botany**, Oxford, v. 47, p. 75-85, 1981.

KANNAN, N. D.; KULANDAIVELU, G. Drought induced changes in physiological, biochemical and phytochemical properties of *Withania somnifera* Dun. **Journal of Medicinal Plants Research**, Nsukka, v. 5, n. 16, p. 3929-3935, 2011.

KHALIL, S. E. et al. Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. **Journal of American Science**, New York, v. 6, n. 12, p. 33-44, 2010.

KHORASANINEJAD, S. The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.). **Journal of Medicinal Plants Research**, Nsukka, v. 5, n. 22, p. 360-365, 2011.

KHOSLA, M. K.; SOBOTI, S. N. Karyomorphological studies in genus *Ocimum* II. Sanctum group. **Cytologia**, Tokyo, n. 50, p. 523-563, 2000.

- KIANI, S. P. et al. Analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. **Plant Science**, Philadelphia, 175, p. 565–573. 2008.
- KIEHL, E. J. **Manual de edafologia: relações solo-planta**. São Paulo: Ceres, 1979. 264 p.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic Press, 1995. 495 p.
- KUDREV, T. G. **Água: vida das plantas**. São Paulo: Ícone, 1994. 178 p.
- LAOCHOWICZ, K. J. et al. Characteristics of plants extracts from five varieties of basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, California, v. 45, p. 2660-2665, 1997.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2006. 531 p.
- LAWLOR, D. W. Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata versus metabolism and the role of ATP. **Annual Botany**, Devon, v. 89, p. 871–885, 2002.
- LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. **Plant Cell Environment**, Oxford, v. 25, p. 275–294, 2002.
- LEE, J.; SCAGEL, C. F. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Food Chemistry**, London, v. 115, n. 2, p. 650–656, 2009.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principles of biochemistry**, 2nd. ed. Richmond: Worth Publishers, 1993. 1013 p.
- LEONARDO, M. **Estresse salino induzido em plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e seus efeitos sobre a produtividade e parâmetros agronômicos e bioquímicos**. 2003. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Irrigação e Drenagem)-Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.
- LI, C. et al. Provenances depend on seasonality of rainfall in their place of origin. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 27, p. 231–238, 2000.
- LIANG, Y. C.; DING, R. X.; LIU, Q. Effects of silicon on salt tolerance of barley and its mechanism. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 32, p. 75, 1999.
- LIMA, M. G. et al. Efeito do estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 335-340, 2004.

- MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. M. A. Teor de água no substrato de crescimento e fotossíntese em laranjeira “Valência”. **Bragantia**, Campinas, v. 58, p. 217-226, 1999.
- MANIVANNAN, P. et al. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, n. 6, p. 418–425, 2008.
- MARCHESE, J. A. et al. Irradiance stress responses of gas exchange and antioxidant enzyme contents in *Pariparoba othomorpha umbellata* (L.) Miquel plants. **Photosynthetica**, Olomouc, v. 46, n. 4, p. 501-505, 2008.
- MARQUES, P. A.; BORTOLO, D. P. G.; SANTOS, A. C. P. Produtividade de inflorescências de calêndula sob irrigação suplementar na região do oeste paulista. **Irriga**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 153-162, 2011.
- MARTINS, E. R. **Morfologia interna e externa caracterização isoenzimática e óleo essencial de *Ocimum selloi* benth.** 1996. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.
- MARTINS, R. E. et al. **Plantas medicinais**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 1998. 220 p.
- MARUR, C. J. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 103-108, 1994.
- MASSACCI, A. et al. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. **Plant Physiology Biochemistry**, New Delhi, v. 46, p. 189–195, 2008.
- MATHON, C. C. Contribution a l' étude des -relation entre la repaition géographique des plants superieures a les existence thermique a photoperiodiques de fleur development. The effect of photoperiodism on the growth and the essential oil of *Ocimum basilicum* (Sweet basil). **Economic Botany**, New York, n. 30, p. 389-393, 1972.
- MATTOS, E. A. **Trocas gasosas em folhas de três espécies arbóreas do cerradão da Fazenda Canchim, São Carlos (SP): a disponibilidade hídrica durante a estiagem de inverno limita a abertura estomática?** 1992. 156 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais)-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1992.
- MATTOS, P. P.; SEITZ, R. A. Growth dynamics of *Anadenanthera colubrina* var. cebil and *Tabebuia impetiginosa* from Pantanal Mato-grossense, Brazil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 4, p. 427-434, 2008.

- MENCUCCINI, M.; MAMBELLI, S.; COMSTOCK, J. P. *Stomatal responsiveness to leaf water status in common bean is a function of time of day*. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 23, p. 1109–1118, 2000.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons: the plant surface**. Oxford: Claren, 1979. p. 98-116.
- MISZALSKI, Z. et al. Superoxide dismutase activity in C3 and C3/CAM intermediate species of *Clusia*. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 51, p. 86, 2007.
- MONTANARI JUNIOR, I. Aspectos do cultivo comercial de calêndula. **Revista Agroecológica**, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 24-25, 2000.
- MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 61, n. 5, p. 616-619, 1998.
- MORAIS, H. et al. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 10, p. 35-40, 2003.
- MORRIS, J. A.; KLETTRY, A.; SEITZ, E. W. M. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 56, p. 595-603, 1979.
- MURTAGH, G. J. Month of harvest and yield components of tea tree. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, n. 47, p. 801–815, 1996.
- NAIDU, B. P. et al. Proline analogues in *Melaleuca* species: response of *Melaleuca lanceolata* and *M. uncinata* to water stress and salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 14, p. 669-667, 1987.
- NASCIMENTO, J. L. **Crescimento e assimilação de carbono em plantas jovens de *Attalea funifera* Mart. submetidas ao sombreamento e ao estresse hídrico**. 2009. 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)—Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2009.
- NEPOMUCENO, A. L. et al. Tolerância à seca em plantas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 23, p. 12-18, 2000.
- NI, B.; PALLARDY, S. G. Stomatal and non stomatal limitation to net photosynthesis in seedlings of woody angiosperms. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 99, p. 1502-1508, 1992.
- NIKOLAEVA, M. K. et al. Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 57, p. 87–95, 2010.

- NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. B.; SILVA, E. C. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: Imprensa Universitária, 2005. p. 22-31.
- NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 13, n. 1, 2001.
- NOLASCO, F. **Deficiências nutricionais em manjeriço (*Ocimum spp*) sob hidroponia**. 1996. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.
- NORDBERG, J.; ARNER, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 31, p. 1287-1312, 2001.
- OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em Feijão. **Engenharia Agrícola**, Botucatu, v. 25, p. 86-95, 2005.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 13.
- OLIVER, A. E. et al. Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. **Cryobiology**, San Diego, v. 43, p. 151-167, 2001.
- PACHECO, A. C.; CAMARGO, P. R.; SOUZA, C. G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonóides em calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 275-281, 2011.
- PALEVITCH, D. Recent advances in the cultivation of medicinal plants. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 208, p. 29-35, 1987.
- PANIZZA, S. **Plantas que curam (cheiro de mato)**. 6. ed. São Paulo: Ibrasa, 1998. 160 p.
- PARRY, M. A. J. et al. Rubisco activity: effects of drought stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 833-838, 2002.
- PASSIOURA, J. B. Drought and drought tolerance. In: BELHASSEN, E. **Drought tolerance in higher plants: genetical, physiological and molecular biological analysis**. Dordrecht: Kluwer, 1997. p. 1-5.
- PASTORI, G. M.; FOYER, C. H. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated controls. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 129, p. 460-468, 2002.

- PATON, A.; HARLEY, R.M.; HARLEY, M.M. *Ocimum*: a overview of classification and relationships. In: HOLM, Y.; HILTUNEN, R. **Ocimum**: medicinal and aromatics plants – industrial profiles. *Amsterdam: Ed. Hardman*, 1999. p. 1-38.
- PILLAI, R. R.; CHINNAMMA, N. P. Effect of harvest dates on yield and quality of oil in *Ocimum grantissimum* L. grow in Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, Wheaton, v. 8, p. 139-41, 1996.
- PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: EDUR/UFRJ, 2004. 191 p.
- PRASAD, G. et al. Antimicrobial activity of essential oils of some *Ocimum* spices and clove oil. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 57, n. 6, p. 429-432, 1985.
- PRAVUSCHI, P. R. et al. Efeito de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 687-693, 2010.
- RAHIMIA, A. et al. Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of *Plantago ovata* and *P. psyllium*. **Plant Ecophysiology**, Dordrecht, v. 2, p. 53-60, 2010.
- REDDY, A. R.; CHIATANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Draught induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Jornal of Plant Physiology**, California, v. 161, p. 1189–1202, 2004.
- RICE, E. L. Allelopaty: an update. **Botanical Review**, New York, v. 45, n. 1, p. 15-109, 1979.
- RIGUEIRO, M. P. **Plantas que curam**. 5. ed. São Paulo: Paulus, 1992. p. 95-96.
- ROBELO, H. O. S. **Acondicionamento a la sequia**: crecimiento y eficiencia em el uso e gua em *Atriplex repañada* Phil. 1982. 197 f. Dissertação (Mestrado)-Facultad de Ciências Básicas y Farmacêuticas, Universidad de Chile, Santiago, 1982.
- ROIG, J. T. **Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba**. 2. ed. Habana: Editorial Científico, 1992. p. 131.
- ROSA, S. D. V. F. et al. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *lea* associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.
- ROVERATTI, D. S. **Plantas medicinais**. São Paulo: Unimarco, 1999. 128 p.
- SAIRAM, R. K.; DESHMUKH, P. S.; SHUKLA, D. S. **Increased antioxidant enzyme activity in response to drought and temperature stress related with stress tolerance in wheat genotypes**. New Delhi: Indian Agricultural Research Institut, 1997. 69 p.

- SANKAR, B. et al. Drought induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. **Acta Botanica Croatica**, Zagreb, v. 66, p. 43–56, 2007.
- SANKAR, B. et al. Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 60, p. 229–235, 2007.
- SANTOS, C. A. M.; TORRES, K. R.; LEONART, R. **Plantas medicinais** (herbarium, flora et scientia). 2. ed. São Paulo: Ícone, 1988. 160 p.
- SANTOS, T. T. et al. Efeito do estresse hídrico na produção de massa foliar e teor de óleo essencial em sambacaitá (*Hyptis pectinata* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SOB, 2004. p. 1-4.
- SARADHI, P. P. et al. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 209, p. 1-5, 1995.
- SCHOLANDER, P. F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy Science**, Washington, DC, v. 51, p. 119-125, 1965.
- SHAO, H. B.; LIANG, Z. S.; SHAO M.A. Changes of some anti-oxidative enzymes under soil water deficits among 10 wheat genotypes at maturation stage. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 45, p. 7-13, 2005.
- SHAO, H. B. et al. Investigation on the relationship of proline with wheat anti-drought under soil water deficits. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 53, p. 113–119, 2006.
- SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa, MG: UFV/DFT, 2000. 135 p.
- SILVA, F.; CASALI, V. W. D.; ANDRADE, N. J. Qualidade pós-colheita de três plantas medicinais armazenadas em três embalagens. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 1998, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SBPM, 1998. v. 2, p. 192.
- SILVA, S. R. S. et al. Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* cheel. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 63-70, 2007.
- SILVA, S. R. S. et al. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, n. 1, p. 35-40, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2001. p. 397-417.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; UFSC, 2000. p. 394-412.

SIMON, J. E. **Basil**. West Lafayette: Purdue University, 1995. 6 p.

SIMON, J. E. et al. Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In: JANICK, J. **New crops and new uses: biodiversity and agricultural sustainability**. Alexandria: ASHS Press, 1999. p. 12-159.

SIMON, J. E.; QUINN, J.; MURRAY, R. G. Basil: a source of essential oils. In: JANICK, J.; SIMON, J. E. (Ed.). **Advanced in new crops**, Portland: Timber Press, 1990. p. 484- 489.

SIMON, J. E. et al. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. **Journal of Essential Oil Research**, Wheaton, v. 4, p. 1, p. 71-75, 1992.

SINGH, M. Effects of plant spacing, fertilizer, modified urea material and irrigation regime on herbage, oil yield and oil quality of rosemary in semi-arid tropical conditions. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 79, n. 3, p. 411-415, 2004.

SINGH, T. N. et al. Changes in praline concentration in excised plant tissues. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 26, p. 57-63, 1973.

SINGH-SANGWAN, N. et al. Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. **New Phytologist**, London, v. 128, p. 173-179, 1994.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, São Luís, v. 1, n. 1, p. 9-19, 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, 606 p.

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

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

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

TAN, Y.; LIANG, Z. S.; HONGBO, S. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among 3 different genotypes of *Radix astragali* at seeding stage. **Colloids Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 49, p. 60–65, 2006.

TATAR, O.; GEVREK, M. N. Influence of water stress on proline accumulation, lipid peroxidation and water content of wheat. **Asian Journal of Plant Sciences**, Faisalabad, v. 7, p. 409-412, 2008.

TECEDEIRO, L. A. V. **Plantas medicinais do Ribatejo**. Garrido: Artes Gráficas, 1196. 317 p.

TESKE, M. TRENTINI, A. M. M. **Herbarium**: compêndio de fitoterapia. 2. ed. Curitiba: Herbarium, 1995. p. 19-21.

TONIN, F. B. **Atividade de enzimas antioxidativas e absorção de silício em plantas de pimentão submetidas a estresse salino**. 2005. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

TREUTTER, D. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. **Environmental Chemistry Letters**, New York, v. 4, p. 147–157, 2006.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. **Amino Acids**, Wien, v. 35, p. 753-759, 2008.

VIEIRA, R. F.; SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic Botany**, New York, v. 54, n. 2, p. 207-216, 2000.

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

VON HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem, comercialização. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991. p. 314-325.

YIN, C. et al. Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two Sympatric *populus* species as affected by water stress, **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 315–322, 2005.

ZHUJUN, Z. et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, California, v. 167, p. 527-533, 1994.