

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

**PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL ASSOCIADO À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA EM PLANTAS DE *Ocimum basilicum* L. cv. GENOVESE.**

MARCELO LEONARDO

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia - Área de
Concentração em Irrigação e Drenagem.**

BOTUCATU - SP

Março - 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

**PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL ASSOCIADO À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA EM PLANTAS DE *Ocimum basilicum* L. cv. GENOVESE.**

MARCELO LEONARDO

Orientador: Prof. Dr. Fernando Broetto

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia - Área de
Concentração em Irrigação e Drenagem.**

BOTUCATU - SP

Março – 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO -
SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO

UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Leonardo, Marcelo, 1974-

L581p Produção de óleo essencial associado à deficiência hídrica em plantas
de *Ocimum basilicum* L.cv. genovese/ Marcelo Leonardo. - Botucatu : [s.n.], 2007.
xxii, 132 f. : gráfs., tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2007
Orientador: Fernando Broetto
Inclui bibliografia.

1. Essenciais e óleos essenciais. 2. Enzimas - Análises. 3. Plantas medicinais. 4. Deficiência hídrica. 5. Antioxidantes. 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

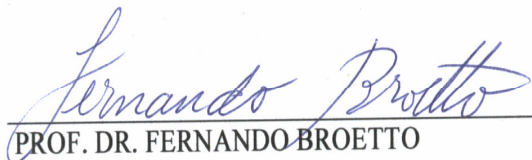
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

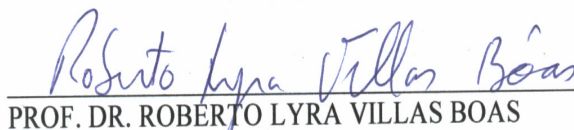
TÍTULO: "PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL ASSOCIADO À DEFICIÊNCIA
HÍDRICA EM PLANTAS DE Ocimum basilicum L. cv GENOVESE"

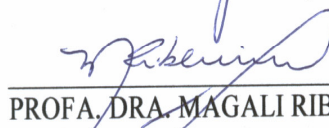
ALUNO: MARCELO LEONARDO

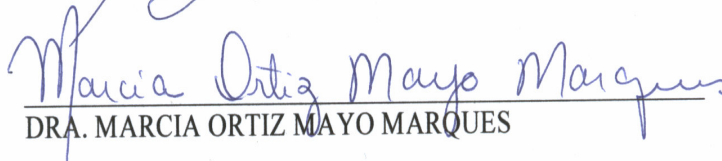
ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO BROETTO

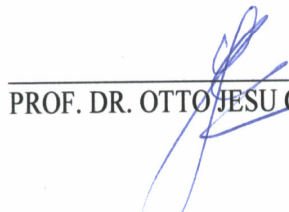
Aprovado pela Comissão Examinadora


PROF. DR. FERNANDO BROETTO


PROF. DR. ROBERTO LYRA VILLAS BOAS


PROFA. DRA. MAGALI RIBEIRO DA SILVA


DRA. MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES


PROF. DR. OTTO JESU CROCOMO

Data da Realização: 05 de março de 2007

**“A vida é uma universidade que só ensina a
quem sabe ser aluno”**

OFEREÇO

**A minha família, namorada e amigos.
pela força e compreensão**

AGRADEÇO

A DEUS QUE NOS FORTALECE E CAPACITA

Ao CNPq pela bolsa concedida

Aos professores

Dr^a Márcia Ortiz Mayo Marques

Dr. Raimundo Leite Cruz

pela dedicação

Aos colegas

Juliana Marino

Paula Polato

Patrícia Vendramini

Maria Aparecida Ribeiro Vieira

Rafael Simões de Almeida

pelo companheirismo e colaboração na execução dos experimentos.

Especialmente ao orientador **Dr. Fernando Broetto** e co-orientador **Dr Jose Abramo Marchese**.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	XX
LISTA DE TABELAS.....	XIII
LISTA DE FOTOS.....	XX
RESUMO.....	XXI
SUMMARY.....	XXII
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Aspectos da cultura do manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	4
2.2 Desenvolvimento da planta.....	6
2.3 Adubação e teor de óleo essencial.....	7
2.4 Deficiência hídrica (DH) e sua relação com o metabolismo secundário.....	8
2.5 Influência da deficiência hídrica no rendimento de óleo essencial.....	11
2.6 Composição do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	16
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Localização e instalação do experimento.....	18
3.2 Material vegetal, instalação do experimento de casa-de-vegetação e manejo da cultura.....	20
3.3 Delineamento experimental.....	21
3.4 Condução dos tratamentos.....	22
3.5 Análises dos parâmetros biométricos.....	26
3.5.1 Área foliar.....	26
3.5.2 Volume e massa de matéria seca de raiz.....	26
3.5.3 Índice relativo de clorofila.....	27
3.5.4 Determinação da massa de matéria fresca (MMF) e seca (MMS) da parte aérea.....	27
3.6 Análises bioquímicas.....	28
3.6.1 Coleta e armazenamento do material vegetal.....	28
3.6.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto	28

3.6.3 Determinação do teor de proteína solúvel total.....	29
3.6.4 Determinação do teor de L-prolina.....	29
3.6.5 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1).....	29
3.6.6 Atividade da enzima Catalase (CAT; EC 1.11.1.6).....	30
3.6.7 Atividade da enzima Peroxidase (POX; EC 1.11.1.7).....	30
3.6.8 Atividade da enzima Polifenol Oxidase (PPO; EC 1.10.3.2)	31
3.6.9 Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11).....	31
3.7 Análise da composição química do óleo essencial.....	32
3.7.1 Coleta e armazenamento do material vegetal.....	32
3.7.2 Rendimento do óleo essencial em folhas e na inflorescência de de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv genovese.....	32
3.7.3 Determinação qualitativa do óleo essencial de folhas e inflorescência de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv genovese.....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1 Análises biométricas.....	34
4.1.1 Área foliar.....	34
4.1.2 Volume e massa de matéria seca de raiz.....	37
4.1.3 Índice relativo de clorofila.....	43
4.1.4 Determinação da massa de matéria fresca (MMF) e seca (MMS) da parte aérea.....	45
4.2 Análises bioquímicas.....	53
4.2.1 Determinação do teor de proteína solúvel total.....	53
4.2.2 Determinação do teor de L-prolina.....	56
4.2.3. Análise da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD).....	59
4.2.4 Análise da atividade da enzima Catalase (CAT).....	62
4.2.5. Atividade da enzima Peroxidase (POX; EC 1.11.1.7).....	66
4.2.6 Atividade da enzima Polifenol Oxidase (PPO; EC 1.10.3.2).....	69
4.2.7 Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11).....	72
4.3 Análises da composição química dos óleos essenciais.....	75
4.3.1 Avaliação do rendimento do óleo essencial em folhas e na	

inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv genovese.....	75
4.3.2 Avaliação da produtividade do óleo essencial em folhas e na inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv genovese.....	81
4.3.3 Avaliação da composição química do óleo essencial de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv genovese.....	87
5. CONCLUSÕES.....	92
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema da ação das enzimas do sistema de resposta antioxidativo.....	10
2	Taxa de assimilação líquida, taxa de crescimento relativo e metabolismo secundário, em resposta a mudanças na disponibilidade de recursos.....	14
3	Funções e processos celulares dos vegetais afetados pela deficiência hídrica. As linhas horizontais mostram as faixas de DH em que ocorrem reações na maioria das espécies de plantas. A linha vertical indica o fechamento estomático.....	15
4	Valores médios de potencial de água no xilema das folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv. genovese afetados pela câmara de pressão (MPa) nas diferentes épocas de amostragem.....	25
5	Valores médios da área foliar em cm ² de folhas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	36
6	Valores médio para o volume de raiz (ml) de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	41
7	Valores médios para a massa de matéria seca de raiz (g planta ⁻¹) de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	42
8	Valores médios para o índice relativo de clorofila (IRC - unidades SPAD) de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	45
9	Valores médios para massa de MMF total (g planta ⁻¹) da parte aérea (folhas + caule + inflorescência) de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	50
10	Valores médios para massa de matéria seca e fresca de cada órgão (g planta ⁻¹) da parte aérea (folhas + caule + inflorescência) de	

	plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	52
11	Valores médios para a concentração de proteína total solúvel ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	55
12	Valores médios para a concentração de L-prolina ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	58
13	Valores médios para a atividade da enzima SOD ($\text{U SOD } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	61
14	Valores médios para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	65
15	Valores médios para a atividade da enzima POX ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	68
16	Valores médios para a atividade da enzima PPO ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	71
17	Valores médios para a atividade da enzima APX ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	74
18	Valores médios para o rendimento de óleo essencial (%) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	79
19	Valores médios para o rendimento de óleo essencial (%) na inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	80
20	Valores médios para o rendimento de óleo essencial (mg óleo essencial	

	massa seca inflorescência por planta ⁻¹) na inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	85
21	Valores médios para o rendimento de óleo essencial (mg óleo essencial massa seca folha por planta ⁻¹) nas folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> em função de diferentes níveis de DH.....	86
22	Valores médios em (%) para os componentes do óleo essencial encontrado em folhas de <i>O. basilicum</i> cujas plantas foram submetidas a diferentes níveis de DH.....	87
23	Valores médios em (%) para os componentes do óleo essencial encontrado em inflorescências de <i>O. basilicum</i> cujas plantas foram submetidas a diferentes níveis de DH.....	88
24	Fórmulas estruturais dos compostos dos óleos essenciais das folha e inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv. genovese.....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Análise de variância para a área foliar das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	34
2	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) foliar das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	35
3	Valores médios da área foliar (cm ² planta ⁻¹) das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	35
4	Análise de variância para o volume de raiz das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	38
5	Análise de variância para a massa de matéria seca de raiz das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	38
6	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o volume de raiz das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	39
7	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para massa de matéria seca de raiz das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	39
8	Valores médios do volume de raiz (ml) das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de	

	deficiência hídrica.....	40
9	Valores médios da massa de matéria seca de raiz (g planta ⁻¹) das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	40
10	Análise de variância para o índice relativo de clorofila das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	43
11	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o índice relativo de clorofila das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	44
12	Valores médios para o índice relativo de clorofila (IRC - unidades SPAD) das plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	44
13	Análise de variância para a massa de matéria seca total da parte aérea de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	47
14	Análise de variância para a massa de matéria fresca total da parte aérea de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	47
15	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a massa de matéria seca total da parte aérea de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	48
16	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a massa de matéria fresca total da parte aérea de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de	

	diferentes níveis de deficiência hídrica.....	48
17	Valores médios para a massa de matéria seca total da parte aérea (g planta ⁻¹) da parte aérea de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	49
18	Valores médios para a massa de matéria fresca total da parte aérea (g planta ⁻¹) da parte aérea de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	49
19	Análise de variância da concentração de proteína em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	53
20	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a concentração de proteína em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	54
21	Valores médios da concentração de proteína ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	54
22	Análise de variância do teor de L-prolina em folhas em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	56
23	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o teor de L-prolina em folhas em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	57
24	Valores médios do teor de L-prolina ($\mu\text{g mL}^{-1}_{(\text{extrato})}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de	

	diferentes níveis de deficiência hídrica.....	57
25	Análise de variância da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	60
26	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	60
27	Valores médios da atividade da enzima superóxido dismutase (U SOD $\mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>O. basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	61
28	Análise de variância da atividade da enzima catalase (CAT) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	63
29	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima catalase (CAT) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	63
30	Valores médios da atividade da enzima catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	64
31	Análise de variância da atividade da enzima peroxidase (POX) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	66
32	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1,	

	E2 e E3) para a atividade da enzima peroxidase (POX) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	67
33	Valores médios da atividade da enzima peroxidase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	67
34	Análise de variância da atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	69
35	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	70
36	Valores médios da atividade da enzima polifenol oxidase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	70
37	Análise de variância da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	72
38	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	73
39	Valores médios da atividade da enzima ascorbato peroxidase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência	

	hídrica.....	73
40	Análise de variância para o rendimento de óleo essencial em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	76
41	Análise de variância para o rendimento de óleo essencial na inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	76
42	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o rendimento de óleo essencial em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	77
43	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o rendimento de óleo essencial na inflorescência de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	77
44	Valores médios para o rendimento (%) de óleo essencial em folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	78
45	Valores médios para o rendimento (%) de óleo essencial na inflorescência de plantas <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	78
46	Análise de variância para a produtividade de óleo essencial nas inflorescências de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	81
47	Análise de variância para a produtividade de óleo essencial nas folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	82
48	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada	

	tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a produtividade de óleo essencial nas inflorescências de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	82
49	Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a produtividade de óleo essencial nas folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	83
50	Valores médios para a produtividade (mg óleo essencial massa seca inflorescência por planta ⁻¹) óleo essencial nas inflorescências de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cv. genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	83
51	Valores médios para rendimento do (mg óleo essencial massa seca folha por planta ⁻¹) óleo essencial nas folhas de plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.....	84

LISTA DE FOTOS

Fotos		Página
1	Detalhes da instalação do experimento em casa de vegetação.....	19
2	No manejo da irrigação a água ascendeu por capilaridade, ocupando apenas os microporos do substrato.....	19
3	A foto a esquerda mostra o tratamento controle com a presença das bandejas (sub-irrigação), a foto a direita mostra o tratamento submetido a deficiência hídrica onde nota-se a ausência das bandejas.....	22
4	Detalhes da medição do potencial de água das plantas utilizando-se a câmara de pressão.....	23
5	Diferenças visuais entre os dois tratamentos, T1 (controle) e T2 (deficiência hídrica).....	24
6	Diferenças visuais entre os tratamentos T1 e T2 na época de amostragem (E3).....	24

RESUMO

Um dos mais importantes fatores ambientais e agronômicos que afetam a produção de metabólitos secundários em plantas é a 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 positiva no acúmulo de constituintes ativos em espécies medicinais, aromáticas e condimentares. Verificou-se a influência da DH na participação de assimilados, acúmulo e na composição do óleo essencial em manjerição (*Ocimum basilicum* L.). Paralelamente, foram avaliados parâmetros bioquímicos relacionados com a resposta das plantas a DH. Os tratamentos foram constituídos por dois blocos, T1 (controle) que foi mantido sempre irrigado e T2 (DH) submetido a três níveis de DH. Nas plantas dos tratamentos do bloco T2 (DH), foi suspenso o fornecimento de água quando 50% das plantas iniciaram seu florescimento. Observou-se que as plantas cultivadas sob DH, responderam com aumento da concentração de óleo essencial na inflorescência e nas folhas. O maior rendimento de óleo por planta, foi encontrado nas plantas do controle, principalmente no tecido da inflorescência, inversamente do observado para o tecido foliar. Em termos qualitativos, a análise dos componentes do óleo revelou que os diferentes níveis de DH não alteraram o padrão conhecido para esta espécie. Constatou-se que todos os parâmetros biométricos foram influenciados negativamente pela DH. A análise da atividade enzimática indicou que o estresse causado por DH ativou todas as enzimas relacionadas ao sistema de resposta antioxidativo, além de induzir ao acúmulo de L-prolina

ESSENTIAL OIL PRODUCTION ASSOCIATES TO HYDRIC DEFICIENCY IN PLANTS OF *Ocimum Basilicum* L. cv GENOVESE. Botucatu, 2006. (Doutorado em Agronomia/ Irrigação e Drenagem) Faculdade de Ciências Agrônômicas – Universidade Estadual Paulista.

Author: MARCELO LEONARDO

Adviser: FERNANDO BROETTO

SUMMARY

The water is one of the most important agronomic and environmental factors that affect the production of secondary metabolites in plants. Limited amount of water has negative effect on growth and development of plants. However, the hydric deficiency (HD), a lot of times have been shown positive in the active constituents accumulation in medicinal species, aromatic and spices. The influence of HD was verified in participation of assimilate, accumulation and in the essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). At the same time, biochemical parameters related with HD in plants were studied. The treatments were constituted by two blocks, T1 (control) that was maintained well irrigated and T2 (HD) submitted to three levels of HD. In T2 (HD) treatments, the water supply was suspended when 50% of the plants began flowering. In plants cultivated under HD was observed that the essential oil concentration was increased in the inflorescences and leaves. The largest oil income was found in the plants of control, mainly in inflorescences material, inversely of observed in leaves material. In qualitative terms, the oil components analysis revealed that the different levels of HD didn't alter the known standarts for this species. It was verified that all of the biometrical parameters were negatively influenced by HD. The enzymatic activity analysis indicated that the stress caused by HD had activated all of the enzymes related to the antioxitative response system, besides inducing the accumulation of L-proline.

1. INTRODUÇÃO

Informações sobre o efeito de condições de estresse no metabolismo secundário de plantas são derivadas principalmente de esforços da pesquisa, para maximizar a produção de constituintes ativos de espécies medicinais, aromáticas e condimentares. Como aplicação prática, avanços no sentido de compreender a influência de fatores ambientais na regulação da síntese de metabólitos secundários, podem contribuir para a maximização da produção de compostos de interesse nestas espécies (GERSHENZON, 1984).

Um dos mais importantes fatores ambientais e agronômicos que afetam a produção de metabólitos secundários é a água (FRANZ, 1983; PALEVITCH, 1987). Usualmente, quantidade limitada de água tem um efeito negativo sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas. Entretanto, a deficiência hídrica (DH), muitas vezes tem se mostrado positiva, influenciando o acúmulo de constituintes ativos em espécies medicinais, aromáticas e condimentares (GERSHENZON, 1984; PALEVITCH, 1987). Segundo Gershenzon (1984), em plantas herbáceas e arbustivas, o conteúdo de compostos terpênicos tende a aumentar sob condições de estresse, principalmente quando cultivadas sob deficiência hídrica moderada.

Vários autores (FARRANT, 2000; HOEKSTRA *et al.*, 2001; OLIVER *et al.*, 2001) fazem referência ao acúmulo e participação de compostos secundários na tolerância a deficiência hídrica. Tais informações indicam que através do manejo da água de irrigação, pela diminuição do fornecimento, pode-se induzir aumento na produção destes compostos. Além disso, estes autores discutem que compostos secundários como as quinonas, polióis, flavonóides, fenóis e carotenóides estão envolvidos nas respostas antioxidantes durante a deficiência hídrica, posto que um dos principais mecanismos moleculares de dano às células sensíveis a DH é o ataque de radicais livres a fosfolipídios, ácidos nucleicos e proteínas. Outro mecanismo que a célula dispõe para dismutar radicais livres produzidos em condição de DH, é a ativação de enzimas do sistema de resposta antioxidativo. Dentre os principais sistemas, destacam-se as polifenol oxidases, catalases, superóxido dismutases, lipoxigenases, glutathione redutase, ascorbato peroxidase e peroxidases (INGRAM & BARTELS, 1996; HOEKSTRA *et al.*, 2001; OLIVER *et al.*, 2001; PASTORI & FOYER, 2002). Portanto o monitoramento dessas enzimas pode ser utilizado como marcadores bioquímicos, para a avaliação dos diferentes níveis de estresse das plantas.

O acúmulo de L-prolina em plantas submetidas à deficiência hídrica (DH) tem sido amplamente relatado na literatura para diversas espécies vegetais (HARE & CRESS, 1997; STEWART *et al.*, 1977). Com este acúmulo, Delauney & Verma (1993) sugerem que o aminoácido tem função como elemento de ajuste osmótico importante. Além disso, outras funções são comumente atribuídas a prolina, como estabilizador de estruturas e dismutador de radicais livres (SARADHI *et al.*, 1995)

Este trabalho determinou a influência da DH na partição de assimilados, no acúmulo e na composição do óleo essencial de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv. Genovese. Os resultados alcançados permitem responder, se o manejo de água pode ser utilizado como ferramenta para aumentar o rendimento do óleo essencial. Além disso, os resultados indicam claramente que este efeito não será anulado em função da diminuição da biomassa vegetal, resultado esperado para plantas submetidas a uma DH.

O efeito metabólico da DH foi avaliado através da análise de parâmetros bioquímicos, com ênfase para a atividade de enzimas sensíveis ao estresse físico e acúmulo do aminoácido L-prolina, como indicadores de resposta das plantas.

2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

2.1 Aspectos da cultura do manjeriço (*Ocimum basilicum* L. cv genovese)

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) pertence à família Labiatae (*Lamiaceae*), conhecida por inúmeros nomes populares, dentre os quais se destacam manjeriço–italiano, alfavaca, favação, basilico, basilicão e remédio de vaqueiro. O gênero possui entre 50 e 150 espécies distribuídas na Ásia Tropical, África, América Central, América do Sul e Europa (SOBOTI, *et al.* 1982; KHOSLA, 2000)

Existe muita controvérsia sobre o centro de origem do manjeriço. Segundo Paton *et al*, 1999; Roveratti, 1999, o maior número de espécies pode ser encontrado nas florestas tropicais da África. Entretanto, além da África, América do Sul (Brasil) e Ásia são os principais centros de diversidade do gênero.

A planta de *O. basilicum* L. cv. genovese é um arbusto com a altura entre 45 a 90 cm segundo Bown (1995), muito ramificado e apresentando muitas flores e frutículos dispostos em numerosas inflorescências eretas típicas do gênero. As diferentes partes da planta apresentam aroma característico, (Bustamante, 1993)

Segundo Hay & Waterman (1993) e Corrêa Jr *et al.* (1998) as plantas de manjerição se adaptam melhor a climas quentes e úmidos, não tolerando temperaturas frias e geadas. São consideradas como espécie intermediária com relação ao fotoperíodo (MATHON, 1972) e possuem alta taxa de fecundação cruzada (DARRAH, 1974; KRISHNAN, 1981; PUTIEVSKY, 1983 e NATION *et al* 1992).

Quanto ao desenvolvimento da planta, alguns autores a consideram como anual (SANTOS *et al.*, 1988; ROIG, 1992; TECEDDEIRO, 1996; FUENTES & GRANDA, 1997; PANIZZA, 1998) enquanto que outros (GARLAND, 1989; HERTWING, *et al.*, 1992; CASTRO, 1995 e CORRÊA Jr *et al.*, 1998) afirmam que a espécie pode ser tanto perene como anual, dependendo do clima, variedades ou cultivares diferentes.

Conforme Simões & Spitzer (2000) as plantas do gênero foram caracterizadas como *fábricas químicas* capazes de sintetizar inúmeras substâncias altamente complexas, sendo que seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis e ácidos orgânicos.

Nas condições brasileiras, o manejo da cultura é conduzido de forma pouco padronizada, o que pode afetar a produção de biomassa, qualidade e quantidade de óleo essencial (FURLAN, 2000). Chaves (2001) salientam que no Brasil grande parte da produção de plantas medicinais não é fruto de cultivo e sim coletada por extrativismo.

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 é empregado na indústria alimentícia, formulação de cosméticos, farmacêutica (NOLASCO, 1996).

Recentemente 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.

Substâncias contidas na composição do óleo essencial de *Ocimum*, têm sido empregadas como analgésico, anestésicos, anti-sépticos, atraente ou repelente de insetos (dependendo do inseto), odorizante, aromatizante, flavorizante e utilizados em larga escala na produção de perfumes (THE MERCK INDEX, 1996).

A utilização do extrato de plantas do gênero *Ocimum* como inseticida foi relatada por muitos autores. Rigueiro (1992) estudou a utilização 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) obtiveram atividade larvicida e repelente de várias espécies de moscas, mosquitos e baratas.

Montes-Belmont & Carvajal (1998) afirmam que o óleo essencial pode ter ação fitopatogênica para o controle de fungos causadores de doenças em milho.

Na indústria farmacêutica Teske & Trentini (1995) ressaltam que o óleo essencial de *Ocimum* tem ação antiespasmódica, estomacal, carminativa, estimulante, anti-séptica intestinal, diurética, anti-helmíntica, antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatória, analgésica e anestésica.

2.2 Desenvolvimento da planta.

Segundo Furlan (2000) o cv. genovese apresenta 50% do seu florescimento na 12^a semana, com pico em 14 semanas após o plantio (mais de 80% das flores totalmente abertas). Após a 16^a semana, ocorre queda significativa das flores e folhas, quando as plantas começam a frutificar.

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

Gupta (1996) e Furlan (2000) recomendam a colheita quando 50% das plantas estiverem em pleno florescimento para a produção de óleo essencial, sendo que para a produção de biomassa, as plantas devem atingir o estágio correspondente ao início da formação de sementes.

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

2.3 Adubação e teor de óleo essencial.

As plantas medicinais apresentam de modo geral melhor desenvolvimento em solos que possuam características físicas que favoreçam o desenvolvimento do sistema radicular. Côrrea Jr *et al.* (1998) e Mattos (1996) sugerem que a adubação orgânica, o cultivo mínimo e as práticas da agricultura alternativa possibilitam o melhor desenvolvimento de plantas.

Alguns autores como Dey & Choudhuri (1984), Furlan (2000), Silva *et al.* (2001) e Chaves (2001) em trabalhos com *O. basilicum*, relatam que a aplicação de Nitrogênio aumenta proporcionalmente o rendimento de biomassa, embora este efeito não se correlacione bem com o teor de óleo essencial.

Nykanem (1989), Takano & Yamamoto (1993) analisaram a influência de quatro doses de NPK no cultivo de *O. basilicum* e observaram um aumento significativo e proporcional para os teores de óleo essencial e produção de biomassa.

Furlan (2000) conclui que em plantas de *Ocimum basilicum* L. cv. genovese apenas o nitrogênio apresentou diferenças significativas para o aumento da biomassa, porém não verificou diferenças significativas entre as doses aplicadas de N (60 e 120 kg ha⁻¹). Com relação as variáveis qualitativas e quantitativas do óleo essencial não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre as fontes e doses de nutrientes aplicados.

Na literatura existem diversos trabalhos relacionados com a adubação mineral em diferentes espécies de plantas medicinais, mas resumidamente o N quando aplicado ao solo, na maioria das culturas aumenta a produção de biomassa. Em relação ao aumento do teor de óleo essencial, a adubação nitrogenada parece apresentar efeitos contraditórios, conforme a cultura, clima e outros fatores extrínsecos que pode influenciar no aumento ou diminuição do teor de óleo essencial.

2.4 Deficiência hídrica e sua relação com o metabolismo secundário

A história da evolução das plantas superiores é de constante adaptação a estresses bióticos e abióticos. Apesar destas adversidades, raramente encontra-se um habitat no mundo onde nenhuma planta possa ser encontrada. Estas plantas têm sobrevivido graças a sua enorme flexibilidade para adaptar-se a condições distintas de crescimento oferecidas pela diversidade de ambientes existentes no planeta. As plantas podem adaptar-se através de alterações morfológicas, alterações fisiológicas ou mudanças bioquímicas.

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento no interesse em compreender o modo pelo qual as plantas se adaptam aos ambientes adversos.

Estas adaptações podem envolver o metabolismo primário e o metabolismo secundário das plantas, alterando assim a concentração de metabólitos secundários como resposta a estresses ambientais (HARBORNE, 1993; DEY & HARBORNE, 2000).

Há algumas décadas, compostos do metabolismo secundário eram considerados sobras metabólicas ou *lixo celular*, devido ao desconhecimento do significado fisiológico destas substâncias. Mais tarde descobriu-se que as mesmas exercem papel fundamental na interação das plantas com seu ambiente, estabelecendo um novo campo de estudo denominado *ecologia química* (KUTCHAN, 2001).

O envolvimento de compostos secundários com a tolerância a deficiência hídrica (DH) tem sido relatado em inúmeros trabalhos. Em *Craterostigma wilmsii* verificou-se acúmulo de antocianinas com propriedade antioxidante (FARRANT, 2000; HOEKSTRA *et al.*, 2001). Compostos secundários como as quinonas, polióis, flavonóides, fenóis e carotenóides estão envolvidos nas respostas antioxidantes durante a deficiência hídrica (FARRANT, 2000; HOEKSTRA *et al.*, 2001; OLIVER *et al.*, 2001), posto que um dos principais mecanismos moleculares de dano as células sensíveis a DH é o ataque de radicais livres a fosfolipídios, DNA e proteínas.

Outro mecanismo que a célula apresenta para combater os radicais livres produzidos em DH são as enzimas do sistema de resposta antioxidativo, como polifenol oxidases (PPO, EC 1.10.3.2, EC 1.10.3.1 e EC 1.14.18.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), e as peroxidase (APX, EC 1.11.1.11 e POX; EC 1.11.1.7) (INGRAM & BARTELS, 1996; HOEKSTRA *et al.* 2001; OLIVER *et al.* 2001; PASTORI & FOYER, 2002). Os radicais livres originam-se de formas parcialmente reduzidas ou ativadas, de espécies reativas de O_2 (EROS), produzidas em maior taxa nas mitocôndrias, resultado do metabolismo aeróbio, cloroplastos e peroxisomos de plantas em DH (INGRAM & BARTELS, 1996; OLIVER *et al.* 2001). Sob condições normais, as plantas possuem mecanismos que mantêm as EROs em níveis reduzidos (Scandalios, 1993). Estas formas de oxigênio como peróxido de Hidrogênio (H_2O_2), radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical Hidroxila ($OH^{\cdot}$) são conhecidos por oxidar importantes constituintes celulares, tais como ácidos nucleicos, lipídeos de membrana (camada bipolar) e proteínas, podendo levar as células a morte (ALSCHER *et al.* 1997).

Este processo de oxidação ocorre principalmente em membranas, uma consequência imediata é a alteração da permeabilidade seletiva e o efluxo de íons. Em nível do complexo protéico, podem ocorrer mudanças na estrutura conformacional. No caso de enzimas pode haver distúrbios no sítio ativo, influenciando a atividade e outras alterações metabólicas, como aumento da síntese de proteases, responsáveis pela degradação das proteínas. A degradação oxidativa dos ácidos nucleicos apresenta paralelos com os efeitos de ionização radioativa, induzindo a inúmeras lesões como falhas na cadeia do DNA, mutações e outros defeitos genéticos letais.

Assim, sugere-se que as plantas podem ser relativamente (dependendo da espécie) equipadas com um sistema efetivo para controlar a ação deletéria destes radicais. Em várias espécies vegetais observou-se uma super expressão da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em respostas a diversos fatores estressantes (MISZALSKI *et al.* 1998; BROETTO *et al.* 2002; LEONARDO, 2003; PEIXOTO, *et al.*, 2005).

A SOD se constitui uma das principais enzimas do sistema de resposta antioxidativa, e tem a função de catalisar a desmutação do superóxido ($O_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), conforme mostrado na figura 1.

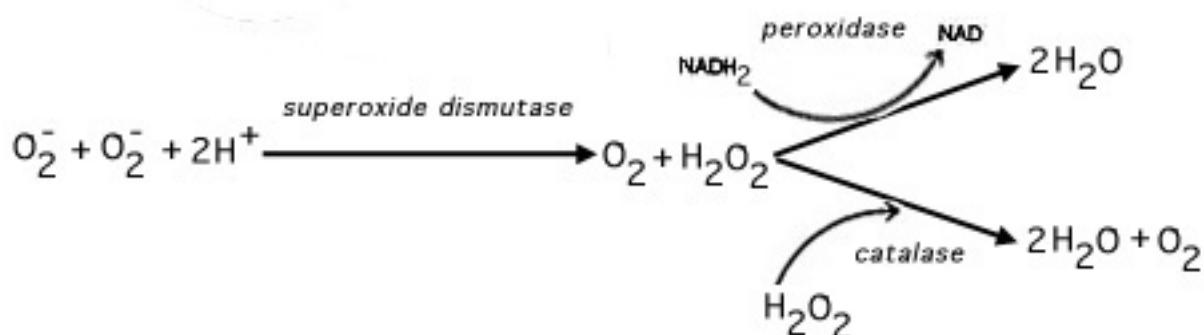


Figura 1: Esquema da ação das enzimas do sistema de resposta antioxidativo.

A enzima catalase (CAT) tem fundamental importância no sistema de resposta antioxidativo, ela é responsável por decompor H_2O_2 gerada nos peroxissomos durante a fotorrespiração, bem como o produto de reação da SOD (GERBLING *et al.* 1984) e reduzir até H_2O e O_2 conforme demonstrado na Figura 1.

A atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) tem sido utilizada como parâmetro de avaliação da peroxidação de lipídios, e da produção de compostos fenólicos (MAYER, 1987). O acúmulo de compostos fenólicos e o aumento na atividade da PPO podem gerar substâncias reativas, tais como as quinonas derivadas do ácido caféico que, juntamente com outros compostos fenólicos, são ativas na produção do radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot -}$) e, conseqüentemente, na peroxidação de lipídios (MARSCHNER, 1995).

Outras enzimas com ação antioxidativa são as peroxidases (APX – Ascorbato peroxidase e POX-peroxidase catiônica/aniônica). Estas enzimas atuam na dismutação dos radicais peróxido de hidrogênio, reduzindo-os a $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (Figura 1).

Em síntese, os tecidos vegetais são dotados de diferentes sistemas de resposta para o controle da produção de radicais livres. Devido a sua compartimentalização específica nas células, às enzimas e compostos orgânicos formados em situação de estresse ambiental, respondem também de forma específica conforme o envolvimento de reações metabólicas que se façam necessárias.

Outro mecanismo de defesa ou tolerância a DH são os solutos anfífilos, que além de carboidratos, incluem compostos secundários como alcalóides, flavonóides e outros compostos fenólicos. À medida que a planta perde água, solutos

anfífilos são deslocados do citoplasma aquoso para a fase lipídica das membranas celulares, mantendo a fluidez e evitando o enrijecimento das mesmas (HOEKSTRA *et al.*, 1997; GOLOVINA *et al.* 1998; OLIVER *et al.*, 2001; HOEKSTRA *et al.*, 2001; HOEKSTRA & GOLOVINA, 2002).

O acúmulo de L-prolina em plantas submetidas à deficiência hídrica (DH) tem sido amplamente relatado na literatura. Destacam-se os relatos de Hare & Cress (1997) e Stewart *et al.* (1977). Estes autores descrevem o fenômeno de acúmulo de prolina e sua relação com o aumento do fluxo de glutamato além da diminuição do catabolismo da prolina. A via metabólica responsável pela biossíntese de prolina é mediada pela enzima pirrolina-5-carboxilato redutase (P5C) cuja atividade é influenciada diretamente por variações no potencial osmótico do citossol (WILLIAMSON & SLOCUM, 1992). Assim, a exposição das plantas a DH pode desencadear aumento da atividade da P5C, induzindo assim ao acúmulo de prolina nos tecidos. Com este acúmulo, Delauney & Verma (1993) sugerem que o aminoácido tem função como elemento de ajuste osmótico importante. Além disso, outras funções são comumente atribuídas a prolina, como estabilizador de estruturas e dismutador de radicais livres (SARADHI *et al.*, 1995).

2.5 Influência da deficiência hídrica no rendimento de óleo essencial

A adaptabilidade de plantas em condições de estresse é influenciada pela sua duração e magnitude, além da variabilidade genética das espécies. A concentração de princípios ativos nas plantas depende do controle genético e também das interações genótipo e ambiente, que podem ser desencadeadas em condições de estresse, ou seja, excesso ou deficiência de algum fator do meio ambiente, como água, luz, temperatura, nutrientes, dentre outros (ANDRADE & CASALI, 1999)

Segundo Ingram & Bartels (1996), os conhecimentos correntes, relativos aos sistemas que controlam as respostas a deficiência hídrica é muito fragmentado, e

com muita pouca informação no estabelecimento das funções de algumas poucas proteínas codificadas, a despeito dos muitos genes identificados em associação com a DH.

Considerando-se a tolerância à seca como uma característica poligênica, difícil de ser trabalhada no melhoramento genético clássico, poucos programas de melhoramento se empenham no estudo dessa característica (BEEVER, 2000). Informações sobre o efeito de condições de estresse no metabolismo secundário de plantas são derivadas principalmente de esforços da pesquisa, para maximizar a produção de constituintes ativos de espécies medicinais, aromáticas e condimentares.

Como aplicação prática, avanços no sentido de compreender a influência de fatores ambientais na regulação da síntese de metabólitos secundários, podem contribuir para a maximização da produção de compostos de interesse nestas espécies (GERSHENZON, 1984). Segundo o autor, em plantas herbáceas e arbustos, existe uma tendência de que os compostos terpênicos acumulem-se sob condições de estresse, principalmente em DH moderada (potencial hídrico na folha aproximado de -1,5 MPa). Vários autores (FARRANT, 2000; HOEKSTRA *et al.*, 2001; OLIVER *et al.*, 2001) fazem referência a um provável aumento na síntese de metabólitos secundários em plantas sob DH.

Em condições de baixa disponibilidade de água no solo, vários processos metabólicos nas plantas podem ser influenciados, como o fechamento estomático, o declínio na taxa de crescimento, o acúmulo de solutos e compostos antioxidantes bem como a super expressão de genes específicos relacionados ao estresse (SINGH-SANGWAN *et al.*, 1994; SILVA & CASALI, 2000).

Em espécies de *Thymus capillatu*, a DH promoveu o aumento da produção de óleos essenciais, com diminuição da fração fenólica e a irrigação aumentou a quantidade dos ácidos clorogênico, gálico e cafêico (DELITALA *et al.*, 1996). Por outro lado, plantas irrigadas podem compensar o baixo teor de princípios ativos com maior produção de biomassa, o que resulta em maior rendimento final destes compostos por área cultivada (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1994). Poucos são os trabalhos referentes ao efeito da DH em plantas medicinais, principalmente em relação aos produtos do metabolismo secundário. O efeito sobre tais produtos parece variar bastante com o tipo, a intensidade e a duração do estresse, podendo aumentar ou diminuir o teor de óleos essenciais (ANDRADE & CASALI 1999).

A DH pode influenciar a composição química do óleo. A fração de monoterpenos em algumas espécies de *Cymbopogon spp* pode variar de acordo com a intensidade e a duração da DH; com 45 dias de estresse moderado, há aumento significativo de geraniol e a diminuição de citral, em *Cymbopogon nardus* L. (RIEDL, 1997)

Simon *et al.* (1992) estudando DH em *O.basilicum*, encontraram aumento no conteúdo do óleo essencial e alteração na composição do mesmo em DH leve (-0.68 MPa) e moderada (-1.12 MPa). Em DH moderada, o conteúdo de óleo passou de 3,1 para 6,2 $\mu\text{L g}^{-1}$ de massa seca. Hornok (1986) estudando DH em *Artemisia dracunculus*, encontrou aumento na produção massa fresca e seca, como também no conteúdo de óleo essencial no tratamento de maior tensão de água no solo (somente nas fases críticas de brotamento, ramificação e emissão de gemas florais), comparado aos tratamentos não irrigado e com frequências de irrigação a cada dois e quatro dias.

Chatterjee (1999) estudando o efeito da DH em *Piper betle*, relata aumento no conteúdo de óleo essencial e seus componentes na massa seca de plantas submetidas a estresse moderado. Em contrapartida, observa redução da massa seca de folhas para o mesmo estresse, anulando o efeito positivo que a elevação no conteúdo poderia ter no rendimento de óleo por planta ou por área plantada. Também, Marchese (1999) estudando o efeito de diferentes níveis de DH em *Artemisia annua*, observou aumentos no conteúdo de artemisinina nos tratamentos com DH, comparativamente ao controle irrigado. Porém, os aumentos nos conteúdos de artemisinina foram anulados pela redução da massa seca de folhas dos tratamentos com DH, não resultando em maiores rendimentos de artemisinina por planta.

Silva *et al* (2002) estudando o efeito de diferentes níveis de estresse hídrico sobre as características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, afirmam que, com o aumento da tensão de água no solo, houve incremento no aumento da biomassa e nos tratamentos com DH, porém sem diferenças significativas na concentração do óleo essencial, exceto para o tratamento onde o nível de DH foi mais severo. Isto indica que a DH severa causa diminuição do teor de óleo essencial, pois há menor produção de biomassa seca, sem influenciar na composição química dos principais componentes do óleo essencial.

Uma possível explicação para os resultados contraditórios citados nos parágrafos anteriores pode ser encontrada no estudo da alocação de recursos (partição de assimilados) dentro da planta. As plantas alocam carbono de fontes (folhas e órgãos de armazenamento) para drenos (meristemas ativos e sítios de acumulação de reservas, como idioblastos que acumulam alcalóides e taninos, ou tricomas glandulares que acumulam óleos essenciais, por exemplo). Quando a disponibilidade de recursos (luz, água e nutrientes) é muito limitada, ocorre uma redução na fotossíntese e no crescimento. Quando os recursos disponíveis para as plantas são muito escassos, a respiração de manutenção e processos do metabolismo primário recebe prioridade no uso do carbono disponível (HERMS & MATTSON, 1992). A forma exata da alocação de recursos entre crescimento e metabolismo secundário, todavia, ainda não foi satisfatoriamente estabelecida para nenhuma espécie vegetal. Entretanto, a teoria fonte/dreno, sugere uma relação não linear entre taxa de crescimento e metabolismo secundário, conforme demonstrado na Figura 2 (HERMS & MATTSON, 1992).

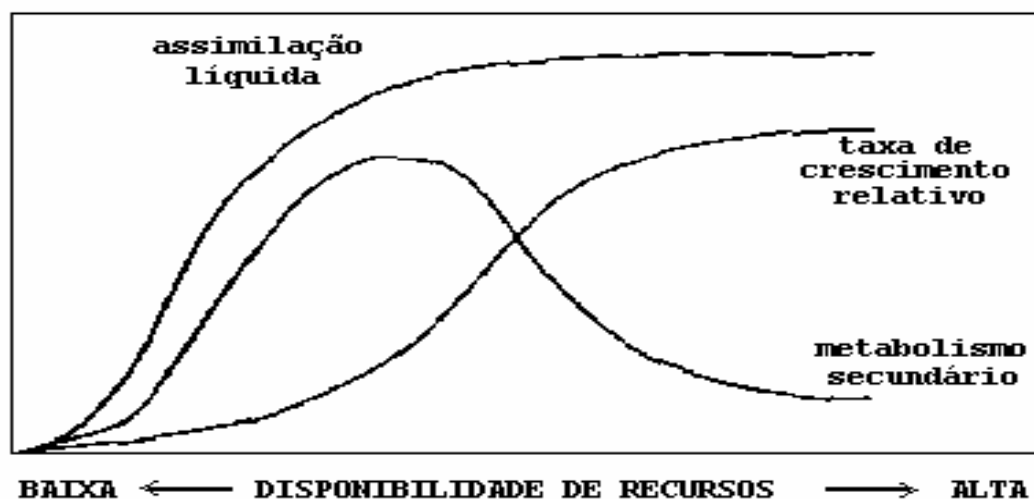


Figura 2. Taxa de assimilação líquida, taxa de crescimento relativo e metabolismo secundário, em resposta a mudanças na disponibilidade de recursos (HERMS & MATTSON, 1992).

Quando as condições ambientais são favoráveis, o crescimento vegetativo geralmente recebe recursos prioritariamente, em detrimento do metabolismo

secundário e do armazenamento. Conseqüentemente, variações quantitativas no metabolismo secundário de plantas, é função da variação da taxa de crescimento.

Sob condições de estresse, fotossíntese e crescimento não respondem igualmente a gradientes de água e nutrientes. Os processos de crescimento são rapidamente afetados, ainda que sob estresses moderados de água e nutrientes, principalmente a deficiência hídrica, onde o decréscimo no turgor causa a interrupção do alongamento celular com conseqüente diminuição no crescimento. Todavia, a fotossíntese líquida não é sensível a limitações moderadas destes recursos (HERMS & MATTSON, 1992; KRAMER & BOYER, 1995; LARCHER, 1995), como podemos verificar na Figura 3. Conseqüentemente, quando ocorrem estresses moderados, impõe-se uma limitação nos drenos relativos ao crescimento, acumulando-se o excedente em carboidrato. Portanto, fatores que limitam o crescimento mais que a fotossíntese, como deficiências hídricas moderadas, baixas temperaturas e limitação relativa de nutrientes, podem aumentar o “pool” de carbono disponível para alocação no metabolismo secundário (Figura 2), com pouca ou nenhuma competição com o crescimento (HERMS & MATTSON, 1992; HARBORNE, 1993).

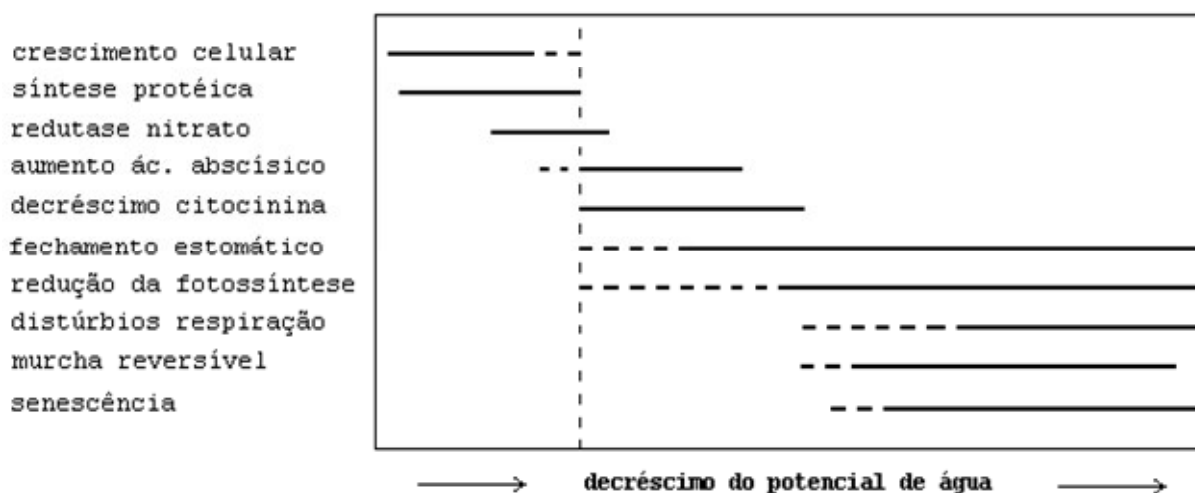


Figura 3. Funções e processos celulares dos vegetais afetados pela deficiência hídrica. As linhas horizontais mostram as faixas de DH em que ocorrem reações na maioria das espécies de plantas. A linha vertical indica o fechamento estomático (adaptado de LARCHER, 1995).

Portanto, em ambientes com abundância de recursos, os processos de crescimento recebem alocação prioritária de recursos, decrescendo a disponibilidade relativa de carbono para suportar o metabolismo secundário. Já no outro extremo, nas situações onde o nível de recursos é muito baixo, a fotossíntese e o crescimento são afetados e processos vitais do metabolismo primário podem receber prioridade no uso de carbono em baixa disponibilidade (HERMS & MATTSON, 1992; KRAMER & BOYER, 1995; LARCHER, 1995), ocorrendo uma redução na síntese de metabólitos secundários (HERMS & MATTSON, 1992).

2.6 Composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum*

A espécie *Ocimum basilicum* apresenta alta complexidade na constituição de seus óleos essenciais. Por definição, são misturas complexas, podendo conter 100 ou mais compostos orgânicos (WATERMAN, 1993), normalmente voláteis, aromáticos e responsáveis pelo odor característico da planta (MATOS, 1998).

Os terpenos e os fenilpropenos são as classes de compostos mais abundantes no óleo essencial encontrado na espécie. Os terpenos são derivados da rota metabólica do ácido mevalônico e classificam-se de acordo com o número de carbonos como: monoterpenos (10 carbonos), sesquiterpenos (15 carbonos), diterpenos (20 carbonos), sesterpenos (25 carbonos), triterpenos (30 carbonos) e tetraterpenos (40 carbonos) entre outros. Cada composto possui blocos de 5 carbonos, denominados unidades de isoprenos. Os monoterpenos são muito voláteis e normalmente predominam como componentes nos óleos essenciais, formando estruturas acíclicas, monocíclicas e bicíclicas.

Os fenilpropanóides são derivados da rota metabólica do ácido chiquímico e apresentam estruturas formadas basicamente de anel aromático, constituído por seis carbonos (WATERMAN, 1993).

Darrah (1974) cita que na composição do óleo essencial de *O. basilicum*, os compostos linalol, metil chavicol e eugenol, destacam-se como constituintes

principais. Roque (1991) analisou a composição dos óleos essenciais de *O. basilicum* determinando a composição de cada quimiotipo: linalol (52 a 60%), eugenol (9 a 18%), metilchavicol (2 a 4%), metil cinamato (2 a 5%), cineol (3 a 6%), γ -terpineno (2 a 3%) e terpinol-4-ol (1 a 3%).

Bustamante (1993) relata que a espécie *O. basilicum* pode apresentar os seguintes quimiotipos: estragol (até 55%), cineol, eugenol, linalol, acetato de linalila, cânfora, ocimeno e pineno. Conforme relatado por Teske & Trentini (1995), a espécie pode apresentar além desses compostos citados anteriormente, as seguintes substâncias: linalol, timol, geraniol e outros: taninos, saponinas e flavonóides.

Sanda *et al.* (1998) analisaram amostras de *O. basilicum* coletados no Togo, e encontraram que o composto principal foi o estragol ou uma mistura de estragol com linalol.

Furlan (2000) analisou a composição e rendimento de óleos essenciais de *O. basilicum* cv. genovese em função de diferentes doses de adubo. Neste trabalho, o autor identificou 25 substâncias presentes no óleo. Destas, os que estão em maior concentração são o linalol (60%), α -muurolol (26%), eugenol (18%), α -bergamoteno (17%), 1,8 cineol (13%) e γ -cadineno (8%).

Teixeira *et al.* (2000) estudaram a composição do óleo essencial em *Ocimum* e encontraram os seguintes valores: linalol (42 a 53%), *trans*-bergamoteno (13 a 14%), 1,8 cineol (2 a 8%), *epi*- α -cadinol (5 a 7%), γ -cadineno (3 a 4%), germacreno D (2 a 3%), eugenol (1 a 3%), *trans*- α -farneseno (1 a 3%) e metileugenol (1 a 2%).

Viera *et al.* (2001) ressalta que já foram encontrados os seguintes valores para espécie de *Ocimum* encontrados no mercado e utilizados na medicina popular, linalol (49,7%), 1,8 cineol (22%), metilchavicol (47%) e cinamato de metila (65,5%).

Essa diversidade em termos quantitativos e qualitativos do óleo essencial pode ser explicada pelas diferentes variáveis climáticas e de cultivo que interferem na composição do óleo essencial de *Ocimum* (DURVELLE, 1930), como também do polimorfismo responsável pela grande variedade de quimiotipos encontrados nas diferentes espécies e variedades de *Ocimum basilicum* (TEIXEIRA *et al.* 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e instalação do experimento

A parte experimental foi desenvolvida no Departamento de Produção Vegetal - Setor de Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Campus de Botucatu-SP. As plantas foram conduzidas em casa de vegetação (Foto 1), utilizando-se vasos com capacidade de 5,0 kg de substrato. Os vasos foram colocados em bandejas, onde se manteve lâmina de água com aproximadamente 2 cm, considerando-se que a água ascendeu por capilaridade em sistema de sub-irrigação (Foto 2). Todos os vasos receberam quantidades iguais de substrato, constituído por solo Latossolo Vermelho Escuro distrófico textura média (Le_d), segundo classificação feita por Carvalho *et al.* (1983). Este solo foi coletado na Fazenda Experimental Lageado, na gleba denominada “Patrulha”.

A parte analítica do experimento foi conduzida no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências - UNESP, Campus de Botucatu, SP. O material coletado (folhas e inflorescências) foi processado e analisado quanto aos parâmetros bioquímicos. A análise da composição do óleo, foi realizada na Unidade de Fitoquímica do Instituto Agronômico de Campinas – IAC, fazenda experimental Santa Elisa.



Foto 1: Detalhes da instalação do experimento em casa de vegetação.



Foto 2: No manejo da irrigação a água ascendeu por capilaridade, ocupando apenas os microporos do substrato.

3.2 Material vegetal, instalação do experimento de casa-de-vegetação e manejo da cultura

As plantas foram obtidas de sementes provenientes da Itália da espécie *Ocimum basilicum* – cv. genovese, sendo que a semeadura foi feita em bandejas de isopor em Dezembro de 2002 e transplantadas em Janeiro de 2003.

De forma preliminar, foi realizada a análise da composição mineral do solo no Laboratório do Departamento de Recursos Naturais - Ciência do Solo da Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Campus de Botucatu, SP, utilizando-se metodologia descrita por Raij & Quaggio (1983). Após a análise, as características químicas do solo, segundo Raij *et al.* (1996) e Embrapa (1997) estão apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1: Análise química de um solo Latossolo Vermelho distrófico textura média (Led), proveniente da gleba Patrulha, da FCA/UNESP – Botucatu, SP.

Solo	pH	M.O.	P	Al ⁺ ³	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol dm ⁻³								
Led	4,2	14	2	12	72	0,2	4	1	5	76	6	15
					B	Cu	Fe	Mn	Zn			
					Mg dm ⁻³							
					0,18	1,1	102	0,4	0,1			

Para elevar a V% a 80, foi aplicado calcário dolomítico, conforme recomendação de Furlan (2000). Todos os nutrientes com exceção do Nitrogênio foram incorporados ao solo antes do transplântio e após a calagem, sendo que apenas o N foi parcelado, com aplicação de cobertura de 0,2 g planta⁻¹ de Uréia. Baseado nos resultados apresentados no Quadro 1 e na recomendação descrita por Furlan (2000), 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.

Foram realizadas pulverizações quinzenais com inseticida piretróide, fungicida e acaricida, para o controle fitossanitário preventivo. Durante todo o experimento não foi constatado nenhum dano causado por praga ou doença que fosse significativo para a condução do mesmo.

3.3 Delineamento experimental

Para realização das análises de inferência estatística do experimento, foi adotado um delineamento inteiramente casualizados recomendado para ensaios em casas de vegetação, onde a maioria das variáveis experimentais é controlada (BANZATTO & KRONKA, 1989; LITTLE & HILLS, 1990), no esquema fatorial 2 x 3, com 10 repetições, para estudar os efeitos do manejo de água sobre diversas características de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv genovese conforme descrito no Quadro 2. Os resultados obtidos das avaliações de campo e de laboratório foram submetidos à análise de variância pelo Teste de F, a 5% e 1% de significância, utilizando o programa estatístico SISVAR 4.6.

As médias dos tratamentos submetidos à DH foram comparadas com as médias de seus controles pelo teste de Tukey, onde foram realizadas análises de desdobramento tanto para os tratamentos como para cada época de amostragem.

Adotaram-se modelos de regressão para o estudo de uma correspondência funcional que interage os valores dos tratamentos (T1 e T2) aos dados analisados (E1, E2, e E3), os modelos de regressão adotados foram ajustados de acordo com o cálculo do coeficiente de determinação (R^2), todas as equações de ajuste matemático apresentadas nos gráficos foram obtidas através do programa SISVAR 4.6.

Para cada determinada época de amostragem (E1, E2 e E3) foram coletadas 10 plantas por tratamento (T1 e T2), as épocas de amostragens, foram determinadas de acordo com o potencial hídrico da folha, descrito no ítem 3.4.

Quadro 2: Delineamento experimental no esquema fatorial 2 x 3

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1 (época 1) 7 dias após a suspensão da irrigação	E2 (época 2) 9 dias após a suspensão da irrigação	E3 (época 3) 10 dias após a suspensão da irrigação
T1 (controle)	T1 x E1 _{controle}	T1 x E2 _{controle}	T1 x E3 _{controle}
T2 (DH)	T2 x E1 _{estresse leve}	T2 x E2 _{estresse moderado}	T2 x E3 _{estresse severo}

3.4 Condução dos tratamentos

Após o transplântio para os vasos os tratamentos foram divididos. No primeiro, denominado controle (T1), as plantas foram mantidas em sistema de sub-irrigação convencional até o final do experimento; No segundo tratamento, (T2) as plantas foram submetidas a três diferentes níveis de deficiência hídrica: leve (-0,8 MPa) , moderado (-1,4 MPa) e severo (-2,4 MPa), conforme ilustrados na Foto 3.



Foto 3: A foto a esquerda mostra o tratamento controle com a presença das bandejas (sub-irrigação), a foto a direita mostra o tratamento submetido a deficiência hídrica onde nota-se a ausência das bandejas.

As plantas atingiram 50% do florescimento em Março de 2003. Neste estágio, suspendeu-se o fornecimento de água para as plantas do tratamento T2 (submetidas à DH). As determinações do potencial de água das folhas (Ψ_{folha}) das plantas (Foto 4) foram feitas ao amanhecer, padronizando-se as medidas em folhas da parte mediana das plantas (pré-envolvidas com filme plástico). Para tanto, utilizou-se uma câmara de pressão digital da ELE International, modelo EL540-300 (*bomba de pressão de Sholander*), conforme técnica descrita por Boyer (1995). Após a supressão da irrigação, acompanhou-se a evolução da DH das plantas e quando estas atingiram o Ψ_{folha} determinado para os tratamentos, efetuou-se avaliações biométricas descritas no item 3.5.



Foto 4: Detalhes da medição do potencial de água das plantas utilizando-se a câmara de pressão.

As plantas do tratamento T2 foram submetidas a três níveis de DH sendo que o primeiro foi denominado Época 1 ou E1 potencial água considerado leve (estresse leve; $\Psi_{\text{folha}} \sim -0,8$ MPa) as plantas atingiram esse potencial 7 dias após a supressão da água. O segundo nível, Época 2 ou E2 atingiu um estresse moderado ($\Psi_{\text{folha}} \sim -1,4$ MPa) 9 dias após a interrupção da subirrigação e o terceiro denominado Época 3 ou E3 atingiu um estresse severo ($\Psi_{\text{folha}} \sim -2,4$ MPa) 10 dias após a paralisação da subirrigação. Assim que as plantas atingiram o potencial determinado para cada época de amostragem, comparou-se com o tratamento controle (T1), o qual se manteve com potencial constante, durante todo o período

do experimento ($\Psi_{\text{folha}} \sim -0,3$ a $-0,5$ MPa). As Fotos 5 e 6 demonstram alguns detalhes das diferenças dos tratamentos.

Durante as diferentes épocas de amostragem foram coletadas 10 plantas de cada tratamento T1 (controle) e T2 (DH) para a realização das análises.



Foto 5: Diferenças visuais entre os dois tratamentos, T1 (controle) e T2 (deficiência hídrica).



Foto 6: Diferenças visuais entre os tratamentos T1 e T2 na época de amostragem (E3).

Na Figura 4 observa-se que os potenciais determinados para cada época de amostragem foram alcançados.

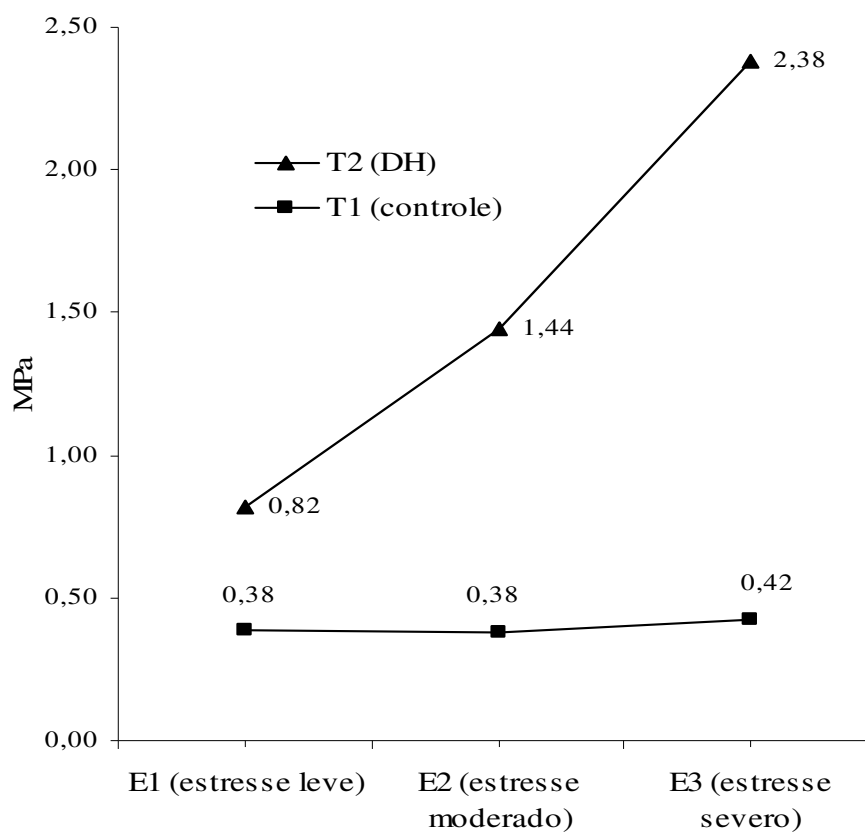


Figura 4: Valores médios de potencial de água no xilema das folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv. genovese aferidos pela câmara de pressão (MPa) nas diferentes épocas de amostragem.

3.5 Análises dos parâmetros biométricos.

Foram realizadas avaliações para determinação da área foliar, volume e massa de matéria seca de raiz, teor de clorofila e rendimento de biomassa vegetal.

3.5.1 Área foliar.

Para a determinação da área foliar ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$) foram coletadas as folhas de cada planta, perfazendo um total de 10 plantas amostradas por época de amostragem conforme atingiam o potencial água determinado (E1, E2 e E3) para cada tratamento (T1 e T2), que posteriormente foram mensuradas por um medidor de área foliar modelo LICOR LI-3000.

3.5.2 Volume e massa de matéria seca de raiz

A amostragem do sistema radicular foi obtida através da separação do solo e das raízes pela utilização de peneiras. Para o cálculo do volume de raiz, utilizou-se proveta graduada com capacidade de 2 L, contendo um volume de 1 L de etanol a 70%. Após a imersão das raízes no álcool, os valores foram expressos em mL em função do volume aferido na proveta. Em seguida, o material foi mantido em estufa a 30°C, para secagem. Quando o material atingiu peso constante, determinou-se a massa de matéria seca, expressa em g planta^{-1} .

3.5.3 Índice relativo de clorofila.

O clorofilômetro é um aparelho portátil que realiza uma medida instantânea e não destrutiva, denominada Índice Relativo de Clorofila (IRC) dando um valor de absorbância do comprimento de onda na região do vermelho (pico em 650 nm) pela folha da planta, região de alta absorbância pelas moléculas de clorofila. Várias pesquisas têm demonstrado que o IRC se correlaciona bem o teor de clorofila em várias culturas (Marquard & Tipton, 1987; Fanizza et al., 1991).

Durante o período das amostragens (E1, E2 e E3) foram feitas medidas do índice relativo de clorofila (IRC – SPAD), com um medidor automático (modelo Chlorophyll Meter SPAD-502 Minolta Co Japão) com teor do pigmento expresso em U SPAD. Para esta determinação, amostrou-se 10 plantas por tratamento, totalizando 25 leituras por planta, para o cálculo do índice relativo de clorofila. As medidas foram feitas em 5 folhas por planta com 5 repetições, elegendo-se para tanto as folhas recém maduras na região mediana das plantas.

3.5.4 Determinação da massa de matéria fresca (MMF) e seca (MMS) da parte aérea

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 inflorescência), em g planta⁻¹. Esta análise foi realizada com o objetivo de se avaliar a produtividade da biomassa vegetal total. 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.

3.6 Análises bioquímicas

3.6.1 Coleta e armazenamento do material vegetal

Para a realização das análises bioquímicas, foram coletadas 10 folhas expandidas da região mediana das plantas nas épocas pré-estabelecidas para cada amostragem (E1, E2, E3) para os dois tratamentos (T1 e T2). 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 .

3.6.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto

As amostras armazenadas foram processadas para obtenção de três diferentes extratos brutos. O primeiro foi obtido para a análise do teor de L-prolina e os demais, com algumas variações, foram obtidos especificamente para as análises de atividade enzimática. Para o primeiro extrato (L-prolina), as amostras moídas de tecido foliar (100 mg) foram ressuspensas em 5,0 mL de ácido sulfosalicílico (3 % em água destilada). Após centrifugação por 5 min a $4.000 \times g$ a 4°C , o sobrenadante foi coletado e armazenado em *Freezer* a -80°C .

Os extratos para as análises enzimáticas (SOD, CAT, PPO e POX) e para a análise da concentração de proteína, foram obtidos pela ressuspensão de 300 mg do material vegetal moído em 5,0 mL de tampão fosfato de potássio 0.1 M, pH 6.8 contendo 0,1 mM de EDTA. Após centrifugação por 10 minutos a $4.000 \times g$ a 4°C , o sobrenadante foi coletado e armazenado em *freezer* a -80°C .

Para a obtenção do extrato bruto relativo a análise da atividade da enzima APX, foram efetuadas algumas alterações. Amostras de 300 mg do material vegetal moído foram ressuspensos em 5,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8 contendo 1mM de ácido ascórbico. Após centrifugação por 20 minutos a 12.000 $\times$ g a 4°C, o sobrenadante foi coletado e armazenado em *Freezer* a - 80° C.

3.6.3 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.

3.6.4. Determinação do teor de L-prolina

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

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

A determinação da atividade da SOD considerou a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (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 ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

3.6.6 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 $\epsilon = 39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) da catalase, levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

3.6.7 Atividade da enzima Peroxidase (POX; EC 1.11.1.7)

A atividade da enzima foi determinada através da diluição (1:25) de 100 μL de extrato bruto adicionados a 4,9 mL de solução tampão fosfato de potássio 25mM, pH 6,8 contendo 20 mM de Pyrogallol e 20 mM H_2O_2 . Após 1 minuto a reação foi paralisada adicionando 0,5 mL de H_2SO_4 , a leitura da absorbância foi feita a um comprimento de onda de 420 nm, (Kar, 1976). A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) da enzima foi calculada usando-se um coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (PEIXOTO *et al.* 1999).

3.6.8 Atividade da enzima Polifenol Oxidase (PPO; EC 1.10.3.2, EC 1.10.3.1 e EC 1.14.18.1)

A atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) foi determinada utilizando metodologia similar à empregada para a enzima POX (item 3.6.6), excetuando-se deste método apenas a utilização do H_2O_2 (Peróxido de Hidrogênio).

3.6.9 Atividade da enzima Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)

Para a análise da atividade da enzima APX, inicialmente preparou-se uma solução contendo uma alíquota de 100 μL de extrato bruto com 2,9 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 6,0 (volume final de 3,0 mL). A esta solução acrescentou-se ascorbato e peróxido de hidrogênio, em concentração final de 0.8 e 1 mM, respectivamente. A determinação da variação negativa da absorção, foi efetuada a 290 nm, sendo que a atividade específica da enzima ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) foi calculada a partir de um coeficiente de extinção molar de $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (KOSHIBA, 1993).

3.7 Análise da composição química do óleo essencial

Foram realizados procedimentos para extração, hidrodestilação e a composição química do óleo essencial em folhas e na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv. genovese.

3.7.1 Coleta e armazenamento do material vegetal

Para a realização das análises da composição química dos óleos essenciais, 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 de 1,0 g de folhas e da inflorescência, para a realização das avaliações quantitativas (rendimento) e qualitativas (composição química) dos óleos essenciais.

3.7.2 Rendimento do óleo essencial em folhas e na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv genovese

A análise quantitativa do óleo essencial foi realizada no laboratório do Departamento de Química e Bioquímica no Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu.

O aparelho utilizado para a hidrodestilação foi um modelo Clevenger modificado. As amostras (1g) foram colocadas em balões (50 mL) contendo 30 mL de água destilada. Após a hidrodestilação em, o destilado (água + óleo essencial) obtido foi transferido para um balão (50 mL) contendo 30 mL de diclorometano. A solução foi filtrada na presença de sulfato de sódio. O filtrado contendo diclorometano e o óleo essencial, foi transferido para

rotaevaporador, para a destilação do diclorometano. A determinação quantitativa (rendimento do óleo essencial) foi feita através da diferença do peso dos balões previamente tarados, em balança analítica.

Acrescentou-se aos balões acetato de etila, (aproximadamente 3,0 mL) e a solução (óleo essencial + acetato de etila) foi armazenada em vidros âmbar hermeticamente fechados e mantidos em geladeira a 4°C.

3.7.3 Determinação qualitativa do óleo essencial de folhas e inflorescência de *Ocimum basilicum* L. cv genovese

A análise qualitativa do óleo essencial foi realizada em cooperação com a Unidade de Fitoquímica no Instituto Agronômico de Campinas – IAC, Fazenda Experimental Santa Elisa, em Campinas, SP.

As análises para identificação dos constituintes voláteis do óleo essencial foram realizadas em cromatógrafo à gás, acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu, QP-5000) operando por impacto de elétrons (70 eV), com coluna capilar DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm). Injetou-se 1 µl de solução dos óleos essenciais por amostra, split 1:20, hélio como gás de arraste (1,0 ml . m⁻¹), injetor à 240°C e detector à 230°C. As análises foram conduzidas no seguinte programa de temperatura: 60°C – 240°C, 3°C min⁻¹. A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com as do banco de dados do sistema CG-EM (biblioteca Nist 62 lib.), e literatura (McLafferty, 1989) e índice de retenção de Kovats (ADAMS, 1995).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise dos parâmetros biométricos

4.1.1 Área Foliar

A área foliar (cm²) foi determinada ao final de cada período de amostragem, e os resultados foram submetidos à análise de variância apresentados na Tabela 1. Para os tratamentos estudados nas condições do experimento, houve diferenças significativas analisadas através do teste de F em nível de 1% de significância para a média geral entre os tratamentos, e para interação entre época e tratamento. O resultado para a média geral nas épocas de amostragem não apresentou diferenças significativas.

Tabela 1: Análise de variância para a área foliar das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	8932782,48	0,00001*
Época	2	162756,05	0,37863
Interação (tratamento x época)	2	2094928,76	0,00001*
Resíduo	54	164538,27	
Total	59		
CV (%)	20,57		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

A análise de desdobramento da interação entre tratamento e época (Tabela 3). Os resultados obtidos foram significativos nos tratamentos (T1 e T2) interagindo nas épocas E2 e E3 e para as épocas (E1, E2 e E3) interagindo apenas no tratamento T1. A interação entre a época e o tratamento T2 os resultados foram significativos em nível de 5%.

Tabela 2: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) foliar das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	9099,37	0,81050
(Tratamento x E2)	1	4935409,95	0,00001*
(Tratamento x E3)	1	8178130,67	0,00001*
Resíduo	54	164538,2756	
(Época x T1)	2	1565175,20	0,00031*
(Época x T2)	2	692509,61	0,01952**
Resíduo	54	164538,27	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 3: Valores médios da área foliar ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$) das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	1868,89 Ab	2524,70 Aa	2580,18 Aa
T2 (DH)	1826,23 Aa	1531,18 Ba	1301,26 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Na tabela 3 os resultados dentro do tratamento T1 apresentaram diferenças estatísticas entre as épocas de amostragem, o mesmo não ocorreu no tratamento T2. As diferenças entre os tratamentos (T1 e T2) ocorreram apenas nas épocas E2 e E3.

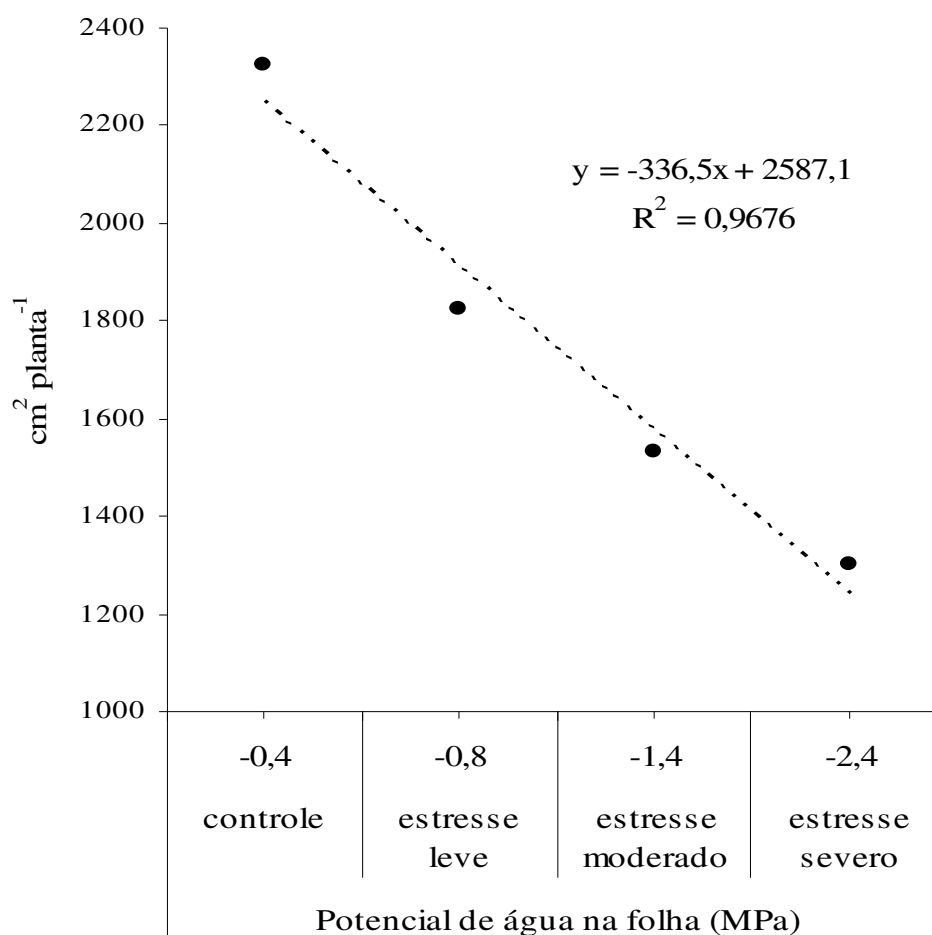


Figura 5: Valores médios da área foliar em cm² de folhas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Observa-se na Figura 5 que houve uma redução da área foliar em função do aumento da deficiência hídrica, significativa a partir do momento em que as plantas atingiram estresse considerado moderado (-1,4 MPa).

Estes resultados concordam com outros autores que também estudaram DH no cultivo de outras espécies medicinais, como Correa Júnior *et al.* (1994), Kuki, (1997), Charttejee, (1999), Silva *et al.* (2002), Correa & Nogueira, 2004 e Carvalho *et al.*, (2005).

A DH causa importante efeito na redução do crescimento vegetativo afetando principalmente a expansão e a divisão celular. A expansão celular é controlada pela variação do potencial hídrico que através da pressão de turgescência proporciona a força motriz para expansão celular das células no crescimento. Durante uma condição de DH leve, a síntese de materiais na parede celular sofre apenas um pequeno retardo. A duração prolongada da DH pode afetar principalmente a divisão celular, causando danos importantes no desenvolvimento vegetativo (BOYER, 1995)

A área foliar total não permanece constante depois da maturação das folhas (TAIZ & ZEIGER, 2004). Segundo estes autores, se as plantas sofrerem estresse por carência hídrica após um grande desenvolvimento foliar, então estas entram em senescência e finalmente morrem. Este ajustamento da área foliar é uma mudança de longo termo, que melhora muito a aptidão das plantas em ambiente com limitação hídrica, sendo que a abscisão durante o estresse hídrico resulta largamente do aumento da síntese e da sensibilidade dos tecidos ao hormônio etileno.

A redução da área foliar em plantas sob estresse pode se traduzir em estratégia de sobrevivência, com o intuito de diminuir a área disponível à transpiração. (CORREA & NOGUEIRA, 2004).

4.1.2 Volume e massa de matéria seca de raiz.

Conforme análises de variâncias apresentadas nas Tabelas 4 e 5, observar-se diferenças significativas em nível de 1% quando analisadas pelo teste F, para as médias gerais dos tratamentos (T1 e T2), e suas interações com as épocas de amostragem. Para as demais variáveis analisadas não houveram diferenças significativas para as médias gerais.

Tabela 4: Análise de variância para o volume de raiz das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	118815,00	0,00001*
Época	2	428,75	0,75211
Interação (tratamento x época)	2	9863,75	0,00275*
Resíduo	54	1496,75	
Total	59		
CV (%)	32,93		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 5: Análise de variância para a massa de matéria seca de raiz das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	1488,62	0,00003*
Época	2	101,98	0,20332
Interação (tratamento x época)	2	50,05	0,45225
Resíduo	54	62,50	
Total	59		
CV (%)	30,98		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente

Na Tabela 6 verifica-se que apenas para o desdobramento entre (ExT1) não apresentou diferenças significativas, para as demais interações os resultados foram significativos.

Na Tabela 7 observa-se que para o desdobramento dos tratamentos (T1 e T2) houve diferenças a 1% de significância pelo teste F nas épocas E2 e E3. Para os demais resultados não houve diferenças significativas.

Tabela 6: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o volume de raiz das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	7411,25	0,03031**
(Tratamento x E2)	1	56711,25	0,00001*
(Tratamento x E3)	1	74420,00	0,00001*
Resíduo	54	1496,75	
(Época x T1)	2	3182,50	0,12662
(Época x T2)	2	7110,00	0,01220**
Resíduo	54	1496,75	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 7: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para massa de matéria seca de raiz das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	219,51	0,06564
(Tratamento x E2)	1	834,63	0,00063*
(Tratamento x E3)	1	534,57	0,00491*
Resíduo	54	62,15	
(Época x T1)	2	59,59	0,38580
(Época x T2)	2	92,44	0,23150
Resíduo	54	62,15	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Nas Tabelas 8 e 9 estão descritos as análises de desdobramento pelo teste de Tukey para as variáveis estudadas. A Tabela 9 demonstra que dentro do tratamento T1

(controle) não houve diferenças estatísticas. Para o T2 (DH) houve diferenças significativas entre as épocas de amostragem. Já as diferenças entre os tratamentos (T1 e T2) ocorreram em todas as épocas de amostragem.

Tabela 8: Valores médios do volume de raiz (ml) das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	141,5 Aa	170,5 Aa	174,0 Aa
T2 (DH)	103,0 Ba	64,0 Bab	52,0 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Na Tabela 9 observa-se que não houve diferenças estatísticas para os tratamentos (T1 e T2) em função das épocas de amostragem. Com relação as épocas de amostragem, houve diferenças entre os tratamentos nas épocas E2 e E3

Tabela 9: Valores médios da massa de matéria seca de raiz (g planta⁻¹) das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	30,34 Aa	32,91 Aa	28,03 Aa
T2 (DH)	23,72 Aa	19,99 Ba	17,69 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

A relação raiz-parte aérea depende de uma complexa rede de processos nutricionais e do desenvolvimento (TAIZ & ZEIGER, 2004). Estes autores ainda argumentam que pode-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 o fator limitante de crescimento. Simultaneamente quando as plantas são submetidas em DH os ápices radiculares começam a perder turgidez. Portanto o crescimento radicular se processa essencialmente em zonas que permaneçam úmidas. Assim, é freqüente encontrar-se um sistema radicular essencialmente superficial quando todas as camadas estão úmidas, e quando as camadas superficiais começam a secar ocorre um crescimento radicular para áreas mais profundas do solo (TAIZ & ZEIGER, 2004).

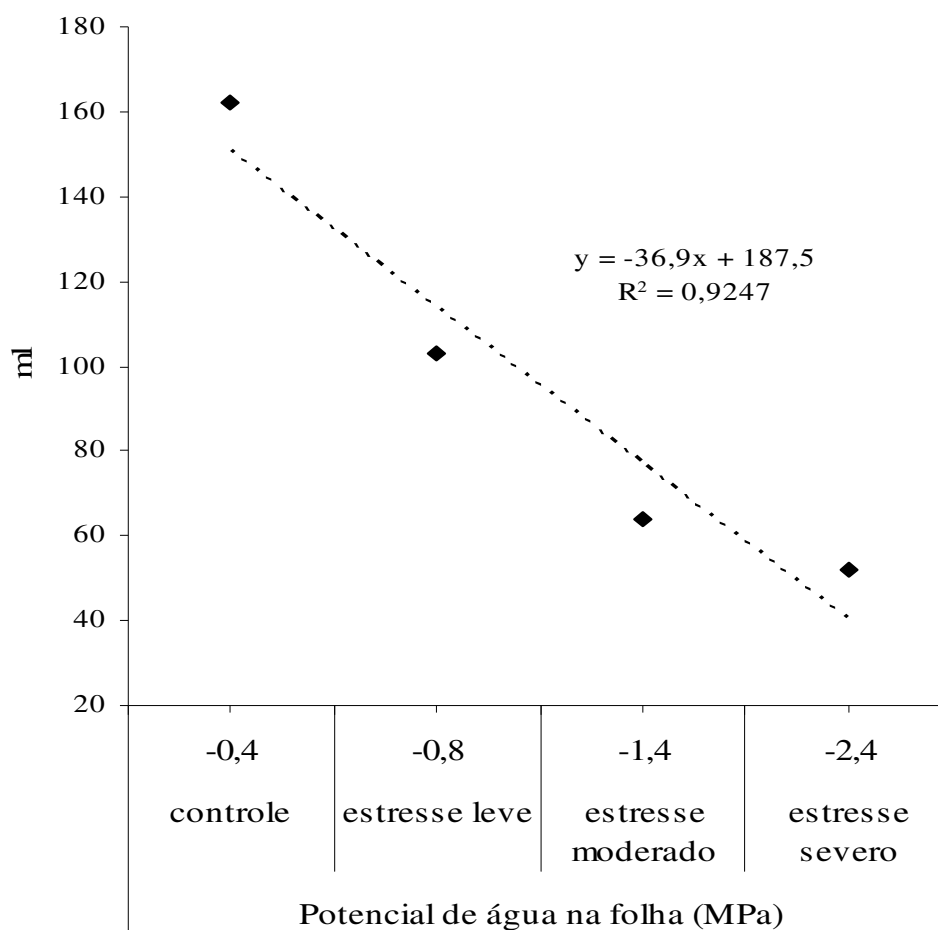


Figura 6: Valores médio para o volume de raiz (ml) de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

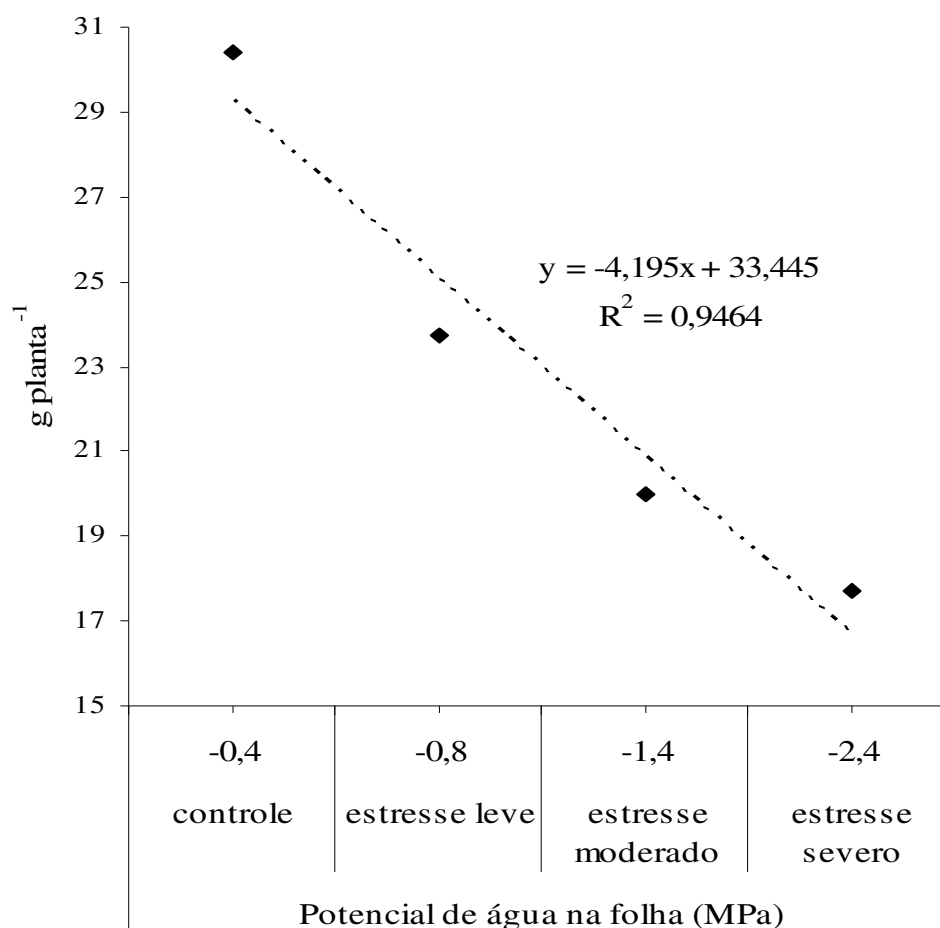


Figura 7: Valores médios para a massa de matéria seca de raiz (g planta⁻¹) de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Conforme dados apresentados nas Figuras 6 e 7 observou-se que tanto para o volume de raiz como para a massa de matéria seca de raiz, existe relação significativa inversa e crescente entre a área radicular e a DH. Resultados semelhantes foram encontrados por Hsiao, (1990). O autor relata que em gramíneas, além da inibição do crescimento, a DH pode alterar o desenvolvimento e a morfologia vegetal. Ao contrário, Correia & Nogueira (2004) relatam que em *Arachis hypogaea* L. submetidas à DH leve, esse tipo de resposta poderá estar associado a um mecanismo de tolerância ao estresse hídrico, considerando-se que em condições de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas investem mais biomassa no sistema radicular, objetivando aumentar a capacidade de absorção de nutrientes. Costa (2001)

explica que com a DH, ocorre decréscimo na área radicular, causado pela perda de água pelas células radiculares, as quais tendem a perder a turgidez. Quando as raízes se desidratam, a sua superfície de contato com o solo diminui, influenciando na absorção da água. Além disso, com a retração da raiz provocada pela DH, pode ocorrer a quebra dos pêlos radiculares fixados ao solo.

4.1.3 Índice relativo de clorofila.

Baseado nos resultados da análise de variância apresentados na Tabela 10 verifica-se que o índice relativo de clorofila (IRC - unidades SPAD) foi significativo pelo teste F a 1 e 5% para todas as médias analisadas.

Tabela 10: Análise de variância para o índice relativo de clorofila das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	57,62	0,00682*
Época	2	151,72	0,00001*
Interação (tratamento x época)	2	34,85	0,01222**
Resíduo	54	7,27	
Total	59		
CV (%)	8,61		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 11: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o índice relativo de clorofila das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	3,87	0,46901
(Tratamento x E2)	1	29,28	0,04990**
(Tratamento x E3)	1	94,17	0,00070*
Resíduo	54	7,27	
(Época x T1)	2	23,17	0,04800**
(Época x T2)	2	163,40	0,00001*
Resíduo	54	7,27	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 12: Valores médios para o índice relativo de clorofila (IRC - unidades SPAD) das plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	34,06 Aa	31,25 Aa	31,64 Aa
T2 (DH)	34,94 Aa	28,83 Bb	27,30 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

A Tabela 12 demonstra que na época (E1) para a análise de desdobramento entre os tratamentos T1 (controle) e T2 (DH), e dentro do desdobramento do tratamento T1 os resultados não apresentaram diferenças estatísticas. Para todas as outras análises de desdobramentos das médias, houve diferença estatística.

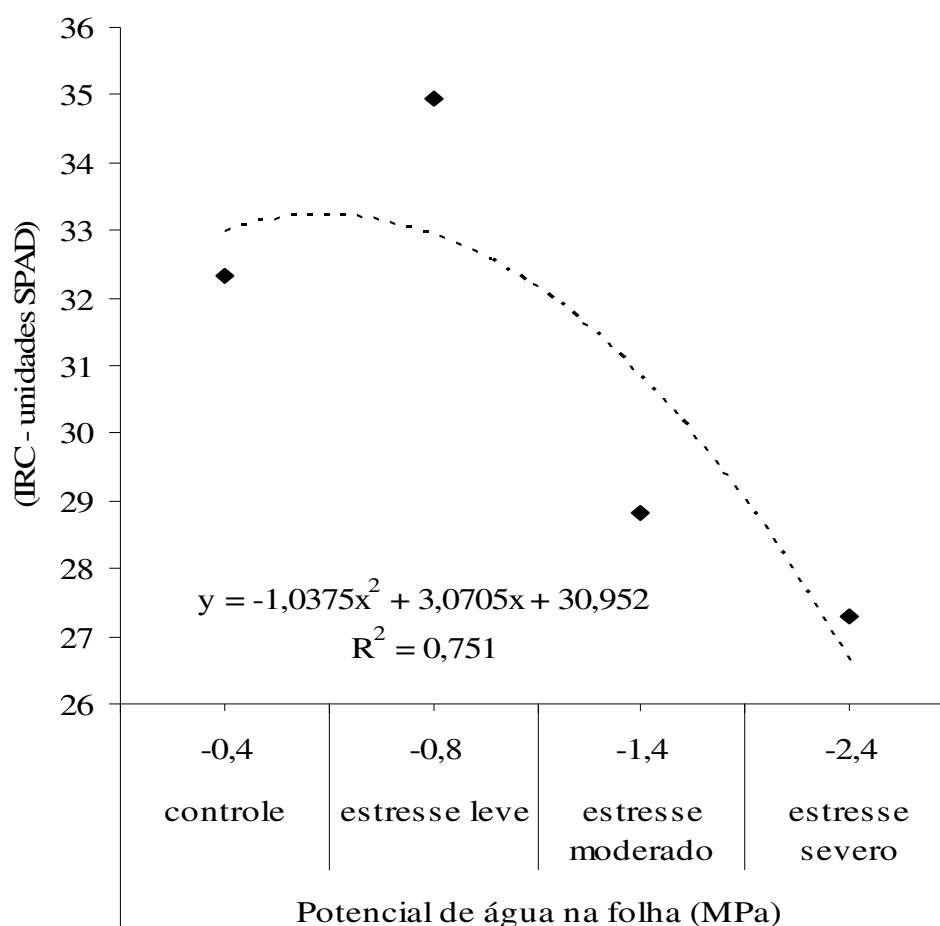


Figura 8: Valores médios para o índice relativo de clorofila (IRC - unidades SPAD) de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH

Observou-se que o índice relativo de clorofila (Figura 8) não foi influenciado quando a planta foi submetida a estresse leve. Este resultado corrobora a informação corrente na literatura e assemelha-se o encontrado por Herms & Mattson, 1992; Kramer & Boyer, 1995; Larcher, 1995. Estes autores relatam que os processos de crescimento parecem não ser muito rapidamente afetados pela DH. Estresse progressivo em nível moderado ou severo afeta e paralisa a capacidade fotossintética. Isto trás por consequência a interrupção do suprimento de CO₂ com prejuízo no acúmulo de matéria seca, vital para o desenvolvimento vegetativo.

A taxa de fotossíntese líquida nas folhas é raramente sensível a estresse leve, assim como a expansão foliar. A razão para isto é que a fotossíntese é muito menos sensível a alterações de turgidez do que a expansão foliar. (COSTA, 2001).

No estabelecimento da DH a eficiência fotossintética do uso da água pode aumentar, porque o fechamento parcial dos estômatos afeta mais a transpiração, do que a absorção do CO₂. No entanto, à medida que o estresse se torna mais severo a relação entre CO₂ absorvido na fotossíntese e vapor de água perdido na transpiração vai diminuindo, e por consequência a inibição do metabolismo da folha vai se acentuando (TAIZ & ZEIGER, 2004).

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

Ejert & Tevini (2002) não verificaram alteração significativa nos teores de clorofila, proteínas e compostos antioxidantes quando plantas de *Allium schoenoprosom* foram submetidas à DH, o que segundo eles indica ausência de estresse oxidativo. Apesar da destruição de pigmentos fotossintéticos devido a dano oxidativo ser sintoma comum em plantas expostas a estresse hídrico severo, as plantas podem, segundo estes autores proteger-se através da biossíntese de compostos antioxidantes (carotenóides, ascorbato, α -tocoferol, glutatona e flavonóides) e aumentando o teor de enzimas antioxidativas (peroxidases, superóxido dismutase e catalases).

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

4.1.4 Produção da massa de matéria fresca e seca da parte aérea.

Através das análises apresentadas nas Tabelas 13 e 14 verifica-se que os resultados foram iguais, sendo que os resultados foram significativos somente para as médias gerais nas diferentes épocas de amostragem.

Tabela 13: Análise de variância para a massa de matéria seca total da parte aérea de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	100,00	0,00760*
Época	2	5,71	0,64676
Interação (tratamento x época)	2	52,55	0,02322**
Resíduo	54	13,01	
Total	59		
CV (%)	9,20		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 14: Análise de variância para a massa de matéria fresca total da parte aérea de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	26282,22	0,00002*
Época	2	500,56	0,18178
Interação (tratamento x época)	2	7312,57	0,00004*
Resíduo	54	284,37	
Total	59		
CV (%)	12,85		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Os valores indicados na Tabela 15 para a análise de desdobramento dos tratamentos pelo teste F (T1 e T2), demonstram que houve diferenças significativas. Para as épocas de amostragem E2 e E3 e para os demais resultados não houve diferenças significativas.

Tabela 15: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a massa de matéria seca total da parte aérea de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	3,90	0,58607
(Tratamento x E2)	1	47,74	0,06070**
(Tratamento x E3)	1	153,45	0,00114*
Resíduo	54	13,01	
(Época x T1)	2	27,96	0,12391
(Época x T2)	2	30,30	0,10496
Resíduo	54	13,01	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 16: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a massa de matéria fresca total da parte aérea de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	5,43	0,8906
(Tratamento x E2)	1	11363,09	0,00003*
(Tratamento x E3)	1	29538,83	0,00003*
Resíduo	54	284,37	
(Época x T1)	2	4150,46	0,00002*
(Época x T2)	2	3662,66	0,00002*
Resíduo	54	284,37	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Na Tabela 16 verifica-se que nos tratamentos (T1 e T2) houve diferenças significativas pelo teste F nas épocas de amostragem E2 e E3. Para a análise de desdobramento dentro das épocas de amostragem (E1, E2 e E3) encontrou-se diferenças significativas nos diferentes tratamentos (T1 e T2)

Tabela 17: Valores médios para a massa de matéria seca total da parte aérea (g planta^{-1}) da parte aérea de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	38,58 Aa	41,37 Aa	41,58 Aa
T2 (DH)	39,47 Aa	38,28 Aa	36,04 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Tabela 17 de acordo com as médias encontradas nos diferentes tratamentos e épocas de amostragem, verifica-se que apenas para análise de desdobramento na época de amostragem E3, ocorreu diferença estatística entre os tratamentos T1 e T2.

Tabela 18: Valores médios para a massa de matéria fresca total da parte aérea (g planta^{-1}) da parte aérea de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	128,93 Ab	160,89 Aa	166,80 Aa
T2 (DH)	127,89 Aa	113,22 Ba	89,94 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Analisando os dados da Tabela 19 encontrou-se diferença significativa entre os tratamentos (T1 e T2) somente entre as das épocas de amostragens (E2 e E3). Para análise dentro de cada tratamento (T1 e T2) verificou-se diferenças significativas em ambos os tratamentos, sendo que no tratamento T1 a diferença ocorreu na época E1 e no tratamento T2 esta ocorrência foi na época E3.

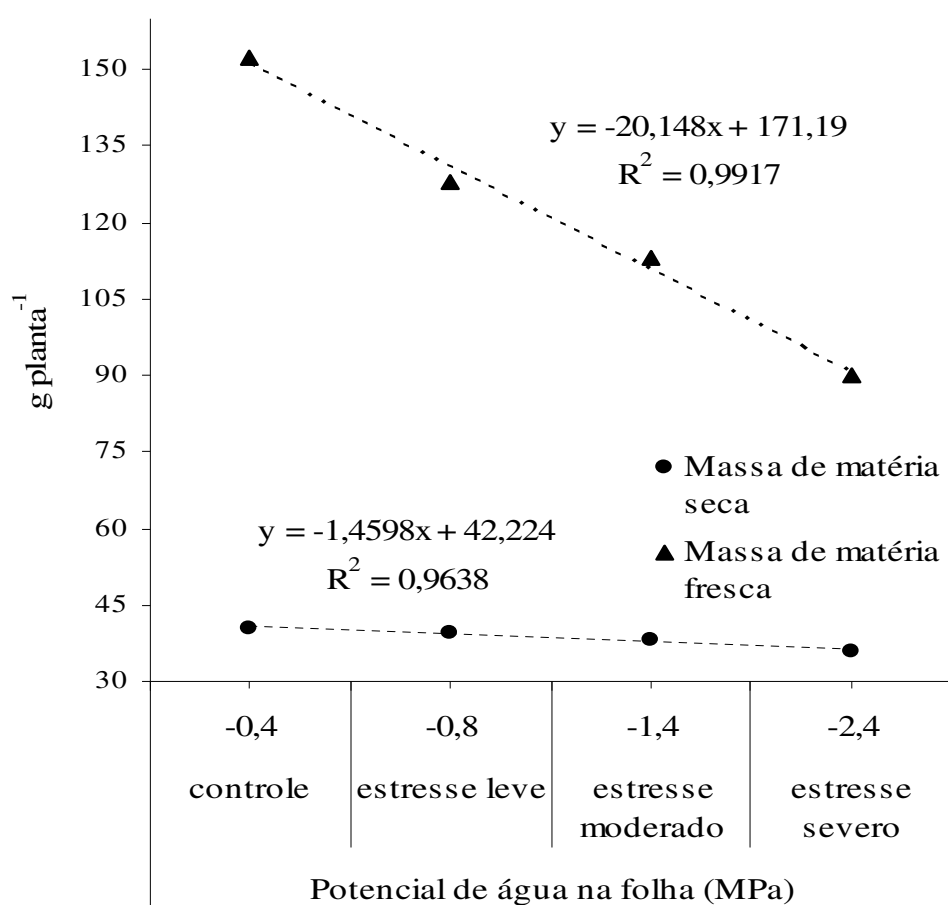


Figura 9: Valores médios para massa de matéria seca e fresca total (g planta⁻¹) da parte aérea (folhas + caule + inflorescência) de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH

A Figura 9 demonstra que o rendimento de MMS diminuiu significativamente para o tratamento de DH severo (Tabela 19), enquanto que a MMF foi influenciada significativamente com os tratamentos moderado e severo (Tabela 20). De modo geral, ocorre este efeito de diminuição destes parâmetros sendo que os resultados encontrados concordam com vários autores em diferentes plantas medicinais (HSIAO, 1990; HERMS & MATTSON, 1992; ALCÂNTARA e NOGUEIRA, 1992 CORRÊA JÚNIOR *et al.*1994; KRAMER & BOYER, 1995; LARCHER, 1995; CHARTTEJEE, 1999; SILVA *et al.*(2002). A perda de água pode reduzir o potencial hídrico das plantas, causando diminuição na turgescência, condutância estomática, fotossíntese e, finalmente, menor crescimento e produtividade (KUMAR & SINGH, 1998). Carvalho *et al* (2005) trabalhando com *tanacetum parthenium* em diferentes níveis de DH, constataram redução no crescimento das plantas. Provavelmente, conforme os autores, essa redução ocorre em função da inibição ou interrupção do crescimento de raízes como resultado da diminuição no suprimento de nutrientes às plantas.

Os valores encontrados para nas plantas do tratamento controle (T1) em *Ocimum*, situam-se próximos aos encontrados na literatura para a MMS e MMF da parte aérea (FURLAN, 2000; CHAVES, 2001).

Na planta, tanto o crescimento quanto o desenvolvimento e a translocação de fotoassimilados encontram-se ligados à disponibilidade hídrica do solo (FANCELLI & DOURADO-NETO, 2000). No processo de fotossíntese, a falta d'água influencia no acúmulo de matéria seca, limitando a disponibilidade de CO₂ e os processos de alongação celular (EMBRAPA, 1993).

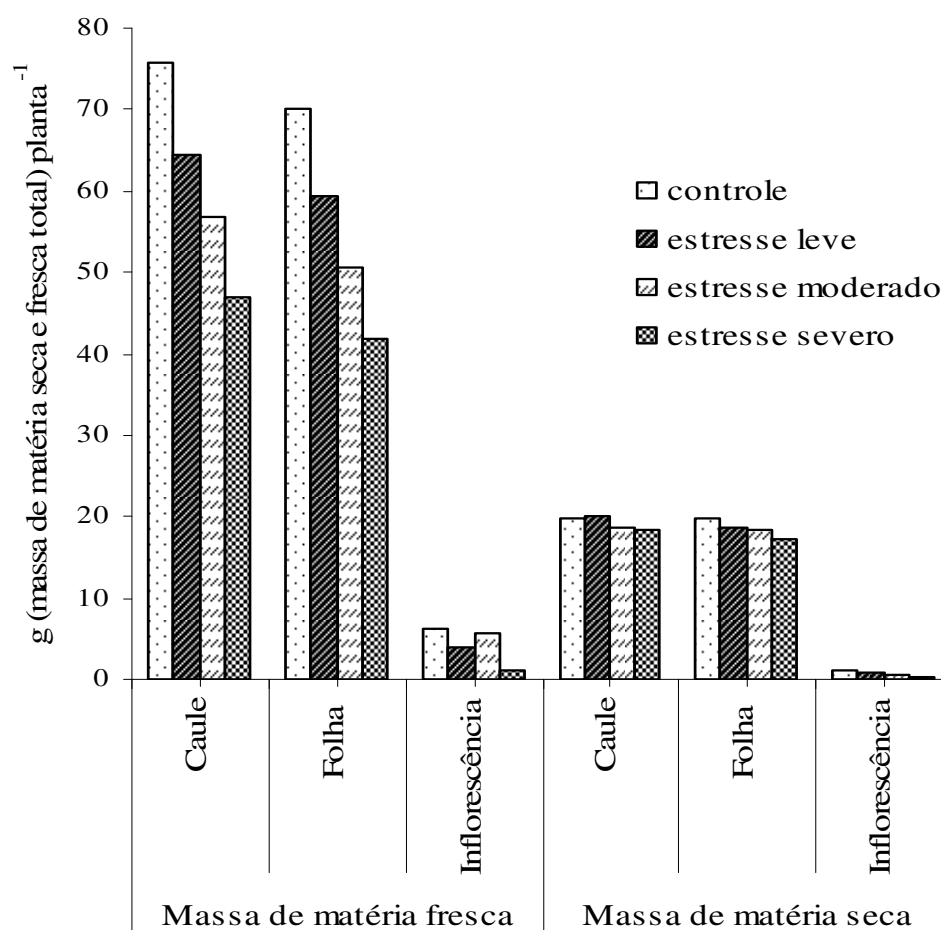


Figura 10: Valores médios para massa de matéria seca e fresca de cada órgão (g planta⁻¹) da parte aérea (folhas + caule + inflorescência) de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH

A Figura 10 discrimina os valores totais apresentados na Figura 9, subdivididos por órgão analisado. A figura indica que houve maior índice de variação entre os diferentes tratamentos na variável MMF. O que não ocorreu para a MMS.

Observou-se ainda que, durante a condução dos experimentos, ocorreu queda acentuada de inflorescências nas plantas do tratamento com DH moderado a severo (Figura 10).

Segundo Kudrev (1994), a DH interrompe o processo de crescimento, não apenas pela diminuição do acúmulo de massa fresca e seca, mas também alterando o processo de crescimento e acelerando os processos catabólicos.

4.2 Análises bioquímicas

4.2.1 Determinação do teor de proteína solúvel total

Conforme resumido na Tabela 19, observou-se que a variação do teor de proteína solúvel total em folhas foi significativo pelo teste F em nível de 1% para as médias gerais dos tratamentos (T1 e T2).

Tabela 19: Análise de variância da concentração de proteína em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	17,92	0,00009*
Época	2	0,78	0,18881
Interação (tratamento x época)	2	1,47	0,05322
Resíduo	18	0,42	
Total	23		
CV (%)	11,29		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Na Tabela 20 a análise de desdobramento dentro das épocas de amostragens indica que todos os resultados foram significativos, ou seja, em cada época avaliada os tratamentos T1 e T2 diferiram entre si estatisticamente. Para a análise de desdobramento dentro dos tratamentos, somente houve diferenças estatísticas entre as épocas de amostragens dentro do tratamento T2 (DH).

Tabela 20: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a concentração de proteína em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	2,70	0,02155**
(Tratamento x E2)	1	3,40	0,01122**
(Tratamento x E3)	1	14,76	0,00004*
Resíduo	18	0,42	
(Época x T1)	2	0,05	0,87961
(Época x T2)	2	2,20	0,01612**
Resíduo	18	0,42	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 21: Valores médios da concentração de proteína ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	6,57 Aa	6,58 Aa	6,78 Aa
T2 (DH)	5,41 Ba	5,27 Ba	4,06 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

O teste de Tukey apresentado na Tabela 21 demonstra que na análise de desdobramento para as médias nas épocas de amostragem (E1, E2 e E3), houve diferenças entre os tratamentos T1 (controle) e T2 (DH). Na análise de desdobramento dentro de cada tratamento, somente na época E3 a média diferiu no bloco T2 (DH).

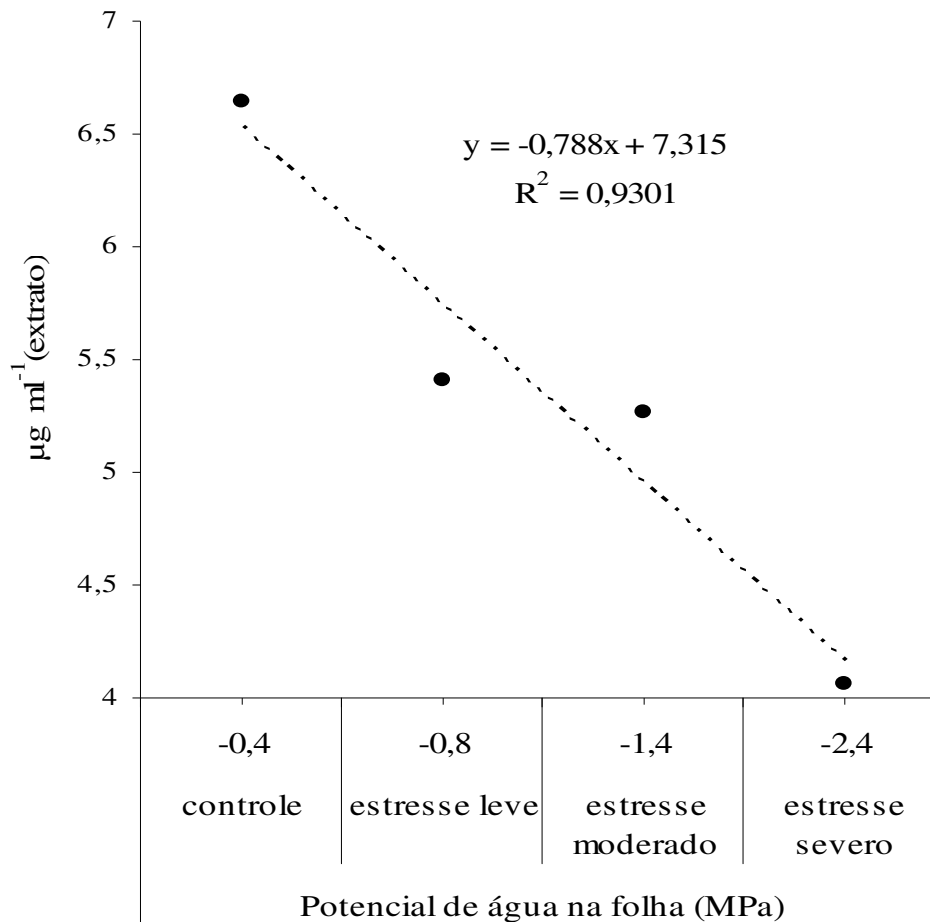


Figura 11: Valores médios para a concentração de proteína total solúvel ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH

A análise do teor de proteínas solúveis nas folhas é um parâmetro de referência para os resultados do teor de L-prolina e utilizado para o cálculo 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 11 observou-se que com o aumento da DH houve uma redução drástica (62%) na concentração de proteínas.

Pessarakli (1989) e Hsiao (1990) relatam que quando as plantas estão submetidas a DH, ocorrem alterações no metabolismo e na estrutura celular, notadamente na diminuição da síntese de proteínas com aumento da concentração de aminoácidos livres especialmente a L-prolina.

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.

4.2.2 Determinação do teor de L-prolina.

A Tabela 22 demonstra que todos os tratamentos aplicados avaliados foram significativos pelo teste F em nível de 1% de significância.

Tabela 22: Análise de variância do teor de L-prolina em folhas em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	106,21	0,00005*
Época	2	32,95	0,00011*
Interação (tratamento x época)	2	32,80	0,00011*
Resíduo	18	1,92	
Total	23		
CV (%)	51,02		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Na Tabela 23 esta apresentado o resumo da análise do desdobramento da interação entre os tratamentos e as épocas de amostragem. Todos os resultados avaliados

foram significativos pelo teste F, exceto para a análise do desdobramento dentro da época de amostragem E1, onde não houve diferenças significativas entre os tratamentos T1 e T2.

Tabela 23: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o teor de L-prolina em folhas em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	0,28	0,70650
(Tratamento x E2)	1	28,91	0,00111*
(Tratamento x E3)	1	142,63	0,00004*
Resíduo	18	1,92	
(Época x T1)	2	0,01	0,99910
(Época x T2)	2	65,76	0,00004*
Resíduo	18	1,92	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 24: Valores médios do teor de L-prolina ($\mu\text{g ml}^{-1}_{(\text{extrato})}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	0,60 Aa	0,64 Aa	0,61 Aa
T2 (DH)	0,97 Aa	4,44 Bb	9,05 Bc

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

A Tabela 24 revela que para análise de desdobramento em cada tratamento, somente no tratamento T2 (DH) as épocas de amostragens diferiram estatisticamente. E todas as épocas (E1, E2 e E3) diferiram os seus resultados médios entre si,

demonstrando que o aumento do teor de L-prolina é muito influenciado por situações de deficiência hídrica. Com relação ao desdobramento em cada época de amostragem, somente nas épocas (E2 e E3) os tratamentos T1 e T2 diferiram entre si.

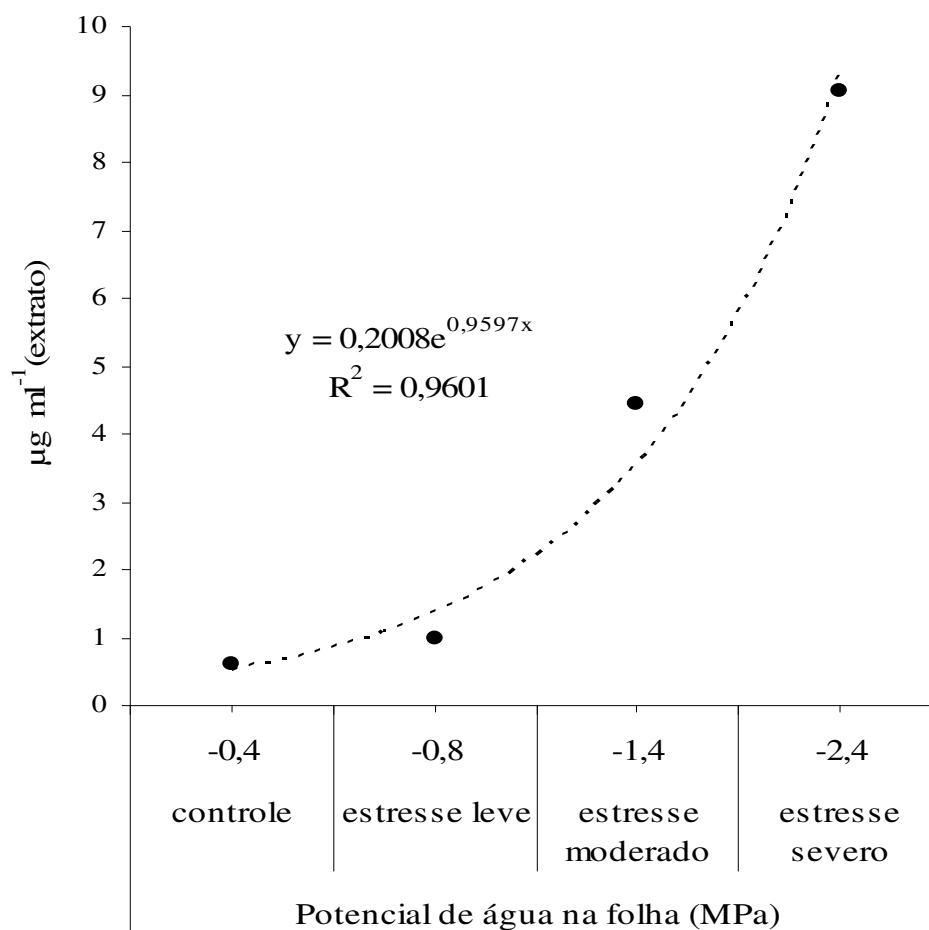


Figura 12: Valores médios para a concentração de L-prolina ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) em folhas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

A Figura 12 demonstra que houve acúmulo de L-prolina, a partir do momento em que a planta foi submetida a uma DH moderada (E2).

O acúmulo de prolina está diretamente ligado a manutenção do potencial hídrico interno das células das plantas, a fim de manter o gradiente de potencial necessário para a absorção de água. Vários autores argumentam que o acúmulo deste aminoácido ocorre em função do aumento da hidrólise de proteínas em situações de estresse, o

que foi confirmado no presente experimento (Figura 11) e reportado na literatura (HUBER *et al.* 1977; TORELLO & RICE, 1986; THOMAS *et al.*, 1992, LEONARDO, 2003 e TONIN, 2005, CARVALHO *et al.*, 2005).

Acredita-se que aminoácidos livres, como a prolina, ajam como protetores celulares em plantas submetidas a estresses, por atuarem como reserva de nitrogênio, osmo-soluto e protetor hidrofóbico de enzimas e estruturas celulares (MADAN *et al.*, 1995; SOMAL & YAPA, 1998). Marur *et al.* (1994), sugeriram que o aumento no teor de aminoácidos livres poderia contribuir na tolerância da planta à DH por meio de aumento no potencial osmótico. As plantas diminuem o seu potencial osmótico pelo 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 L-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. Segundo Madan *et al.* (1995), o maior teor de prolina pode ser devido, também, à maior atividade das enzimas envolvidas na biossíntese de prolina (ornitina aminotransferase e pirrolina-5-carboxilase redutase) tanto quanto devido à inibição da enzima de degradação, a prolina oxidase.

4.2.3 Determinação da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1).

A análise para a atividade da enzima SOD apresentados na Tabela 26, demonstra que tanto para as médias gerais dos tratamentos (T1 e T2), e para todas as épocas de amostragens (E1, E2 e E3) os resultados foram significativos em nível de 1% de significância.

A Tabela 25 indica que para a análise realizada dentro de cada época de amostragem, os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente em todas as épocas amostradas. A análise de desdobramento dentro de cada tratamento indica que apenas no tratamento T2 as épocas de amostragem apresentaram diferenças, enquanto que para o tratamento T1, as épocas de amostragem não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 25: Análise de variância da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	19676,82	0,00004*
Época	2	2874,59	0,00111*
Interação (tratamento x época)	2	3180,18	0,00077*
Resíduo	18	281,07	
Total	23		
CV (%)	12,94		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 26: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	1969,72	0,01644*
(Tratamento x E2)	1	2772,14	0,00577*
(Tratamento x E3)	1	21295,32	0,00002*
Resíduo	18	281,07	
(Época x T1)	2	12,70	0,95700
(Época x T2)	2	6042,07	0,00004*
Resíduo	18	281,07	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Na Tabela 27 observou-se que dentro do tratamento T1 não houve diferenças estatísticas entre as épocas de amostragem. No tratamento T2 as diferenças ocorreram somente na época E3. As diferenças estatísticas dentro de cada época de amostragem ocorreram em todos os períodos (E1, E2 e E3).

Tabela 27: Valores médios da atividade da enzima superóxido dismutase (U SOD $\mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *O. basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	100,24 Aa	102,98 Aa	99,63 Aa
T2 (DH)	131,62 Ba	140,21 Ba	202,82 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

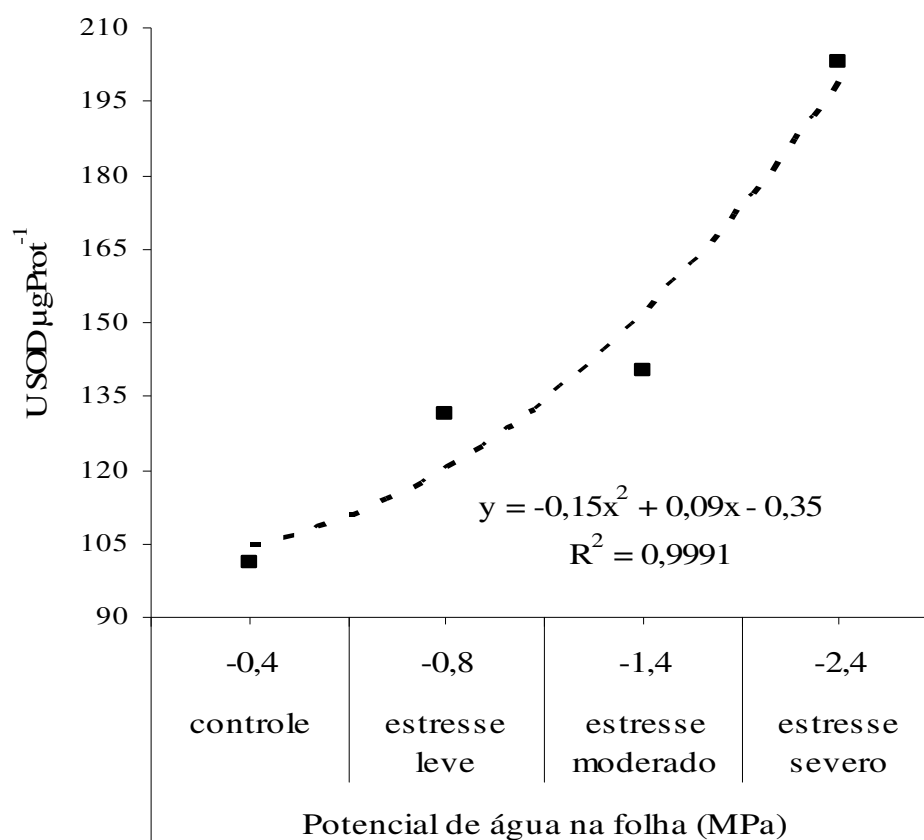


Figura 13: Valores médios para a atividade da enzima SOD (U SOD $\mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Observou-se (Figura 13) que a atividade da SOD aumentou em relação ao aumento da severidade da DH. Segundo Miszalski *et al.* (1998) e Broetto *et al.* (2002), a SOD apresenta um aumento de atividade quando as plantas são submetidas a uma condição ambiental estressante, seja hídrica, térmica, salina, alta intensidade luminosa, injúrias por insetos ou fitopatógenos.

Outros autores trabalhando com diferentes estresses ambientais relatam resultados semelhantes (LIANG, 1999; LEONARDO, 2003; ZHUJUM *et al.* 2004 e TONIN, 2005 e ROSA *et al.* 2005). Os autores argumentam que a atividade da SOD pode ser interpretada como marcador bioquímico para reações das plantas em situações de estresse ambiental, apresentando funções antioxidativas, atuando na dismutação de espécies reativas de oxigênio.

A SOD catalisa a dismutação de radicais superóxidos para H_2O_2 . Existem três classes distintas de SOD, as quais se diferenciam principalmente no seu cofator metálico. Em plantas CuZn-SOD foi encontrada nos cloroplastos (FOSTER & EDWARDS 1980), no citossol (SAKAMOTO *et al.* 1995) e em mitocôndria (SALIN & BRIDGES 1981). Fe-SOD foi encontrada exclusivamente em cloroplastos (SALIN & BRIDGES 1980) e a Mn-SOD foi detectada em mitocôndria, peroxissomo e citossol (ALSHER *et al.* 1997). Considerando-se que a CuZn-SOD, a Fe-SOD e a Mn-SOD estão presentes no citoplasma, no cloroplasto e na mitocôndria, respectivamente, é possível medir-se resposta específicas e compartimentalizadas do sistema de resposta antioxidativo, pelo monitoramento da atividade destas diferentes classes de SOD.

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.

4.2.4 Determinação da atividade da enzima Catalase (CAT; EC 1.11.1.6).

Os resultados apresentados na Tabela 28 indicam que houve diferenças significativas somente para a média geral entre os tratamentos (T1 e T2).

Tabela 28: Análise de variância da atividade da enzima catalase (CAT) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	193916,10	0,00001*
Época	2	2974,87	0,28200
Interação (tratamento x época)	2	1929,07	0,43140
Resíduo	18	2190,94	
Total	23		
CV (%)	24,85		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

De acordo com a Tabela 29 apenas para a análise de desdobramento dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente quando analisados pelo teste F a nível de 1% de significância.

Tabela 29: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima catalase (CAT) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	49707,04	0,00022*
(Tratamento x E2)	1	55376,25	0,00011*
(Tratamento x E3)	1	92690,95	0,00001*
Resíduo	18	2190,94	
(Época x T1)	2	126,47	0,97250
(Época x T2)	2	4840,71	0,13530
Resíduo	18	2190,94	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Pela análise na Tabela 30 observa-se que dentro dos tratamentos T1 e T2 não ocorreram diferenças estatísticas entre as diferentes épocas de amostragem. Na análise de desdobramento realizada dentro de cada época podemos verificar que em todas as épocas (E1, E2 e E3) os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente.

Tabela 30: Valores médios da atividade da enzima catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	97,18 Aa	95,34 Aa	102,96 Aa
T2 (DH)	254,83 Ba	261,72 Ba	318,24 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

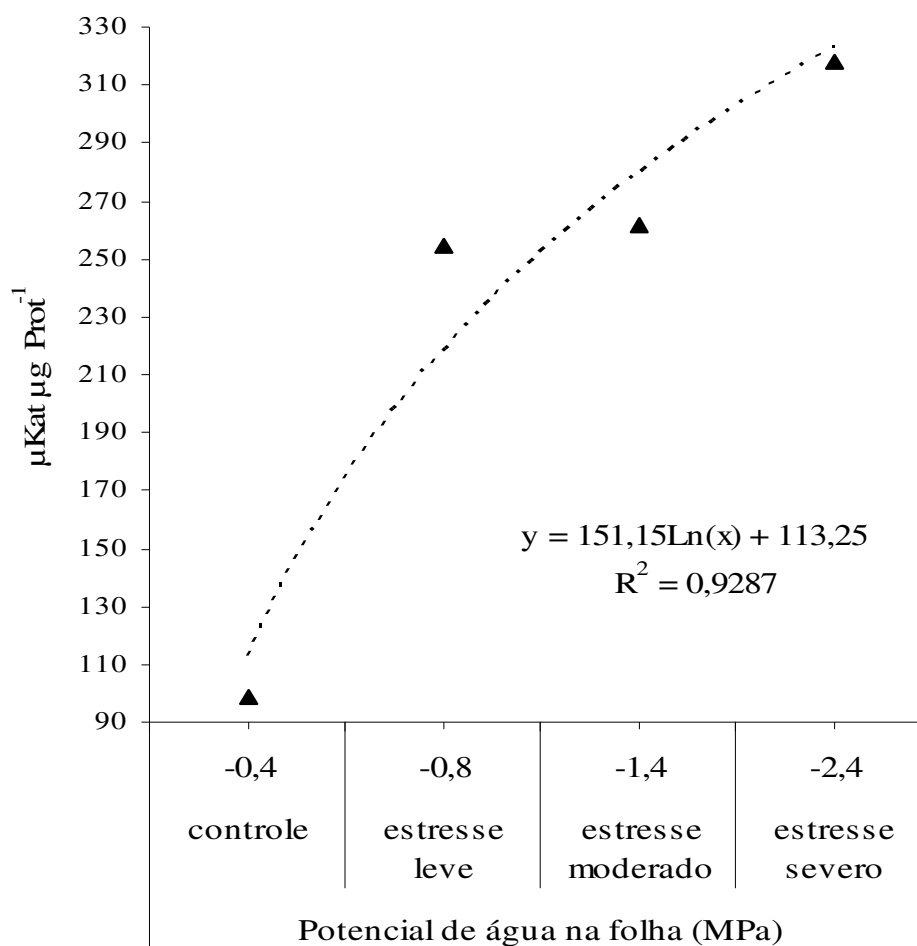


Figura 14: Valores médios para a atividade da enzima CAT ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

De acordo com a Figura 14 a atividade da CAT desenvolve uma função assemelhada a atividade da SOD em condições de estresse ambiental, mantendo uma relação positiva direta com o aumento da deficiência hídrica.

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 fotorrespiração 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}).

Zhujun *et al.* 2004 e Tonin, 2005, ambos trabalhando com pepino pimentão, respectivamente, relataram aumento na atividade da CAT quando as plantas foram submetidas a estresse salino.

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

4.2.5 Determinação da atividade da enzima Peroxidase (POX; EC 1.11.1.7)

Para todas as médias analisadas, os resultados obtidos foram significativos quando calculadas pelo teste F, em nível de 1% de significância conforme demonstrado na Tabela 31.

A análise de variância apresentada na Tabela 32 demonstra que apenas para o desdobramento dentro do tratamento T1 (Controle) as épocas de amostragem (E1, E2 e E3) não diferiram estatisticamente, enquanto que para os demais resultados, as análises foram significativas.

Tabela 31: Análise de variância da atividade da enzima peroxidase (POX) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	1323,43	0,00004*
Época	2	131,56	0,00082*
Interação (tratamento x época)	2	139,66	0,00061*
Resíduo	18	12,10	
Total	23		
CV (%)	23,72		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 32: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima peroxidase (POX) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	108,11	0,00790*
(Tratamento x E2)	1	356,04	0,00001*
(Tratamento x E3)	1	1138,59	0,00001*
Resíduo	18	12,10	
(Época x T1)	2	0,86	0,9324
(Época x T2)	2	270,36	0,00004*
Resíduo	18	12,10	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

A análise de desdobramento das médias, resumidas na Tabela 33, demonstram que houve diferença estatística entre as épocas de amostragem (E1, E2 e E3) e dentro do tratamento T2 (DH). As análises entre as diferentes épocas de amostragens, apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos (T1 e T2) em todas as épocas amostradas.

Tabela 33 Valores médios da atividade da enzima peroxidase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	7,05 Aa	7,77 Aa	6,90 Aa
T2 (DH)	14,40 Ba	21,11 Bb	30,76 Bc

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

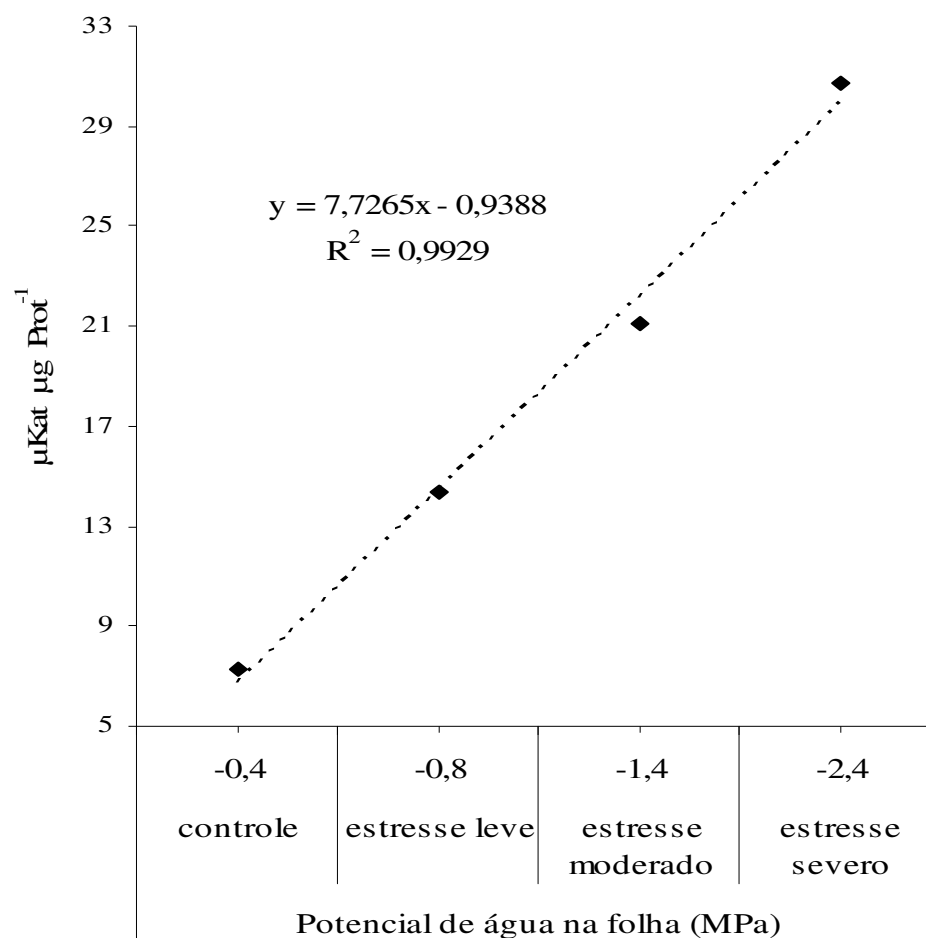


Figura 15: Valores médios para a atividade da enzima POX ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Conforme os dados demonstrados na Figura 15, observa-se uma relação direta entre o aumento da atividade das enzimas peroxidases (POX) em função do aumento da DH. Resultados semelhantes foram encontrados na literatura (WILLEKENS *et al.*, 1995; PEIXOTO, *et al.* 2005).

A atividade da enzima POX frequentemente aumenta em resposta a fatores estressantes, pois a proteção celular contra reações oxidativas é uma das principais funções dessa enzima. O aumento da atividade da POX ocorre em resposta metabólica relacionada a diferentes tipos de estresses (CAKMAK & HORST, 1991; ANDERSON *et al.*, 1995; ZHANG & KIRKHAM, 1996; JIMÉNEZ *et al.*, 1998; MORAES *et al.*, 2002).

As peroxidases catalizam reações relacionadas a polimerização de fenóis, com consumo de H_2O_2 , resultando na formação de lignina e suberina. Podem também estar associadas à resposta fotoperiódica, causando modificações nas membranas e controlando os níveis de fitocromos e Ca_2^+ na célula (JAEGER & BOYER, 1990). A ação do balanço antagônico de ABA e citocinina na morfogênese ocorrem pelo controle da expressão genética de peroxidases, envolvidas também na resposta à indisponibilidade de água, salinidade e danos mecânicos. Altos níveis de peroxidases estão geralmente relacionados com diminuição da elongação celular, minimizando a extensibilidade da parede celular (CHALOUPOKOVÁ & SMART, 1994).

4.2.6 Determinação da atividade da enzima polifenol oxidase (PPO; EC 1.10.3.2, EC 1.10.3.1 e EC 1.14.18.1).

Os resultados apresentados na Tabela 34 demonstram que para todas as análises efetuadas os resultados foram significativos.

Na Tabela 35 a análise dentro das médias do tratamento T1 (Controle) demonstra que as épocas de amostragem não apresentaram diferenças estatísticas. O mesmo resultado ocorreu no desdobramento dentro das épocas de amostragens no período E1. Nos demais resultados as análises foram significativas.

Tabela 34: Análise de variância da atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	2449,65	0,00004*
Época	2	198,59	0,03010**
Interação (tratamento x época)	2	371,05	0,00333*
Resíduo	18	46,34	
Total	23		
CV (%)	17,48		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 35: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	188,85	0,05870
(Tratamento x E2)	1	468,18	0,00522*
(Tratamento x E3)	1	2534,72	0,00003*
Resíduo	18	46,34	
(Época x T1)	2	25,75	0,57971
(Época x T2)	2	543,89	0,00055*
Resíduo	18	46,34	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Através dos dados apresentados na Tabela 36 observou-se que somente na análise de desdobramento para o tratamento T2 a época de amostragem E3 houve diferenças significativas. Para análise de desdobramento dentro de cada época de amostragem, os períodos E2 e E3 apresentaram diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos T1 e T2.

Tabela 36 Valores médios da atividade da enzima polifenol oxidase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	29,15 Aa	31,22 Aa	26,17 Aa
T2 (DH)	38,87 Aa	46,52 Ba	61,77 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

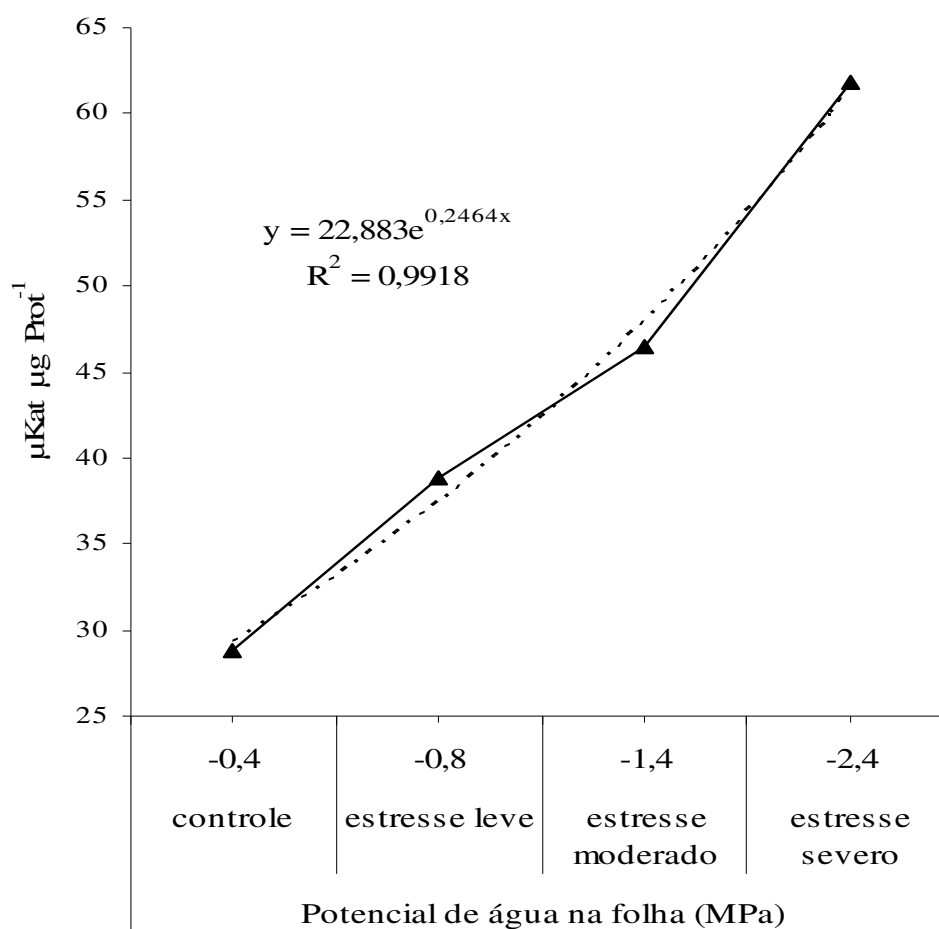


Figura 16: Valores médios para a atividade da enzima PPO ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

A Figura 16 indica que houve aumento da atividade da PPO em função do aumento da DH, em resultado semelhante aos publicados por Peixoto (2005) trabalhando com *Salvinia auriculata*.

A atividade da enzima polifenol oxidase (PPO) tem sido utilizada como parâmetro de avaliação da peroxidação de lipídios, e da produção de compostos fenólicos (MAYER, 1987). O acúmulo de compostos fenólicos e o aumento na atividade da PPO podem gerar substâncias reativas, tais como as quinonas derivadas do ácido caféico que,

juntamente com outros compostos fenólicos, são ativas na produção do superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e, conseqüentemente, na peroxidação de lipídios (MARSCHNER, 1995).

De acordo com Buege & Aust (1978), a peroxidação de lipídios tem início com a remoção de um átomo de hidrogênio das moléculas de ácidos graxos insaturados. O subsequente rearranjo das duplas ligações resulta na formação de um dieno-conjugado que, após o ataque por oxigênio molecular, produz os radicais peroxilipídicos e os endoperóxidos (GUTTERIDGE & HALLIWELL, 1990). A formação de endoperóxidos, a partir de ácidos graxos insaturados, que apresentam pelo menos três metilenos interrompidos por ligações duplas, pode resultar na formação de dialdeído malônico (MDA), um produto da degradação dos lipídios (BUEGE & AUST, 1978).

4.2.7 Determinação da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)

A análise de variância demonstrada na Tabela 37 indica que somente os resultados obtidos entre as médias gerais dos tratamentos (T1 e T2) foram significativos em nível de 1%, quando calculadas pelo teste F.

Tabela 37: Análise de variância da atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	7778,16	0,00008*
Época	2	85,25	0,63380
Interação (tratamento x época)	2	130,86	0,50122
Resíduo	18	182,25	
Total	23		
CV (%)	26,79		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Na Tabela 38 observa-se que a análise de variância para o desdobramento dentro das épocas de amostragens (E1, E2 e E3) os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente. Para as demais análises os resultados não foram significativos.

Tabela 38: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	1704,98	0,00681*
(Tratamento x E2)	1	2294,35	0,00233 *
(Tratamento x E3)	1	4040,55	0,00022*
Resíduo	18	182,25	
(Época x T1)	2	18,44	0,90500
(Época x T2)	2	197,67	0,35455
Resíduo	18	182,25	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 39: Valores médios da atividade da enzima ascorbato peroxidase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	32,10 Aa	34,67 Aa	30,41 Aa
T2 (DH)	61,30 Ba	68,54 Ba	75,36 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2) dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

A Tabela 39 demonstra através da submissão dos dados ao teste de Tukey, que a análise dentro dos tratamentos T1 e T2 não indicaram diferenças estatísticas

entre as médias nas diferentes épocas de amostragem E para análise de desdobramento realizada dentro de cada época de amostragem pode-se afirmar que em todas as épocas (E1, E2 e E3) os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente.

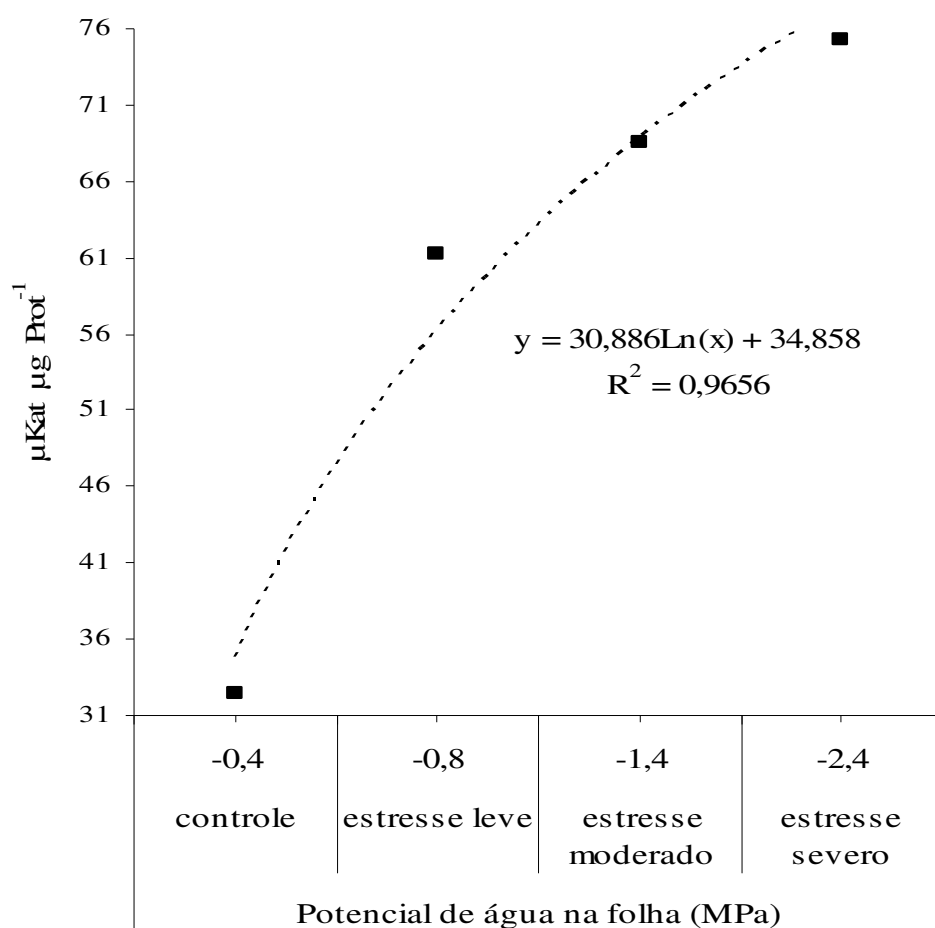


Figura 17: Valores médios para a atividade da enzima APX ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

De acordo com os dados demonstrados na Figura 17 observa-se que a atividade da enzima APX aumentou em função ao aumento da deficiência hídrica. Resultados similares foram publicados por Alcântara e Nogueira (1992); Peixotto (1999); Broetto *et al.* (2002); Zhujum *et al.* (2004) e Rosa *et al.* (2005) Em espécies submetidas a diferentes fontes estressantes.

A atividade da APX acompanhou os eventos de dismutação de peróxido de hidrogênio, em cooperação com a enzima CAT. Esta reação faz parte do ciclo água-água, cuja reação básica de dismutação de radicais livres, foi desencadeada pela SOD (GERBLING *et al.* 1984).

A capacidade de manutenção, em níveis elevados, da atividade da CAT, da ascorbato peroxidase (APX) e da SOD, sob condições de estresses ambientais, é essencial para a manutenção do equilíbrio entre a formação e a remoção do H_2O_2 do ambiente intracelular (CAKMAK & HORST, 1991). Segundo Ejert & Tevini (2002), as plantas se protegem em DH sintetizando antioxidantes (carotenóides, ascorbato, a-tocoferol, glutathione e flavonóides) e aumentando o teor de enzimas antioxidantes (peroxidases, superóxido dismutase e catalases).

4.3 Análises da composição química dos óleos essenciais.

4.3.1 Avaliação do rendimento do óleo essencial em folhas e na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv genovese.

Segundo a análise de variância apresentados nas Tabelas 40 e 41, os resultados para as médias gerais entre os tratamentos (T1 e T2), e para as médias entre as diferentes épocas de amostragens (E1, E2 e E3) foram significativos. Ao contrário, o resultado obtido entre a interação tratamentos e épocas de amostragens não foram significativos.

Tabela 40: Análise de variância para o rendimento de óleo essencial em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	3,97	0,00004*
Época	2	0,58	0,00333*
Interação (tratamento x época)	2	0,28	0,05411
Resíduo	54	0,09	
Total	59		
CV (%)	44,98		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 41: Análise de variância para o rendimento de óleo essencial na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	0,77	0,00344*
Época	2	1,43	0,00333*
Interação (tratamento x época)	2	0,10	0,30333
Resíduo	54	0,08	
Total	59		
CV (%)	23,06		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

A análise de variância (Tabela 42) demonstra que, pelo desdobramento dentro dos tratamentos, apenas no tratamento T1 as médias das épocas de amostragens não foram significativas. Dentro de cada época de amostragem, apenas o período E1 os tratamentos T1 e T2 não diferiram estatisticamente.

Tabela 42: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o rendimento de óleo essencial em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	0,30	0,07540
(Tratamento x E2)	1	1,86	0,00004*
(Tratamento x E3)	1	2,38	0,00004*
Resíduo	54	0,09	
(Época x T1)	2	0,04	0,60922
(Época x T2)	2	0,81	0,00044*
Resíduo	54	0,09	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Tabela 43: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para o rendimento de óleo essencial na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	0,32	0,05320
(Tratamento x E2)	1	0,02	0,56700
(Tratamento x E3)	1	0,62	0,00800*
Resíduo	54	0,08	
(Época x T1)	2	0,73	0,00041*
(Época x T2)	2	0,80	0,00022*
Resíduo	54	0,08	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

A análise de desdobramento realizada dentro de cada época de

amostragem demonstra que apenas no período E3 os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente (Tabela 43). A análise de desdobramento realizada dentro de cada tratamento (T1 e T2) demonstra que as épocas de amostragens (E1, E2 e E3) os resultados foram significativos.

Tabela 44: Valores médios para o rendimento (%) de óleo essencial em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	0,37 Aa	0,38 Aa	0,49 Aa
T2 (DH)	0,62 Ab	0,99 Ba	1,18 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Analisando-se as médias (Tabela 44) para cada época de amostragem, verificou-se que somente na época E1, houve resultados similares. Isto indica que os tratamentos T1 e T2 não diferiram estatisticamente. Para a análise de desdobramento calculada para cada tratamento, apenas no tratamento T2, apresentou diferenças estatísticas na época de amostragem E1.

Tabela 45: Valores médios para o rendimento (%) de óleo essencial na inflorescência de plantas *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	0,82 Ab	1,29 Aa	1,29 Aa
T2 (DH)	1,07 Ab	1,37 Aab	1,64 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Conforme dados apresentados na Tabela 45 observa-se que para a análise de desdobramento realizada dentro de cada época de amostragem, apenas a época de amostragem E1 ocorreu diferenças estatísticas entre os tratamentos T1 e T2. Na análise de desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2), em ambos os casos ocorreram diferenças estatísticas entre as médias nas diferentes épocas de amostragem.

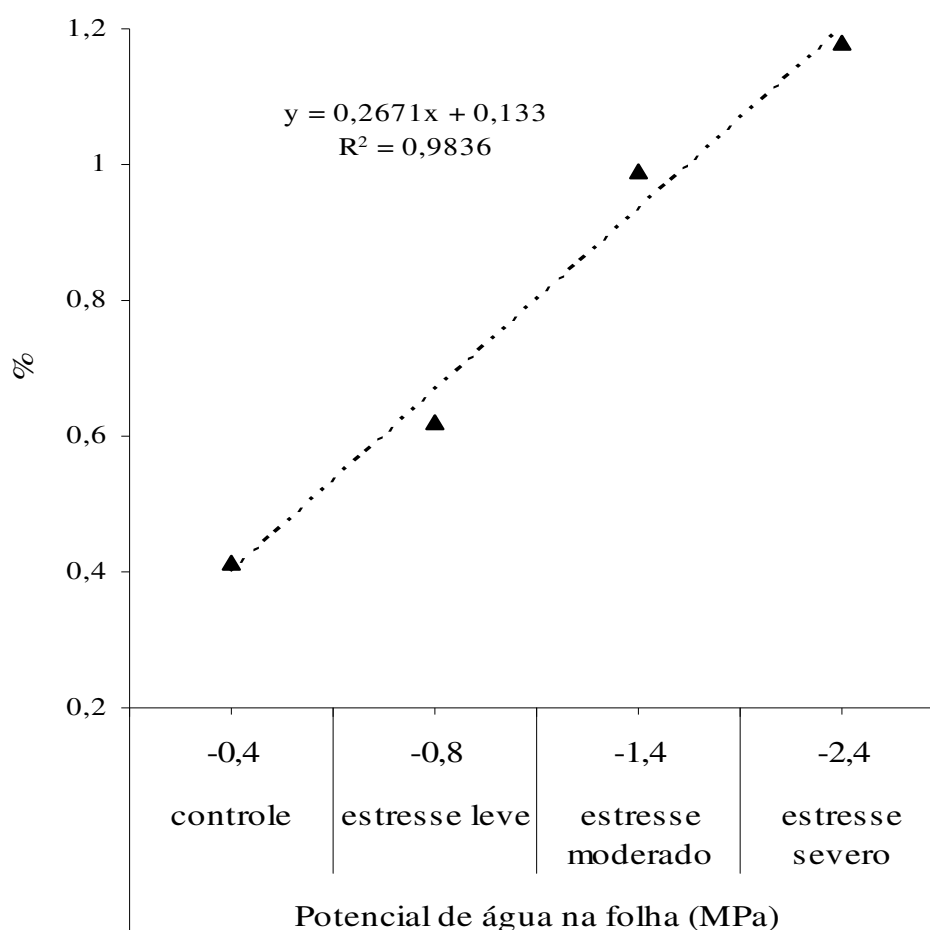


Figura 18: Valores médios para o rendimento de óleo essencial (%) em folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

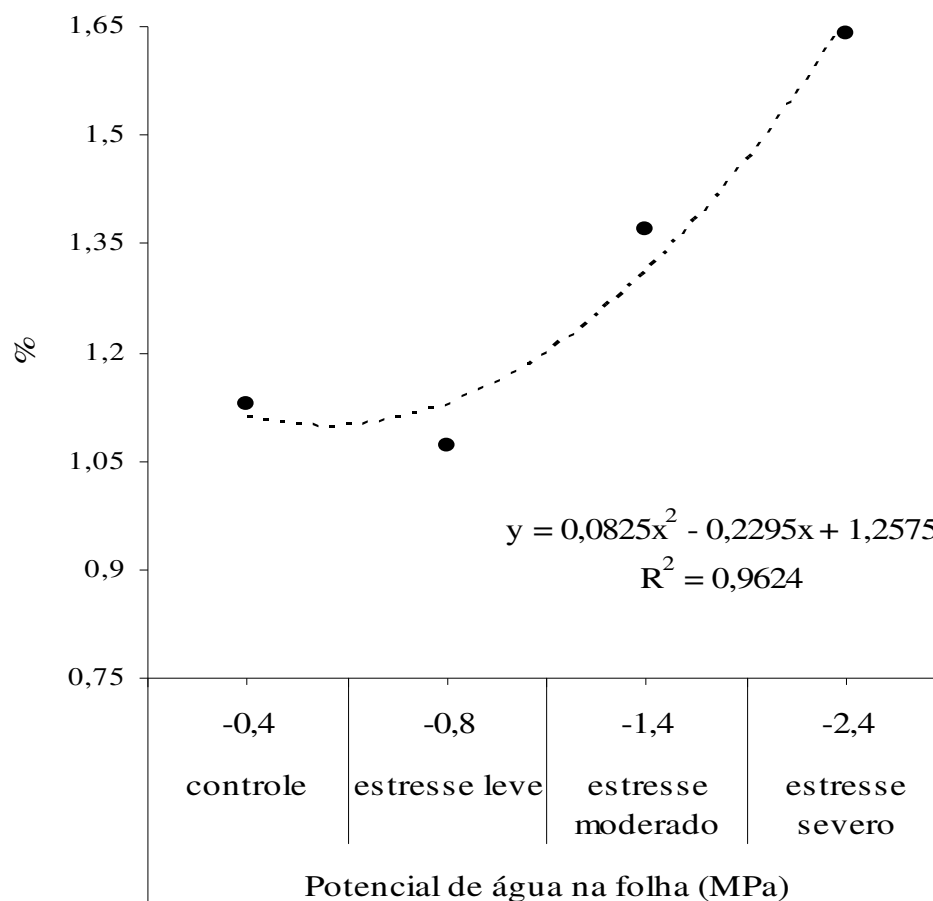


Figura 19: Valores médios para o rendimento de óleo essencial (%) na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Conforme demonstrado nas Figuras 18 e 19 o aumento do rendimento de óleo essencial nas folhas e na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* é diretamente proporcional ao aumento do estresse, provocado neste caso, pela deficiência hídrica. Conforme citado em vários trabalhos (SINGH-SANGWAN *et al.* 1994; DELITALA *et al.* 1996; SILVA & CASALI, 2000; SILVA *et al.* 2002), este padrão de resposta a DH parece ser comum em várias espécies medicinais produtoras de óleos essenciais.

Os teores foliar do óleo essencial no tratamento T1 (Controle) para todas as épocas de amostragem (E1, E2 e E3) foram 0,37; 0,38 e 0,49% respectivamente. Esses valores confirmam os encontrados por Furlan (2000), em condições experimentais similares, os quais variaram entre 0,41 a 0,57% de óleo essencial. Os resultados encontrados

no tratamento T2 (DH) variaram de 0,62 a 1,18%. Farrant, (2000); Hoeskstra *et al*, (2001) e Oliver *et al*, (2001) relatam que existe uma tendência de que os compostos terpênicos acumulem-se sob condições de estresse, principalmente em DH.

Charles *et al* (1990) relatam que, trabalhando com a espécie *Ocimum micranthum*, obtiveram rendimento de 0,63% e 1,54% de óleo essencial na inflorescência e folhas, respectivamente. Moraes *et al* (2002) apresenta valores próximos a 0,60% no rendimento de óleo essencial de inflorescência de *Ocimum selloi*. Os trabalhos citados como referências foram realizados em condições climáticas satisfatórias. Os resultados comparados foram menores do que os encontrados neste trabalho para o tratamento controle (T1) e para o tratamento submetido à DH (T2), que apresentaram valores de concentração média de 1,0% no tratamento T1 e valores entre 1,07% a 1,64% no tratamento T2.

4.2.2 Avaliação da produtividade do óleo essencial em folhas e na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv genovese.

Os resultados da análise de variância deste parâmetro estão resumidos na Tabela 46. A análise demonstra que somente as médias gerais entre as diferentes épocas de amostragens apresentaram resultados significativos.

Tabela 46: Análise de variância para a produtividade do óleo essencial nas inflorescências de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	71,30	0,13370
Época	2	610,18	0,00001*
Interação (tratamento x época)	2	149,89	0,01133
Resíduo	54	30,75	
Total	59		
CV (%)	55,79		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Na Tabela 47 as médias gerais entre os tratamentos (T1 e T2) e as médias entre as diferentes épocas de amostragens (E1, E2 e E3) apresentaram resultados significativos. O resultado obtido entre a interação tratamentos e épocas de amostragens não foram significativos (Tabela 47).

Tabela 47: Análise de variância para a produtividade do óleo essencial nas folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Causas de variação	GL	QM	F
Tratamento	1	111050,96	0,00007*
Época	2	14715,29	0,01070**
Interação (tratamento x época)	2	7162,10	0,09999
Resíduo	54	2978,36	
Total	59		
CV (%)	44,12		

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

A Tabela 48 demonstra que somente na análise do desdobramento dentro das épocas de amostragem E1 e E2, os tratamentos T1 e T2 não apresentaram diferenças.

Tabela 48: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a produtividade do óleo essencial nas inflorescências de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	66,50	0,14720
(Tratamento x E2)	1	44,145	0,23633
(Tratamento x E3)	1	260,49	0,00522*
(Época x T1)	2	483,48	0,00001*
(Época x T2)	2	276,59	0,00041*
Resíduo	54	30,75	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

Os dados referentes à Tabela 49 mostram que apenas a análise de desdobramento das épocas de amostragem E2 e E3 os tratamentos T1 e T2 diferiram estatisticamente.

Tabela 49: Análise de variância para o desdobramento dentro de cada tratamento (T1 e T2) e dentro de cada época de amostragem (E1, E2 e E3) para a produtividade do óleo essencial nas folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Desdobramento	GL	QM	F
(Tratamento x E1)	1	9055,06	0,08690
(Tratamento x E2)	1	62204,74	0,00001*
(Tratamento x E3)	1	54115,36	0,00017*
Resíduo	54	2978,36	
(Época x T1)	2	1383,33	0,53999
(Época x T2)	2	20039,06	0,05243
Resíduo	54	2978,36	

*, ** significativo ao nível de 1% e 5% respectivamente.

A Tabela 50 demonstra que dentro no tratamento T1 houve diferenças estatísticas entre as épocas de amostragem, o mesmo não ocorreu no tratamento T2. Já as diferenças entre os tratamentos (T1 e T2) ocorreram apenas nas épocas E2 e E3.

Tabela 50: Valores médios para a produtividade (mg óleo essencial massa seca inflorescência por planta⁻¹) do óleo essencial nas inflorescências de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	3,78 Ab	17,65 Aa	11,67 Aa
T2 (DH)	7,43 Aa	7,60 Ba	4,45 Ba

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

Os dados expressos na Tabela 51 demonstram que dentro do tratamento T1 não houve diferenças estatísticas entre as épocas de amostragem. No tratamento T2 as diferenças ocorreram, sendo na época de amostragem E1 não ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos T1 e T2

Tabela 51: Valores médios para a produtividade ($\text{mg óleo essencial massa seca folhas por planta}^{-1}$) do óleo essencial nas folhas de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese em função de diferentes níveis de deficiência hídrica.

Tratamentos	Épocas de amostragem		
	E1	E2	E3
T1 (Controle)	73,34 Aa	72,34 Aa	96,31 Aa
T2 (DH)	115,90 Aa	183,88 Bb	200,34 Bb

*** As letras maiúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre os tratamentos (T1 e T2), dentro de cada época, e as letras minúsculas representam as diferenças da análise de desdobramento entre as épocas (E1, E2 e E3) dentro de cada tratamento.

A produtividade de óleo essencial por planta nas inflorescências de *Ocimum basilicum*, diminuiu na medida em que a planta foi submetida a níveis maiores de DH (Figura 20). Esses resultados são inversamente proporcionais aos apresentados na Figura 19, para o rendimento de óleo essencial na inflorescência, os quais indicam aumento no rendimento do óleo essencial em função ao aumento da DH (expresso em % de óleo essencial na inflorescência). Esses resultados apresentados podem ser explicados, porque durante o período de DH as plantas apresentaram queda no número de inflorescências (Figura 10). Este fator por si influenciou diretamente na diminuição da MMS das inflorescências coletadas por planta, o que acarretou na diminuição da massa de óleo essencial da inflorescência por planta.

Este efeito na diminuição do rendimento de óleo, também foi encontrado por Lammerink *et al* (1989), que relatou que a queda de flores foi fator preponderante na produção de óleo essencial em *Lavandula intermédia*. Hornok, *et al*, (1992) relataram o mesmo fenômeno, quando as plantas *Nepeta catari* se encontravam entre o início e o completo florescimento.

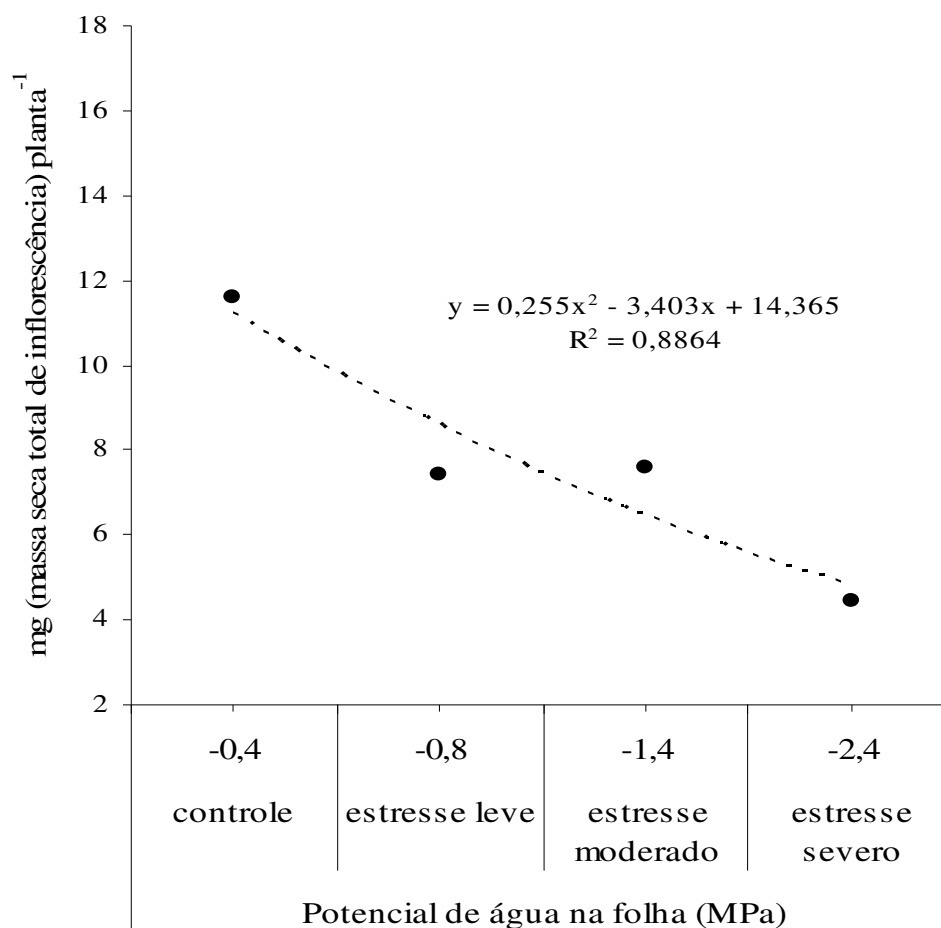


Figura 20: Valores médios para a produtividade de óleo essencial (mg óleo essencial massa seca inflorescência por planta⁻¹) na inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Para a produtividade de óleo essencial em folhas de *O. basilicum* representados na Figura 21, verificou-se que com o aumento da DH, houve aumento correspondente e exponencial na produção de óleo essencial por planta. Esses resultados representam o inverso do encontrado para a mesma análise em inflorescências (Figura 20). Acredita-se que este fato possa estar associado ao fato de que as DH não resultaram na queda acentuada de folhas, como observado para as inflorescências. Figueiredo (2001) e Koshima *et al* (2002), trabalhando com a espécie *Cymbopogon citratus*, obtiveram maior produção de óleo essencial quando as plantas foram submetidas a baixas temperaturas e clima seco.

Esses resultados são divergentes de alguns autores, como Corrêa Júnior *et al.* (1994); Carvalho & Casali (1999); Chatterjee (1999); Marchese (1999); Chaves (2001) e Ming *et al.* (2002). Em diferentes estratégias de cultivo, esses autores trabalharam com plantas de interesse na produção de óleo essencial, verificando que a DH severa pode aumentar o rendimento de óleo essencial. No entanto, observaram que devido à redução da biomassa, ocorre diminuição no rendimento de óleo. Assim, concluíram que plantas irrigadas podem compensar o baixo teor de compostos secundários com maior produção de biomassa, o que resulta em maior rendimento final compostos de interesse, por área cultivada (Corrêa Júnior *et al.*, 1994).

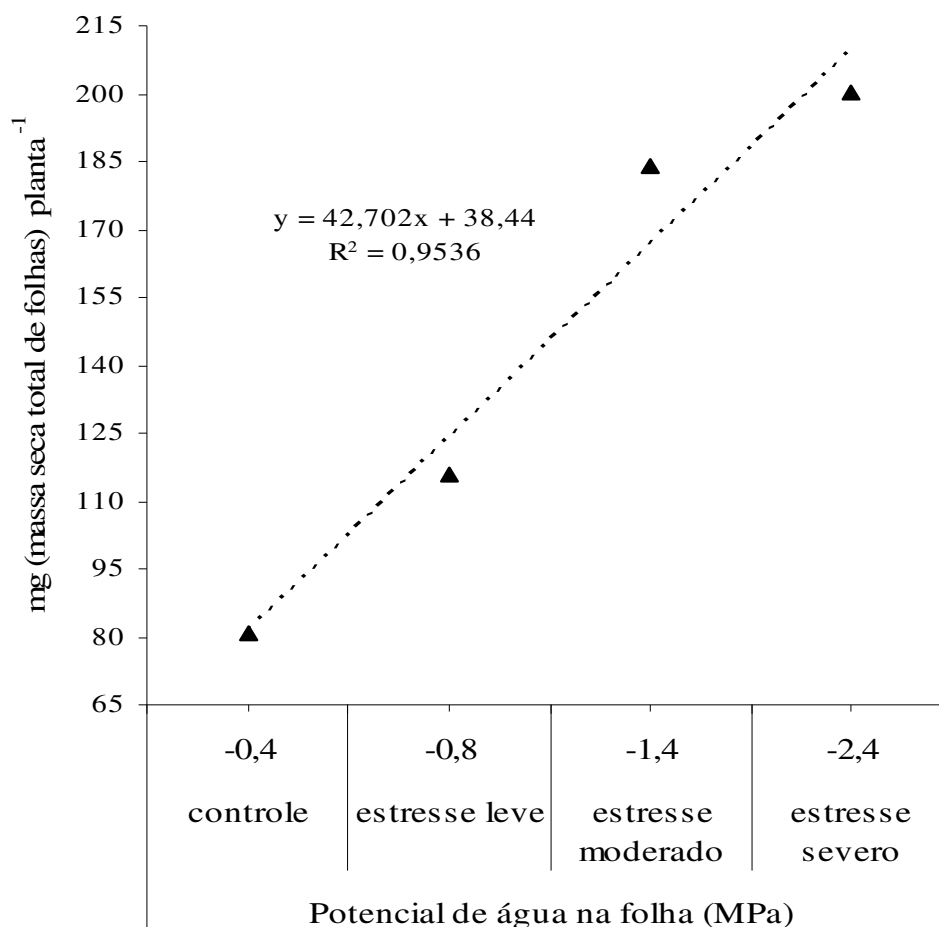


Figura 21: Valores médios para a produtividade do óleo essencial (mg óleo essencial massa seca_{folha} por planta⁻¹) nas folhas de plantas de *Ocimum basilicum* em função de diferentes níveis de DH.

Poucos são os trabalhos referentes ao efeito da DH em plantas medicinais, principalmente em relação aos produtos do metabolismo secundário. O efeito sobre tais produtos parece variar bastante com o tipo, a intensidade e a duração do estresse, podendo aumentar ou diminuir o teor de óleos essenciais (ANDRADE & CASALI, 1999).

4.3.3 Avaliação da composição química do óleo essencial de plantas de *Ocimum basilicum* L. cv genovese.

Os dados relativos à porcentagem relativa dos componentes do óleo essencial, encontrados nos diferentes tratamentos e épocas de amostragens estão resumidos no Anexo 1.

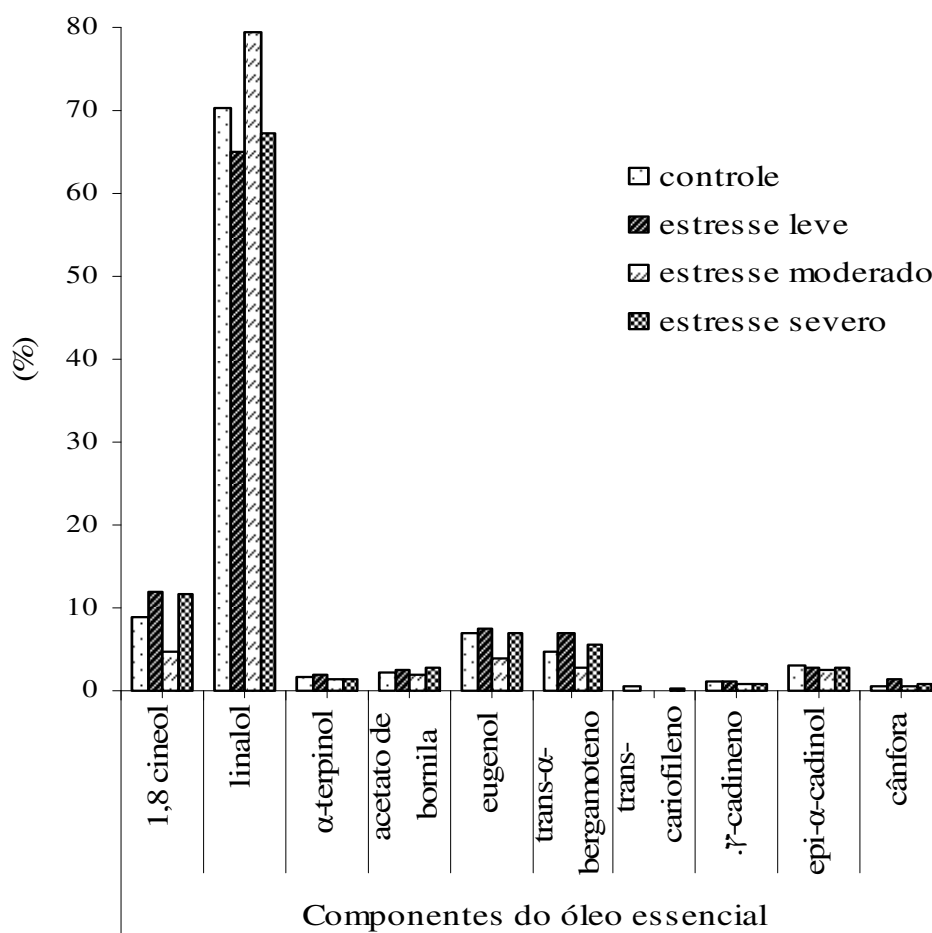


Figura 22: Valores médios em (%) para os componentes do óleo essencial encontrado em folhas de *O. basilicum* cujas plantas foram submetidas a diferentes níveis de DH.

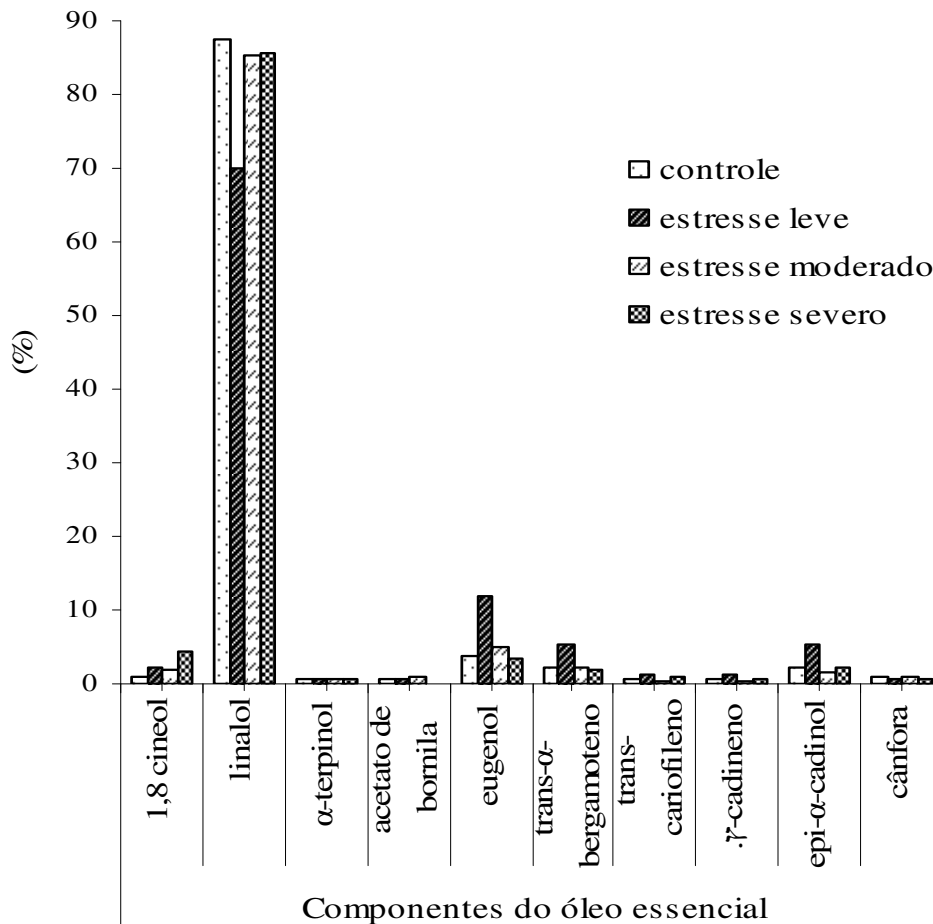


Figura 23: Valores médios em (%) para os componentes do óleo essencial encontrado em inflorescências de *O. basilicum* cujas plantas foram submetidas a diferentes níveis de DH.

. De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 22 e 23, observa-se que o linalol, foi o composto majoritário em ambos os tecidos analisados, nas folhas (70,4%) e nas inflorescências (87,6%). Resultados similares foram encontrados por Bisset, (1994) e Murugesan & Damodaran, (1988).

Chalchat *et al*, (1999) trabalhando com plantas do gênero *Ocimum* encontraram valores acima de 60% para linalol e foram os primeiro autores a relatarem o composto α-terpinol.

Outros autores também relatam que o linalol é o que apresenta maior abundância em *Ocimum*, embora em valores inferiores a 50% (SANDA *et al*, 1998; TEIXEIRA *et al*, 2000; FURLAN, 2000; VIEIRA & SIMON, 2000 e VIEIRA *et al* 2001).

Em relação aos outros compostos, o 1,8 cineol apresentou diferenças entre os valores médios dos compostos encontrados nas folhas e nas inflorescências (Figura 23). Os resultados encontrados nas folhas para o 1,8 cineol, (Figura 22) como o segundo composto mais abundante em todos os tratamentos, é semelhante aos resultados encontrados por Vieira & Simon (2000) e Vieira *et al* (2001) que os encontraram com valores superiores aos do presente experimento.

Os compostos encontrados no presente ensaio e as suas formas estruturais estão discriminados na Figura 24. Todos os compostos foram detectados em ambos os tecidos analisados. O trans-cariofileno apresentou somente traços nas folhas, quando submetido a um estresse leve e moderado. O acetato de bornila teve a porcentagem relativa suprimida na inflorescência quando submetida a uma DH severa.

O óleo essencial obtido neste estudo em função do maior teor de linalol poderia ser classificado como *tipo europeu* (GUENTHER, 1974).

Concordante com a presença de cânfora no presente experimento, Mazutti *et al* (2006) trabalhando com *Ocimum*, relatam ter encontrado perfil qualitativo do óleo semelhante aos citados na literatura corrente. Entretanto, também observaram a presença de cânfora, componente pouco freqüente na composição de óleos essenciais.

Lachowicz *et al* (1997) observam alterações na composição e na concentração do óleo essencial em *Ocimum*, baseado no processo de extração. Possivelmente, estas alterações advêm da forma com que foi realizada a destilação, assim como pela forma do material a ser hidrodestilado, matéria seca ou matéria fresca.

Elizabeth & Amparo (1999) estudando a influência de métodos de isolamento de compostos químicos em *Ocimum*, concluíram que o conteúdo de linalol obtido através da hidrodestilação foi mais alto do que no método supercrítico, indicando que a degradação dos últimos compostos pode ocorrer durante a hidrodestilação.

Apesar da influência genética das espécies sobre a composição de óleos essenciais Trapp & Croteau (2001), afirmam que o rendimento do óleo pode variar conforme a fatores ambientais, órgão da planta a ser amostrado, ou pelo método de extração.

Segundo Farias (1999) a localização geográfica, época da coleta, forma de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de

armazenamento podem influenciar o rendimento e o perfil químico de óleos essenciais por extratos de plantas.

Esses valores e situações diferenciadas corroboram com a hipótese de que as espécies se adaptam a diferentes condições ambientais e estádios ontogenéticos e/ou fenológicos. Cada uma dessas características leva a produção diferenciada de óleo essencial e seus compostos (CHAVES, 2001). Discutir e analisar esses resultados associativamente é um desafio da pesquisa interdisciplinar.

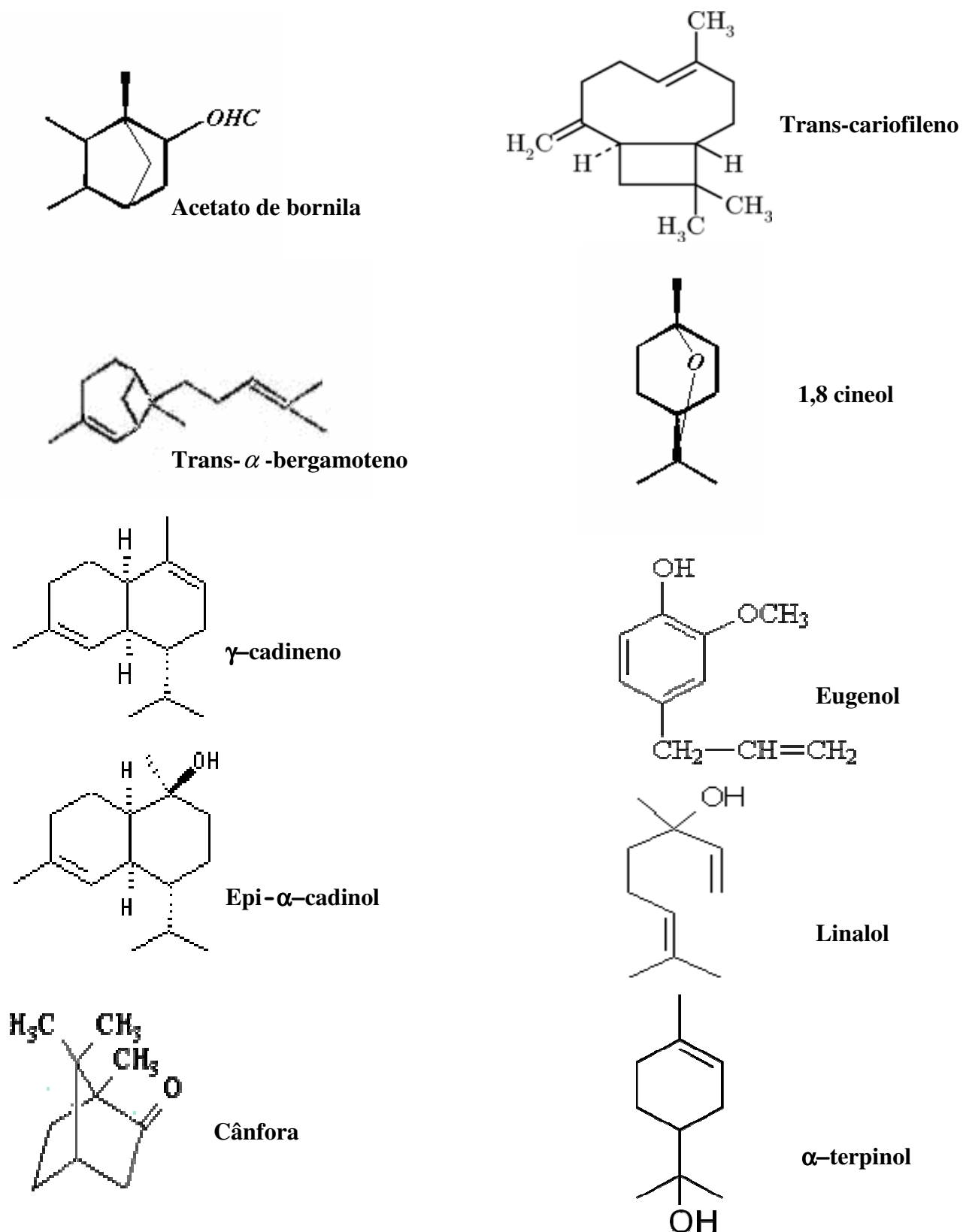


Figura 24: Fórmulas estruturais dos compostos dos óleos essenciais das folha e inflorescência de plantas de *Ocimum basilicum* L. cultivar genovese.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas condições em que este experimento foi realizado, concluem-se:

De acordo com os parâmetros biométricos conclui-se que a área foliar apresentou diminuição significativa a partir do momento que as plantas foram submetidas a um estresse moderado; com relação ao volume e massa de raiz ocorreu redução da área radicular em função do aumento da DH. O índice de clorofila diminuiu em função do aumento da DH, sendo que níveis leves de DH ($\Psi_{\text{folha}} \sim -0,8$ MPa,) não influenciaram na diminuição do índice relativo de clorofila. 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 ($\Psi_{\text{folha}} \sim -2,4$ MPa,)

Em relação aos parâmetros bioquímicos, conclui-se que a atividade das enzimas SOD, CAT, APX, PPO e POX assim como a concentração de L-prolina, aumentou em função do tratamento de DH, podendo ser consideradas como indicadores de situação de estresse.

Em termos qualitativos a análise dos componentes do óleo revelou que os diferentes níveis de DH não alteraram o padrão conhecido para esta espécie. Observou-se que o composto linalol foi o que apresentou maior porcentagem, principalmente nas

inflorescências. Os compostos eugenol; 1,8 cineol; Trans- α -bergamoteno; Epi- α -cadinol; α -terpinol; Acetato de bornila; Trans-cariofileno; γ -cadineno e Cânfora, foram encontrados nas amostras de inflorescência e de folhas mas em quantidades inferiores.

Plantas submetidas à DH apresentaram aumento no rendimento de óleo essencial por grama de matéria seca em folhas e na inflorescência. As análises químicas revelaram que a produtividade total de óleo por planta foi maior nas inflorescências das plantas do tratamento controle. Nos tecidos foliares o resultado encontrado foi o inverso, exceto para as plantas que foram submetidas a estresse moderado. ($\Psi_{\text{folha}} \sim -1,4$ MPa,).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. Identification of essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Allured Publ. Corp, Carol Stream, 1995.

ALCANTARA, M.F.A.; NOGUEIRA, R.J.M.C. Comportamento fisiológico da vinagreira *Hibiscus sabdariffa* em decrescentes níveis de umidade. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS DO BRASIL, 12, Curitiba, Paraná, *Anais*. Curitiba, 1992. p. 201.

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

ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. *Plant Physiology*, v.109, p.1247-1257, 1995.

ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D. *Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia, 1999.

BANZATO, D. A; KRONKA, S.N.; **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 247p. 1989.

BATES, L.S. ; WALDERN, R.P.; TEARE, I.D.; Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, The Hague, v.39. p.205-07, 1973

BEEVER, D. Os transgênicos e o futuro da Agricultura. *Biotecnologia e Desenvolvimento*, v.15, p.4-7, 2000.

BISSET, N.G. (ed). : a handbook for practice on a *scientific* basis. *Herbal drugs and phytopharmaceuticals* Stuttgart: Medpharm, 1994. p.104-5.

BOWN, D. *Encyclopedia of herbs & their uses*. London: Dorling Kindersley, 1995. p.166-167.

BOYER, J.S. *Measuring the water status of plant and soils*. London: Academic Press, 1995.178p.

BRADFORD, M.M;. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry*, New York, v.72, p.248-254, 1976.

BROETTO, F.; LUTTGE, 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*, Victoria, v.29, , p. 13-23, 2002.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, v.52, p.302-310, 1978

BUSTAMANTE, F.M.L. *Plantas medicinales y aromáticas*: Madrid: Mundi Prensa, 1993. p.85-88.

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*, v.83, p.463-468, 1991.

CARVALHO L.M.; CASALI V.W.D.; SOUZA M.A.; BARBOSA, L.C.A.; CECON, P.R., crescimento, teor de partenolídeo e de prolina em plantas de *tanacetum parthenium* (l.) Schultz-Bip crescidas em substrato com diferentes teores de umidade. *Acta Scientiarum*: Maringá, v. 27, n. 1, p. 151-7, 2005.

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

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

CARVALHO L.M.; CASALI V.W.D.; SOUZA M.A.; BARBOSA, L.C.A.; CECON, P.R., crescimento, teor de partenolídeo e de prolina em plantas de *tanacetum parthenium* (l.) Schultz-Bip crescidas em substrato com diferentes teores de umidade. *Acta Scientiarum*: Maringá, v. 27, n. 1, p. 151-7, 2005.

CASTRO, L.O., CHEMALE, V.C. *Plantas medicinais, codimentares e aromáticas: descrição e cultivo*. Guaíba: Agropecuária, 1995. p.102-104.

CHALCHAT, J.C.; GARRY, R.P.; SIBIDÉ, L.; HARAMA, M. Aromatic plants of Mali. In: Chemical composition of essential oils of *Ocimum basilicum* L. *Journal Essential oil Reserch*. V.11, p.375-80, 1999.

CHALOUPKOVÁ, K. & SMART, C. C. 1994. The abscisic acid induction of a novel peroxidase is antagonized by cytokinin in *Spirodela polyrrhiza* L. *Plant Physiology*, 105 : 497-507.

CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal American Society Horticultural Science*. V.115, n.3, p.458-62, 1990.

CHATTERJEE, S.K. Water stress effects on betelvine (*Piper betle* L.) and its alleviation by n-triacontanol. *Acta Horticulturae*, Netherlands, v.502, p.93-97, 1999.

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 p. *tese* (doutorado agronomia - horticultura) apresentada a Faculdade de Ciências Agronômicas – Unesp – Botucatu.

CORREA JÚNIOR, C. Influências das adubações orgânica e química na produção de camomila *Chamomilla recutia* (L.) Rauschert e do seu óleo essencial. In: MING, L.C. (Org.) *Plantas medicinais, aromáticas e codimentares: avanços na pesquisa agronômica*. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1998. v.2., p.129-164.

CORREA JÚNIOR, C., MING, L.C., SHEFFER, M.C. *Cultivo de plantas medicinais, codimentares e aromáticas*. 2 ed. Jaboticabal, FUNEP. 1998.

CORREIA K.J; NOGUEIRA R.J.M.C. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. *Revista de Biologia e Ciência da Terra*. V.4, n.2, 2004.

COSTA, R.A. As relações hídricas em plantas vasculares. *Universidade de Évora*. Portugal., 2001. Disponível em: <http://www.angelfire.com> Acesso em 25/09/2006.

DARRAH, H.H. Investigation of the cultivars of the basil (*Ocimum*). *Economic Botany*, n.28, p.63-67, 1974.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, C.A.; PASTORI, G.M. & TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant and Cell Physiology*, 34:1023-1028, 1993.

DELAUNEY, A., VERMA, D. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Journal Plant* .n.4. p.:215-223. 1993

DELITALA, L.F. *et al.* Estresse hídrico e flexibilita del metabolismo fenólico in *Thymus capitatus*. *Fitoterapia*, Amsterdam, v. 57, n.6, p. 401-408, 1996.

DEY, B.B., CHOUDHURI, M.A. Effect of application of NPK on the growth and yield o essential oil and eugenol in *Ocimum sanctum* L. *Pafai-Journal*, v.6, n.1, p.20-4, 1984.

DEY, P.M. & HARBORNE, J.B. *Plant Biochemistry*. London: Academic Press, 2000. 554p

DURVELLE, J.P. *Fabrication des essences et des parfums: Chimie des parfums*. 3. ed. Paris: Desforges, Girardot et Cie, 1930. p.581-3.

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*, v. 48, p. 43-49, 2002.

ELIZABETH, M.P.; AMPARO, V.P. Determination of volatile constituents of sweet basil (*Ocimum spp*) by two extraction methods. *Revista Colombiana de Química*. V.28, n.1, p.65-74, 1999.

EMBRAPA. *Manual de métodos de análises de solo*. Rio de Janeiro: CNPS, 1997. 212p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: *Produção de milho*. Guaíba: Agropecuária, 2000. cap.1. p.21-53.

FARIAS, M. R. Em *Farmacognosia da planta ao medicamento: Avaliação da Qualidade de matéria primas vegetais*; SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; de MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., eds.; 5ª ed., UFSC e UFRGS Ed.: Porto Alegre, 1999.

FANIZZA, G.; RICCIARDI, L.; BAGNULO, C.; Leaf greenness measurements to evaluate water stressed genotypes in *Vitis vinifera*. *Euphytica*, v.55, p. 27-31,1991.

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

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

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

FIGUEREIDO, R. *Influência de reguladores vegetais na produção de biomassa, teor de óleo essencial e de citral em Cymbopogon citratus em diferentes épocas do ano*. Botucatu, 2001. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) IB, UNESP.

FRANZ, C. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae*, Netherlands, 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.C. “Efeito da adubação com N, P_2O_5 - K_2O sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cv. *genovese*”. 2000. 172p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

GARLAND, S. *Gran libro de las hierbas y especias*. Barcelona: Editorial Blume, 1989. p.84.

GERBLING K.P., KELLY G.J., FISHER K.H., LATZKO E. Partial purification and properties of soluble ascorbate peroxidase from pea leaves. *Journal of Plant Physiology* 115, 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. (EDS.) *Recent advances in phytochemistry - phytochemical adaptations to stress*. New York: Plenum Press, v.18, 1984. p.273-320.

GIANNOPOLITIS, C.N. & RIES, S.K.; Superóxido dismutases. I. occurrence in Higher plants. **Plant Physiology**, 59:309-314, 1977.

GOLOVINA, E.A., HOEKSTRA, F.A., HEMMINGA, M.A. Drying increases intracellular partitioning of amphiphilic substances into the lipid phase: impact on membrane permeability and significance for desiccation tolerance. *Plant Physiology*, v.118, p.975-986, 1998.

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

GUPTA, S.C. Variation in herbage yield and major component of various *Ocimum spp* harvested at different stages of maturity. *Journal Essential of Research*, v.8, p.275-9, 1996.

GUTTERIDGE, J.M.C.; HALLIWELL, B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences*, v.15, p.129-135, 1990.

HARBORNE, J.B. *Introduction to Ecological Biochemistry*. 4th ed. London: Academic Press, 1993. 316p.

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

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

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

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

HOEKSTRA, F.A., WOLKERS, W.F., BUITINK, J., et al. Membrane stabilization in the dry state. *Comparative Biochemistry and Plant Physiology*, v.117(A), p.335-341, 1997.

HOEKSTRA, F.A., GOLOVINA, E.A., BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, v.6, n.9, p.431-8, 2001.

HOEKSTRA, F.A., GOLOVINA, E.A. The role of amphiphiles. *Comparative Biochemistry and Plant Physiology*, v.131 (A), p.527-533, 2002.

HORNOK, L. Effect of environmental factors on growth, yield and on the active principles of some spices plants. *Acta Horticulturae*, Netherlands, v.188, p.169-176, 1986.

HORNOK, L.; LENCHÉS, O. Sweet basil. In: HORNOK, L. *Cultivation and processing of medicinal plants*. Chichester, New York: John Wiley & Sons, 1992. p.220-4.

HSIAO, T. C. 1990. Measurements of plant water status. In: *Irrigation of agricultural crops*. STEWART, B. A. & NIELSEN, D. R. (eds.) American Society of Agronomy. Madison. pp. 244-280.

HUBER, R.K.; KREUTMAIER, F.; SANKHLA, N.; Eco-physiological studies on Indian arid zone plants: VI. Effect of NaCl and ABA on amino-acid and protein metabolism in leaves of *Phaseolus acutniifolius*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, Stuttgart, v.81, p.234-247, 1977.

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

JAEGHER, G. de & BOYER, N. 1990. On the role of membranes and calcium in signal perception and transduction in thigmomorphogenesis of *Bryonia dioica*. In: *Intra-and intercellular communications in plants Plant Physiology*, 105 : 497-507

JIMÉNEZ, A.; HERNÁNDEZ, J.A.; PASTORI, G.; DEL RIO, L.A.; SEVILLA, F. Role of ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. *Plant Physiology*, v.118, p.1327-1335, 1998.

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*. V. 47, p.75-85, 1981.

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

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*) *Plant and Cell Physiology*, 34:713-721,1993.

KOSHIMA, F.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M. Produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e de citral em capim-limão, *Cymbopogon citratus*, com cobertura morta nas estações do ano. In: XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, *Resumos*, 2002.

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

KRISHNAN, R. Natural outcrossing in sweet basil, *Ocimum basilicum* L. *Ind. Perfumer*, v.25, n.3-4, p.74-77, 1981.

KUDREV, T. G. *Água: vida das plantas*. São Paulo: Ícone,1994.

KUKI, N. *Efeito do estresse hídrico e salino sobre algumas espécies nativas da Restinga*. 1997. Tese (Mestrado) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997

KUMAR, A.; SINGH, D. P. Use of physiological indices as a screening technique for drought to tolerance in oilseed *Brassica* species. *Ann. Bot.*, London, v. 81, s.n., p. 413-420, 1998.

KUTCHAN, T.M. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant Physiology*, v.125, p.58-60, jan. 2001.

LAMMERINK, J.; WALLACE, A.R.; PORTER, N.G. Effects of harvest time and postharvest drying on oil from lavadin (*Lavandula intermedia*) N. Z. *J. Crop Horticultural Science*. v.17. p.315-26, 1989.

LAOCHOWICZ, K.J., JONES, G.P., BRIGGS, D.R., BIENVENU, F.E., PALMER, M.V.,MISHIRA, V., HUNTER, M.M. Characterisites of plants extracts from five varieties of

basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.45, p.2660-5, 1997.

LARCHER, W. *Physiological plant ecology*. 3rd. ed. Berlin: Springer, 1995. 506p.

LEONARDO, M. *Estresse salino induzido em plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e seus efeitos sobre a produtividade e parâmetros agronômicos e bioquímicos*. 2003. 100p Dissertação (agronomia-irrigação e drenagem) Botucatu, UNESP/FCA,.

LIANG, Y.C.; DING, R.X.; LIU, Q. Effects of silicon on salt tolerance of barley and its mechanism. *Sci Agricult Sinica* 32(6): 75–83 (In Chinese with English abstract),1999.

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

MADAN, S., NAINAWATEE, H.S., JAIN, R.K., CHOWDHURY, J.B. 1995. Proline and proline metabolizing enzymes in in-vitro selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L. under salt stress. *Ann. Bot.* 76:51-57.

MARCHESE, J.A. *Produção e detecção de artemisinina em plantas de *Artemisia annua* L. submetidas a estresses abióticos*. 1999. 88p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MARQUARD, R.D., TIPTON, J.L. Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. *HortSci.*, v.22, p.1327. 1987.

MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. 889p

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

MATHON, C.C. Contribution a l'étude des relations entre la répartition géographique des plantes supérieures et l'existence thermique et photopériodique de leur développement. The effect of photoperiodism on the growth and the essential oil of *Ocimum basilicum* (Sweet basil). *Economic Botany*, n.30, p.389-393, 1972.

MATOS, F.J.A. *Farmácias vivas*. 3. ed. versão atualizada. Fortaleza: Ed Universidade Federal do Ceará, 1998. 220p.

MATTOS, J.K.A. *Plantas medicinais: aspectos agrônômicos*. Brasília: Ed. Do Autor, 1996. 52p.

MAYER, A.M. Polyphenol oxidases in plants: recent progress. *Phytochemistry*, v.26, p.11-20, 1987.

MAZUTTI, M.; BELEDELLI, B. MOSSI, A. J.; CANSIAN, R.L.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J.V. Caracterização Química De Extratos De *Ocimum Basilicum* L. Obtidos Através De Extração Com CO₂ A Altas Pressões. *Química Nova*, v. 15, n.1, 2006.

MCLAFFERTY, F. W. ; STAUFFER, D. The Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data. John Wiley Sons, New York, (1989).

MING, L.C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. *Horticultura Brasileira*, v.12, n.1, p.3-9, 1994.

MISZALSKI Z., SLESAK I., NIEWIADONSKA E., BACZEK-KWINTA R., LÜTTGE U., RATAJCZAK R. Subcellular localization and stress response of superoxide dismutase isoforms from leaves in the C₃-CAM intermediate halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant, Cell and Environment* 21, 169-179, 1998.

MONTES-BELMONT, R., CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*, v.61, n.5, p.616-9, 1998.

MORAES, R.M.; KLUMP, A.; FURLAN, C.M.; KLUMP, G.; DOMINGOS, M.; RINALDI, M.C.S.; MODESTO, I.F. Tropical fruit trees as bioindicator of industrial air pollution in Southeast Brazil. *Environment International*, v.28, p.367-374, 2002.

MURUGESAN, M.; DAMODARAN, N.P. Studies on Indian essential oils & their isolates. A on the essential oil of chemo-type of *Ocimum basilicum*, exceptionally rich in linalool. *Indian Perfumer*. V.32, n.1, p.92, 1988.

NATION, R.G., JANICK, J., SIMON, J.E. Estimation of outcrossing in basil. *HortScience*, v.27, n.11, p.1221-1222, 1992.

NOLASCO, F. *Deficiências nutricionais em manjeriço (Ocimum spp) sob hidroponia*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996, 19p. (Monografia).

NYKANEM, I. The effect of cultivation conditions on the composition of basil oil. *Flavour Fragrance*., v.4, n.3, p.125-8, 1989.

OLIVER, A.E., LEPRINCE, O., WOLKERS, W.F. et al. Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. *Cryobiology*, v.43, p.151-167, 2001.

PALEVITCH, D. Recent advances in the cultivation of medicinal plants. *Acta Horticulturae*, Netherlands, v.208, p.29-35, 1987.

PANIZZA, S. *Plantas que curam (cheiro de mato)*. 6.ed. São Paulo: Ibrasa, 1998. 160p.

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*, v.129, p.460-468, jun. 2002.

PATON, A., HARLEY, R.M., HARLEY, M.M. *Ocimum*: a overview of classification and relationships. In: HOLM, Y., HILTUNEN, R. (ed) *Ocimum*: medicinal and aromatics plants – industrial profiles. Series, Amsterdam: Ed. Hardman, 1999. p.1-38.

PEIXOTO, H.P.P.; PIMENTA, D.S.; ANTUNES, F. D. Efeitos do fluor em folhas de plantas aquáticas de *Salvinia auriculata*: *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.40, n.8, 2005.

PEIXOTO, H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT´ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A.M.; Aluminum effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum, *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Viçosa, v.11, n.3, p.137-43, 1999.

PESSARAKLI, M.; HUBER, J.T.; TUCKER, T.C. Protein synthesis in green beans under salt stress with two nitrogen sources. *Journal of Plant nutrition*, New York, 12(11): 1361-1377, 1989.

PILLAI, R.R., CHINNAMMA, N.P. Effect of harvest dates on yield and quality of oil in *ocimum grantissimum* L. grow in Cuba. *Journal Essential oil Research*, v.8, p.139-41, 1996.

PUTIEVSKY, E. Temperature and daylenght influences on the growth and germination of swett basil and oregano. *Journal of Horticultural Science*. V.58, n.4, p.583-587, 1983.

RAIJ, B. van & QUAGGIO, A.J. Métodos de análise de solo para fins de fertilidade. Campinas, Instituto Agrônômico, 1983. 31p. (IAC - Boletim técnico, 81).

RAIJ, B. van, CANTARELLA, H., GUAGGIO, J.A., FURLANI, A.M.C. Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo, 2ed. Campinas, Instituto Agrônômico e Fundação IAC, 1996. 285p (Boletim Técnico, 100).

REY, P.; PRUVOT, G.; GILLET, B.; PELTIER, G. Molecular chracterization of two chloroplastic proteins induced by water deficit in *Solanum tuberosum* L. plants: involvment in the response to oxidative stress. In:SMALLWOOD, M.F.; CALVERT, C.M.; BOWLES, D.J. (eds.). *Plant responses to environmental stress*, p. 145-152. Oxford, BIOS Scientific Publishers, 1999.

RIEDL, R.W. Pratical methods for using tea tree oil. *Agro-Food Industry Hi-Tech*, Ballina, set/oct, p. 34-36, 1997.

RIGUEIRO, M.P. *Plantas que curam*. 5 ed. São Paulo: Paulus, 1992. p.95-6.

ROIG, J.T. *Plantas Medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. V.1, 2.ed. Cuidad de La Habana: Editorial Científico – Técnica, 1992. p.131-131.

ROQUE, O.L.R. Composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L.cultivado. *Boletim Fac. Farm.* Coimbra, v.15, n.1, p.47-51, 1991.

ROSA, S.D.V.F.; VON PINHO, E.V.R.; VIEIRA, E.S.N.; VEIGA, R.D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *lea* associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 27, nº 2, p.91-101, 2005.

ROVERATTI, D.S. *Plantas medicinais*. 1.ed. São Paulo: Unimarco, 1999. 128p.

SALIN M.L., BRIDGES S.M.; Isolation and characterization of an iron-containing superoxide dismutase from a eucaryote, *Brassica campestris*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 201, 369-373, 1980.

SALIN, M.L., BRIDGES, S.M; Localization of superoxide dismutase in chloroplasts from *Brassica campestris*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 99, 37-45, 1981.

SANDA, K.; Koba, K.; NAMBO, P.; GASET, A. Chemical investigation of *Ocimum* species growing in Togo. *Flavour and Fragrance Journal*, v.13, n.4, p.226-32, 1998.

SANTOS, C.A.M., TORRES, K.R., LEONART, R. *Plantas medicinais (herbarium, flora et scientia)*. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1988. 160p.

SARADHI, P.P, ALIA, ARORA, S., PRASAD, K.V.S.K. 1995. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. *Biochem.Biophys. Res. Commun.* 209:1-5.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. *Plantas medicinais e aromáticas: Pós colheita e óleos essenciais*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia, 2000.

SILVA, P.A., BLANK, A.F., ARRIGONI-BLANK, M.F., ALVES, P.B., SANTOS, A. L., CARVALHO, J.L.S., AMANCIO, V.F. Efeito da adubação mineral e orgânica e do horário de colheita em manjeriço doce. *Horticultura Brasileira*. V.19, suplemento, 2001.

SILVA, S.R.S.; DEMUNER, A.J.; BARBOSA, L.C.A.; CASALI, V.W.D.; NASCIMENTO, E.A.; PINHEIRO, A.L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca lternifolia* Cheel. *Acta Scientiarum*: Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SIMÕES, C.M.O., SPITZER.V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2. ed., Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2000. p.387-415.

SIMON, J.E. Essential oils and culinary herbs. Aromatic, spice, medicinal, and bioactive plants. In: JANICK J., SIMON, J. *Advances In new crops: proceedings of the first national symposium NEW CROPS, research, Economics*. Indianapolis, Portland, Oregon: Timber Press, 1990. p.472-84.

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

SIMON, J.E., MORALES, M.R., PHIPPEN, W.B., VIEIRA, R.F., HAO, Z. 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.

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

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

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

SOMAL, T. L. C.; YAPA, P. A. J. Accumulation of proline in cowpea under nutrient, drought, and saline stresses. *J. Plant Nutr.*, Motricello, v. 21, n.11, p. 2465-2473, 1998.

STEWART, C. R., S. F. BOGGESS, D. ASPINALL, L. G. *et al.* 1977. Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.* 59:930-932.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Trad. SANTARÉM, E.R. [*et al.*]. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAKANO, T., YAMAMOTO, A. Effect of anion variations in a nutrient solution on basil growth, essential oil content, and composition. *Acta Horticulture*, n.331, p.129-35, 1993.

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

TEIXEIRA, J.P.F.; MARQUES, M.O.M., FURLANI, P.R>; FACANALLI, R. Óleo essencial de duas variedades de manjerição em cultivo hidropônico. *Horticultura Brasileira*, v.18, suplemento especial, p.982-3, 2000.

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

THE MERCK INDEX: *na encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 11. ed. New Jersey: Merck, 1996. 612 p.

THOMAS, J.C.; ARMOND, R.L.; BOHNERT, H.J.; Influence of NaCl on growth, proline and phosphoenolpyruvate carboxylase levels in *Mesembryanthemum crystallinum* suspension cultures. *Plant Physiology*, Rockville, v.98, p. 626-31, 1992.

TORRELLA, W.A.; RICE, L.A. Effect of NaCl stress on Proline and cation accumulation in salt sensitive and tolerant turfgrasses. *Plant and Soil*, The Hague, 93: 241-27, 1986.

TONIN, F.B. *atividade de enzimas antioxidativas e absorção de silício em plantas de pimentão submetidas a estresse salino*. 2005. 93p Dissertação (agronomia-Horticultura) Botucatu, UNESP/FCA,.

TRAPP, S.A.; CROTTEAU, R.D. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. *Genetic*. v.158, p. 811-32, 2001.

VIEIRA, R.F, SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum spp*) found in the markets and used in traditional medicine im Brazil. *Economic. Botany.*, v.54, p.207-16, 2000.

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

WATERMAN, P.G. The chemistry of volatile oils. In HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G. *Volatile oil crops: Their biology, biochemistry and production*. Essex: Longman Group, 1993. p.47-61.

WILLEKENS, H., INZÉ, D., VAN MONTAGU, M. & VAN CAMP, W. 1995. Catalase in plants. *Molecular Breeding*, 1 : 207-228.

ZHANG, J.; KIRKHAM, M.B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. *Journal of Plant Physiology*, v.149, p.489-493, 1996.

ZHUJUN, Z.; GUOQUIANG, W.; JUAN, L.; QIONGQIU, Q.; JINGQUAN, Y. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167:527-533, 2004.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)