

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**USO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA ACLIMATAÇÃO
DO MANJERICÃO AO ESTRESSE SALINO**

Hewsley Her Baleeiro Silva

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2017**

USO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA ACLIMATAÇÃO DO MANJERICÃO AO ESTRESSE SALINO

Hewsley Her Baleeiro Silva
Engenheiro Agrônomo
Universidade Estadual de Montes Claros, 2014

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Agrícola, Área de Concentração: Agricultura Irrigada e Recursos Hídricos.

Orientador: Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

S586u	<p>Silva, Hewsley Her Baleeiro. Uso do peróxido de hidrogênio na aclimação do manjeriço ao estresse salino / Hewsley Her Baleeiro Silva. Cruz das Almas, BA, 2017. 79f.; il.</p> <p>Orientador: André Dias de Azevedo Neto.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Manjeriço – Cultivo. 2.Manjeriço – Tolerância à salinidade. 3.Peróxido de hidrogênio – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 633.88</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**USO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA ACLIMATAÇÃO DO
MANJERICÃO AO ESTRESSE SALINO**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Hewsley Her Baleeiro Silva

Aprovado em: 15 de Fevereiro de 2017

Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas – UFRB
Orientador

Prof. Dr. Hans Raj Gheyi
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas – UFRB
Examinador Interno

Profa. Dra. Franceli da Silva
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas – UFRB
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a Deus, meu Senhor, e todas as pessoas que fazem parte da minha vida, especialmente à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos da superação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado;

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UFRB, seu corpo docente, coordenadores, administradores e a todos servidores desta casa por terem me acolhido, proporcionando a minha formação;

Ao professor e orientador Dr. André Dias de Azevedo Neto, pela orientação, ensinamentos, compreensão e paciência;

Aos meus pais, Natanael de Araújo Silva e Kátia Silene Laranjeira Baleeiro Silva, pelos conselhos, carinho, incentivo e apoio;

Às minhas irmãs, Kathiane e Nathaliane, pela amizade, motivação e cumplicidade;

Aos meus avós (vô Joaquim – in memoriam), tios e demais familiares, pelo carinho, incentivo e apoio;

À minha namorada, Poliana Magalhães, pelo carinho, companheirismo e compreensão;

Aos colegas mestrandos e doutorandos pelo apoio e por estarmos juntos nesta jornada;

Aos amigos e a todos que de alguma forma contribuíram para a conquista deste sonho. Obrigado de coração!

EPÍGRAFE

“Arrisque-se! Toda vida é um risco. O homem que vai mais longe é geralmente aquele que está disposto a fazer e a ousar. O barco da segurança nunca vai muito além da margem.”

(Dale Carnegie)

USO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA ACLIMATAÇÃO DO MANJERICÃO AO ESTRESSE SALINO

RESUMO: A salinidade é um dos maiores problemas enfrentados pela agricultura, sendo um dos efeitos o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, responsável pelo estresse oxidativo. Entretanto, o H₂O₂ em concentrações reduzidas pode aumentar a tolerância contra a salinidade. O manjericão tem despertado grande interesse econômico, sendo cultivado para o comércio *in natura* e principalmente para produção industrial de óleos essenciais. Este trabalho objetivou verificar os efeitos da aplicação de H₂O₂ na produção de óleo e na tolerância do manjericão variedade Gennaro de menta ao estresse salino. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola (PPGEA) e as análises realizadas no Laboratório de Bioquímica, ambos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) em Cruz das Almas, Bahia. Foram conduzidos dois experimentos preliminares, objetivando identificar a concentração e o tempo de exposição ao H₂O₂ capaz de promover maior crescimento da planta em condições de salinidade. Em todos os experimentos as sementes foram germinadas em copos descartáveis contendo fibra de coco e irrigadas com solução nutritiva. Os resultados preliminares indicaram que a aplicação prévia de 1,0 µM de H₂O₂ por 48 h e 1000 µM de H₂O₂ por 24 h foram os tratamentos que produziram maior massa seca foliar. No experimento final, as plântulas foram submetidas a seis tratamentos: T1-0 mM NaCl e 0 µM H₂O₂; T2-80 mM NaCl e 0 µM H₂O₂; T3-80 mM NaCl e 1000 µM H₂O₂/24 h na fase de plântula pré-estresse salino; T4-80 mM NaCl e 1 µM H₂O₂/48 h na fase de plântula pré-estresse salino; T5-80 mM NaCl e 1000 µM H₂O₂/24 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino; T6-80 mM NaCl e 1 µM H₂O₂/48 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino. As plantas foram coletadas aos 15 e 25 dias de estresse, onde foram analisadas, produção de biomassa, teor relativo de água, teores de solutos inorgânicos, orgânicos e de pigmentos e produção do óleo essencial. A aplicação de 1 µM H₂O₂/48 h e sua reaplicação, aos 15 dias de estresse salino, aumentou a produção de massa seca foliar em comparação aos demais tratamentos salinos. Observou-se redução do teor relativo de água e aumento da suculência e do índice de esclerofilia com a salinidade. O aumento da suculência foi mais pronunciado com a aplicação de H₂O₂. A salinidade aumentou os teores de pigmentos apenas na ausência de H₂O₂. Os teores de Cl⁻, Na⁺ e solutos orgânicos aumentaram com a salinidade, sendo este efeito mais pronunciado nos tratamentos que receberam H₂O₂. Observou-se também que, o teor, o rendimento e a produtividade de óleo foram induzidos pela salinidade e pelo H₂O₂. Os resultados indicam que a aplicação de H₂O₂ aumenta a tolerância no manjericão à salinidade e que seu cultivo em hidroponia com água salobra é uma nova tecnologia para a produção de óleo.

Palavras chave: *Ocimum basilicum* L.; Produtividade; Óleo; Salinidade

USE OF HYDROGEN PEROXIDE IN THE ACCLIMATION OF BASIL TO SALT STRESS

ABSTRACT: Salinity is one of the major problems faced by agriculture, one of the effects being the accumulation of reactive oxygen species, responsible for oxidative stress. However, H₂O₂ at low concentrations may increase tolerance of plants against salinity. The basil has aroused great economic interest, being cultivated for the commerce *in natura* and mainly for industrial production of essential oils. This study was carried out with the objective to verify the effects of H₂O₂ application on oil production and tolerance of basil variety Gennaro de menta ao estresse plants to saline stress. The experiment was conducted in a greenhouse of the Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola (PPGEA) [graduate program in agricultural engineering] and analysis were carried out at the Biochemistry Laboratory, both of the Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) in Cruz das Almas, Bahia. Two preliminary experiments were conducted to identify the concentration and time of exposure to H₂O₂ capable of promoting higher plant growth under salinity conditions. In all experiments the seeds were germinated in disposable cups containing coconut fiber and irrigated with nutrient solution. Preliminary results indicated that the previous application of 1,0 µM H₂O₂ for 48 h and 1000 µM H₂O₂ for 24 h were the treatments that produced the highest dry mass of leaves. In the final experiment, the seedlings were submitted to six treatments: T1-0 mM NaCl and 0 µM H₂O₂; T2-80 mM NaCl and 0 µM H₂O₂; T3-80 mM NaCl and 1000 µM H₂O₂/24 h in the pre-salt stress seedling stage; T4-80 mM NaCl and 1 µM H₂O₂/48 h in the pre-salt stress seedling stage; T5-80 mM NaCl and 1000 µM H₂O₂/24 h in the pre-salt stress seedling stage and at 15 days of salt stress; T6-80 mM NaCl and 1 µM H₂O₂/48 h in the pre-salt stress seedling stage and at 15 days of salt stress. The plants were collected after 15 and 25 days of stress and were analyzed for biomass production, relative water content, inorganic and organic solutes, pigment and essential oil production. The application of 1 µM H₂O₂ / 48 h and its reapplication, at 15 days of salt stress, increased leaf dry mass production in comparison to other saline treatments. A reduction was also observed in the relative water content and increase of the succulence and the sclerophilic index with the salinity. The increase of succulence was more pronounced with the application of H₂O₂. Salinity increased the pigment contents only in the absence of H₂O₂. The levels of Cl⁻, Na⁺ and organic solutes increased with the salinity, being this effect more pronounced in the treatments that received H₂O₂. It was also observed that the oil content, yield and productivity were induced by salinity and H₂O₂. The results indicate that the application of H₂O₂ increases the tolerance in basil to salinity and that its hydroponic cultivation with brackish water is a new technology for the production of oil.

Keywords: *Ocimum basilicum* L.; Oil; Productivity; Salinity

LISTAS DE ABREVIATURAS

$\cdot\text{O}_2^-$ - Radical superóxido
 $\cdot\text{OH}$ - Radical hidroxila
 $^1\text{O}_2$ - Oxigênio singleto
AF - Área foliar
Cl a - Clorofila a
Cl b - Clorofila b
Car - Carotenóides
Cl a /Cl b - Relação clorofila a / clorofila b
Cl t - Clorofila total
Cl t /Car - Relação clorofila total / carotenóides
Cl $^-$ - Íon cloreto
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
Figura - Figura
 H_2O_2 - Peróxido de hidrogênio
ha - Hectare
IE - Índice de esclerofilia
ISO - *Internacional Standard Organization*
 K^+ - Íon potássio
MFF - Massa fresca das folhas
MSC - Massa seca do caule
MSF - Massa seca das folhas
MSPA - Massa seca da parte aérea
N - Número plantas por m^{-1} linear
 Na^+ - Íon sódio
NaCl - Cloreto de sódio
PPGEA - Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola
P - Produtividade
PF - Peso fresco
PS - Peso seco
PT - Peso túrgido
 r - Raio
R - Rendimento
ROS - Espécies reativas de oxigênio
SN - Solução nutritiva
Suc - Suculência foliar
T - Tratamento
TRA - Teor relativo de água
TO - Teor de óleo
UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
V - Volume

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1.** Produção de massa seca das folhas (A), caule (B) e parte aérea (C), teor relativo de água (D), succulência (E) e índice de esclerofilia (F) de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. As plantas foram submetidas a seis tratamentos: T1-0 mM NaCl e 0 μM H_2O_2 ; T2-80 mM NaCl e 0 μM H_2O_2 ; T3-80 mM NaCl e 1000 μM $\text{H}_2\text{O}_2/24$ h na fase de plântula pré-estresse salino; T4-80 mM NaCl e 1 μM $\text{H}_2\text{O}_2/48$ h na fase de plântula pré-estresse salino; T5-80 mM NaCl e 1000 μM $\text{H}_2\text{O}_2/24$ h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino; T6-80 mM NaCl e 1 μM $\text{H}_2\text{O}_2/48$ h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino. Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade29
- Figura 2.2.** Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila total (C), carotenóides (D) e razões clorofila *a*/clorofila *b* (E) e clorofilas/carotenóides (F) de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.131
- Figura 2.3.** Teores de cloreto (A, B), sódio (C, D) e potássio (E, F) em folhas e caule de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.133
- Figura 2.4.** Teores de carboidratos solúveis (A), aminoácidos livres (B), proteína solúveis (C) e prolina livre (D) de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.134
- Figura 2.5.** Teores, rendimentos e produtividades de óleo essencial de folhas de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.136

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
1. REVISÃO DE LITERATURA	1
1.1. REFERÊNCIAS	10
CAPÍTULO 2	19
2. RESUMO	20
2.1. ABSTRACT	21
2.2. INTRODUÇÃO	22
2.3. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.3.1. <i>Material vegetal, condições de crescimento e tratamentos</i>	23
2.3.2. <i>Produção de biomassa e teor relativo de água</i>	24
2.3.3. <i>Análises de solutos inorgânicos e orgânicos</i>	25
2.3.4. <i>Teores de pigmentos</i>	26
2.3.5. <i>Extração do óleo essencial</i>	26
2.3.6. <i>Análise estatística</i>	27
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
2.5. CONCLUSÕES	37
2.6. REFERÊNCIAS	37
3. ANEXOS	43

CAPÍTULO 1

1. REVISÃO DE LITERATURA

A salinidade é um dos maiores problemas enfrentados pela agricultura mundial, principalmente em regiões áridas e semiáridas, como o Nordeste brasileiro (COVA et al., 2016). Esta pode ser definida como uma situação em que se tem um excesso de sais solúveis no ambiente radicular das plantas. A salinidade pode ser causada pela ascensão capilar dos sais oriundos da desintegração de minerais presentes nos solos e nas rochas, quando a água é evaporada ou consumida (MONTEZ, 2014). Entretanto, o uso excessivo de fertilizantes, a falta de drenagem adequada e a utilização de águas salobras na irrigação têm sido considerados os principais fatores que contribuem para a salinização dos solos (SILVA et al., 2008; GENHUA; RAUL, 2010).

Um outro problema que dificulta a produção agrícola nas regiões semiáridas é o da qualidade da água disponível, que apresenta alto índice de salinidade, podendo variar de 0,1 a 5,0 dS m⁻¹ (COSTA; HOLANDA; FIGUEIREDO FILHO, 2004; GENHUA; RAUL, 2010; ALADOS et al., 2011). Tendo em vista a necessidade da economia de água e da preservação ambiental, muitos estudos têm sido realizados para investigar a possível utilização de águas salobras na produção agrícola, principalmente em sistemas hidropônicos. A hidroponia pode ser definida como uma técnica para cultivo de plantas em solução nutritiva, com ou sem substratos, ou seja, onde não tem a presença do solo. O preparo da solução nutritiva é feito com água e fertilizantes, atentando-se para o pH e a concentração de nutrientes, que devem ser adequados para cada cultura. O cultivo hidropônico pode ser do tipo fechado, onde se tem uma recirculação da solução nutritiva, e do tipo aberto, neste caso não ocorre a recirculação e uma vez que solução nutritiva passa pelo ambiente radicular, esta não é reaproveitada, podendo ocasionar prejuízos financeiros e contaminação ambiental (RODRIGUES, 2002; SOARES et al., 2010).

A utilização da hidroponia pode ser mais uma opção para essas regiões, visto que permite o uso de águas salobras de uma forma mais eficiente, como é o caso do sistema hidropônico fechado. Esse sistema permite o destino correto da solução nutritiva ao final do ciclo de produção da cultura, evitando a salinização dos solos. Adicionalmente, tem-se grande economia de água, uma vez que a quantidade

utilizada é bem menor que no cultivo convencional, o que é muito útil devido à escassez hídrica (SOARES et al., 2010).

Vários trabalhos têm sido realizados utilizando águas salobras em sistemas hidropônicos com diversas culturas. Paulus et al. (2010) avaliaram a produção e os indicadores fisiológicos de alface cultivada em hidroponia com a utilização de água salina, e concluíram que é possível o cultivo hidropônico com uso da água salina, porém com redução de produtividade. Lima et al. (2015) avaliaram o efeito da salinidade (0,2; 1,2; 2,2; 3,2; 4,2 e 5,2 dS m⁻¹) em parâmetros biométricos da alface americana e observaram que o aumento da salinidade da água proporcionou redução dos parâmetros avaliados, com exceção do número de folhas que não foi influenciado. Dantas (2012) avaliou o emprego de águas salobras no crescimento, rendimento e aspectos nutricionais no agrião e na couve chinesa, observando que a salinidade reduziu o crescimento e o rendimento e alterou a absorção de todos os íons analisados para ambas as culturas. Maciel et al. (2012) analisaram o uso de águas salobras sobre o rendimento e qualidade da inflorescência de girassol ornamental, concluindo que a salinidade da água, mesmo proporcionando uma condutividade elétrica da solução nutritiva de até 16,36 dS m⁻¹, não prejudicou o tamanho da inflorescência do girassol ornamental 'Sol Vermelho' nem a qualidade comercial da sua haste, quando cultivado em hidroponia NFT. Bione et al. (2014) avaliaram os efeitos de águas salobras em relação ao crescimento e à produção de plantas de manjeriço em hidroponia e observaram uma redução no seu crescimento em altura final e no acúmulo de massas de matéria fresca e seca na parte aérea.

Apesar da possibilidade de cultivo hidropônico com águas salobras, estas tendem a diminuir a produtividade das culturas (PAULUS et al., 2010; DANTAS, 2012), o que torna necessário o estudo de medidas que possam induzir um aumento de tolerância à salinidade nas culturas.

A salinidade reduz a produtividade das culturas devido aos efeitos causados pelas dificuldades de absorção de água, toxicidade de íons específicos e pela interferência dos sais nos processos fisiológicos (DIAS; BLANCO, 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013). Os efeitos osmótico e iônico são os que mais afetam as plantas sob condições salinas, alterando a absorção de água e nutrientes, a integridade das membranas, as trocas gasosas, o metabolismo, o balanço hormonal e reduzem a expansão e divisão celular (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015). No entanto, o nível

com que o estresse salino afeta a cultura depende de fatores intrínsecos da planta (genótipo e estágio de desenvolvimento), fatores relacionados com o estresse (tipo de salinidade, intensidade, duração e forma de aplicação do estresse) e fatores ambientais (luz, temperatura, umidade relativa do ar e sistema de cultivo), bem como da interação entre eles (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000; AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

O efeito osmótico dificulta a absorção de água e nutrientes pelas plantas, pois a presença de sais em excesso na solução reduz seu potencial hídrico, ocasionando uma escassez hídrica na planta (MUNNS; TESTER, 2008; DIAS; BLANCO, 2010). Entretanto, as espécies vegetais não são afetadas igualmente pela mesma concentração salina e são classificadas em glicófitas ou halófitas, dependendo do grau de tolerância aos sais. As glicófitas são sensíveis e tendem a excluir os sais no processo de absorção da água do solo e são pouco eficientes na realização do ajustamento osmótico necessário para a absorção de água (WILLADINO; CAMARA, 2010). As halófitas são tolerantes e possuem alterações morfofisiológicas para exclusão e/ou compartimentalização dos íons tóxicos e realizam o ajustamento osmótico eficientemente, o que permite a sobrevivência em meio altamente salino (DIAS; BLANCO, 2010).

O ajustamento osmótico ou osmorregulação é um processo pelo qual o potencial hídrico pode ser reduzido sem que haja diminuição da turgescência ou do volume celular e resulta do aumento líquido no conteúdo de solutos na célula (TAIZ; ZEIGER, 2013). Ele é regulado e mantido pela acumulação de íons inorgânicos e de solutos orgânicos de baixa massa molecular (solutos compatíveis), permitindo manter a absorção de água e a pressão de turgescência celular o que pode contribuir para a manutenção de processos fisiológicos, tais como abertura estomática, fotossíntese, divisão e expansão celular. Assim, o ajustamento osmótico é um importante mecanismo de aclimação das plantas às condições de seca ou de salinidade e ocorre tanto em halófitas como em glicófitas (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

Sob condições de salinidade e seca, o íon K^+ e os solutos orgânicos são de grande importância para o ajustamento osmótico em células com pouca vacuoladas, enquanto os íons K^+ , Na^+ e Cl^- são os principais solutos em células altamente vacuoladas (WYN JONES; GORHAM, 1983).

Em células vacuoladas submetidas a salinidade, a compartimentação

subcelular é um fator chave para a acumulação de solutos. Altas concentrações de íons no citosol podem inibir severamente as enzimas das células vegetais. Assim, um importante mecanismo de proteção é a compartimentalização de íons nos vacúolos, que contribuem para o ajustamento osmótico sem afetar as atividades enzimáticas do citoplasma. Nessas células, a síntese e acumulação de compostos orgânicos é responsável pela manutenção do balanço hídrico entre o vacúolo e o citoplasma (TAIZ; ZEIGER, 2013). Além disso, o acúmulo de solutos orgânicos no citoplasma pode proteger as membranas celulares, as proteínas e a maquinaria metabólica podendo preservar a estrutura subcelular dos danos resultantes da desidratação celular. Como o volume do citoplasma nas células do mesófilo e do córtex radicular é, em média, 10% do volume celular total, a quantidade de carbono necessária para a síntese de solutos orgânicos para o ajustamento osmótico é relativamente pequena (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

O efeito iônico, ocorre devido à absorção excessiva de íons. Normalmente, os íons acumulados sob estresse salino são Cl^- e Na^+ . O acúmulo do Na^+ geralmente interfere nos processos fisiológicos e bioquímicos dependentes do K^+ , resultando em alterações metabólicas desfavoráveis ao desenvolvimento da planta (MEKAWY et al., 2015).

Os íons Na^+ e Cl^- podem ser absorvidos principalmente pelo sistema radicular. Entretanto, na maioria das plantas, as raízes excluem esses sais durante a absorção de água (MUNNS; TESTER, 2008). A absorção excessiva desses íons pode levar à toxidez iônica e diminuir significativamente a produtividade. Esta redução vai depender do tempo de exposição da planta aos sais, da concentração destes no meio externo e do nível de tolerância da planta à salinidade (DIAS; BLANCO, 2010).

O Na^+ é uma citotoxina que pode desestabilizar proteínas e membranas, causar distúrbios nutricionais, prejudicar processos fisiológicos como a expansão e divisão celular e alterar o metabolismo primário e secundário (MUNNS; TESTER, 2008; SOUSA; BEZERRA; FARIAS, 2011). Na maioria das plantas, o principal local de toxicidade do Na^+ é a folha, onde ele é acumulado depois de ter sido depositado do fluxo de transpiração (MUNNS, 2002). Os sintomas típicos da toxidez do Na^+ aparecem em forma de queimaduras ou necroses, ao longo das bordas. No início, surgem nas bordas das folhas mais velhas e se espalham progressivamente na área internervural, até o centro das folhas (DIAS; BLANCO, 2010).

O excesso de Cl^- reduz a capacidade fotossintética e o rendimento devido à degradação da clorofila, podendo causar um impacto estrutural no fotossistema II (MARSCHNER, 2012). O sintoma de toxidez do Cl^- é a queimadura do ápice e bordas das folhas novas e, em estágios avançados, a queda prematura das mesmas (DIAS; BLANCO, 2010).

Para manter as homeostases osmótica e iônica, além dos solutos inorgânicos (Na^+ , Cl^- e K^+) as plantas acumulam solutos orgânicos (carboidratos solúveis, aminoácidos livres, proteínas solúveis, quaternários de amônio, poliácidos, etc.), diminuindo o potencial hídrico e favorecendo a absorção de água. Este mecanismo é essencial para manter o crescimento das plantas cultivadas em ambiente salino (MUNNS; JAMES; LAUCHLI, 2006; SILVEIRA et al., 2009).

Ao contrário dos solutos inorgânicos, os solutos orgânicos, mesmo a altas concentrações, não interferem com o metabolismo celular normal (SAIRAM; TYAGI, 2004). Por esta razão, estes compostos são chamados de solutos compatíveis. Embora as moléculas destes compostos não sejam muito carregadas, são polares, altamente solúveis e têm uma grande camada de hidratação. Assim, elas são facilmente solubilizadas podendo interagir diretamente com as macromoléculas (SAIRAM; TYAGI, 2004) e não interferem com a função e estrutura da proteína, aliviando os efeitos inibitórios de altas concentrações iônicas na atividade enzimática (BOHNERT; SHEN, 1999). Embora haja um custo energético elevado para sintetizar estes compostos orgânicos à custa do crescimento da planta, o benefício de custo é positivo uma vez que este mecanismo permite a sobrevivência e recuperação da planta em ambientes externos com alta concentração de sais (MUNNS; TESTER, 2008).

Em concentrações elevadas, os solutos compatíveis certamente trabalham para ajuste osmótico. As maiores concentrações desses solutos residem principalmente no citosol, promovendo o balanço hídrico entre o apoplasto, o citoplasma e o vacúolo (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000). Sob condições de estresse, estes solutos podem ser acumulados em quantidades tão grandes quanto 5 a 10% do peso de matéria seca do tecido (NAIDU; PALEG; JONES, 1992). Além de seu papel estritamente osmótico, alguns solutos orgânicos podem auxiliar na estabilização de proteínas, complexos protéicos e membranas, na manutenção das homeostases osmótica e iônica, e como uma reserva de carbono e nitrogênio (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000).

Entre os solutos orgânicos, os carboidratos solúveis e os aminoácidos livres são considerados os mais importantes no ajustamento osmótico, visto que apresentam teores bem mais altos que os demais (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015; COVA, 2016).

As proteínas solúveis também podem ter seus teores alterados em condições salinas, podendo ocorrer um acúmulo de proteínas de baixa massa molecular, também chamadas proteínas do estresse. Estas podem atuar assegurando o funcionamento normal das membranas e na sinalização das respostas à salinidade (WAHID et al., 2007; AZEVEDO NETO; PRISCO; GOMES-FILHO, 2009; CUNHA et al., 2013). Além disso, o seu acúmulo pode servir como fonte de armazenamento de nitrogênio que pode ser mobilizado após o alívio ou remoção do estresse (PARIDA; DAS, 2005).

A prolina é um soluto que, quando acumulado, pode ser visto como um indicador da tolerância a diversos estresses. Entretanto, seu papel na aclimação à salinidade ainda é controverso, visto que não é sabido se seu acúmulo nos tecidos das plantas estressadas proporciona uma vantagem adaptativa ou é apenas uma consequência das alterações metabólicas induzidas pelo estresse (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015). Neste cenário, várias funções têm sido atribuídas ao acúmulo de prolina, como estabilização de membranas e proteínas, remoção de radicais livres, manutenção da homeostase redox celular, reserva de carbono e nitrogênio, controle do pH citosólico e desintoxicação do excesso de NH_4^+ . (PARIDA; DAS, 2005; AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

O estresse salino também induz o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*), que são responsáveis pelo estresse oxidativo. Uma vez que são altamente reativas, estas podem alterar o metabolismo celular, causando danos oxidativos nos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, além de afetar as propriedades da membrana celular, podendo levar à destruição oxidativa das células.

As plantas apresentam sistemas antioxidativos de defesa (não enzimáticos e enzimáticos) presentes em diversos compartimentos subcelulares que, usualmente, são suficientes para evitar o dano oxidativo durante períodos de crescimento sob condições normais e de estresse moderado (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000). Entretanto, quando estressadas severamente, a produção de ROS pode exceder a capacidade de neutralização dos sistemas antioxidativos,

podendo causar o dano oxidativo (KANG; SALTVEIT, 2001). Os sistemas não enzimáticos incluem antioxidantes de baixa massa molecular, hidrofílicos, como o ácido ascórbico e a glutathione reduzida, ou lipofílicos, como o α -tocoferol e os carotenóides (McKERSIE; LESHEM, 1994). Os enzimáticos incluem as enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidases não específicas (POX) e as enzimas do ciclo ascorbato-glutathione (ou via enzimática Halliwell-Asada): peroxidase do ascorbato (APX), redutase do monodesidroascorbato (MDHAR), redutase do desidroascorbato (DHAR) e redutase da glutathione (GR) (SHALATA et al., 2001).

A produção de ROS, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido ($\cdot O_2^-$) e o radical hidroxila ($\cdot OH$), ocorre naturalmente em processos metabólicos que dependem do oxigênio molecular (O_2). Entre estes, destacam-se a respiração aeróbica (mitocôndrias), a fotossíntese (cloroplastos) e a fotorrespiração (peroxissomos), podendo ocorrer aumento dessa produção quando a planta é submetida a algum estresse (MILLER et al., 2010; BARBOSA et al., 2014; AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

Em plantas, tem sido aceito que as ROS, ao lado de outros mediadores tais como o Ca^{2+} , atuam como mensageiros secundários nas respostas aos estresses bióticos e abióticos e na sinalização hormonal (PEI et al., 2000). Dessa forma, devido as diversas condições de estresse causarem o desequilíbrio redox celular, os sinais redox são considerados, atualmente, reguladores chave do metabolismo, morfologia e desenvolvimento vegetais (FOYER; NOCTOR, 2003).

O H_2O_2 é a ROS com menor reatividade e maior período de meia-vida e difunde-se facilmente por entre as membranas celulares, inclusive, segundo Henzler e Steudel (2000), movimentando-se pelos canais de transporte de água na membrana plasmática, os aquaporinas. Essa característica torna-o uma importante molécula sinalizadora, que prepara a planta contra estresses de diferentes tipos (PETROV; VAN BREUSEGEM, 2012; CHRISTOU; MANGANARIS; FOTOPOULOS, 2014; HOSSAIN et al., 2015). O H_2O_2 pode atuar de duas formas nas plantas: em altas concentrações provoca estresse oxidativo além de ativar a morte programada da célula e, em concentrações reduzidas, ele age como uma molécula mensageira envolvida na sinalização da aclimatação, aumentando a tolerância contra estresses abióticos (VANDENABEELE et al., 2003; AZEVEDO NETO et al., 2005). Deste modo, parece provável que o acúmulo de H_2O_2 , em tecidos específicos e em

quantidades apropriadas, pode ser um fator chave mediando os fenômenos da aclimação e da tolerância cruzada, em que a exposição prévia a um estresse pode induzir, respectivamente, tolerância à exposição subsequente do mesmo ou de diferentes estresses (BOWLER; FLUHR, 2000).

De acordo Petrov e Van Breusegem (2012) o H₂O₂ é um regulador de múltiplos processos fisiológicos, como reforço da parede celular, senescência, produção de fitoalexinas, fotossíntese, abertura estomática e ciclo celular.

Diversos autores reportaram que a aplicação exógena de H₂O₂ aumentou a tolerância ao estresse salino em milho (AZEVEDO NETO et al., 2005; GONDIM et al., 2011), morango (CHRISTOU; MANGANARIS; FOTOPOULOS, 2014); e arroz (CARVALHO et al., 2011).

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é originário do Sudoeste Asiático e da África central, pertence ao gênero *Ocimum*, que apresenta cerca de 150 espécies, sendo um dos maiores gêneros da família Lamiaceae (PUSHPANGADAN; BRADU, 1995). Esta compreende aproximadamente 300 gêneros e 7500 espécies, dos quais, 26 gêneros e cerca de 350 espécies são encontrados no Brasil (SOUZA; LORENZI, 2005). Tais espécies estão distribuídas pela Ásia Tropical, África, América Central e América do Sul (SOBOTI; POUHPANGADAN, 1982; KHOSLA, 2000; PRAVUSCHI; RIGOLIN; MARQUES, 2007). É uma cultura herbácea, que se multiplica por sementes e estacas, e pode atingir até 1,0 m de altura, permitindo sua classificação como arbusto. É uma planta que pode ser anual ou perene dependendo do clima, da variedade ou da cultivar. (COUTO, 2006; LORENZI; MATOS, 2008).

É amplamente cultivado em muitos países sob condições naturais e cultivos protegido. Apesar de ser considerada uma espécie de climas temperados a temperados-quentes, adaptou-se ao clima tropical sendo cultivada em todo o Brasil em hortas domésticas para uso condimentares e medicinal. As temperaturas ótimas de crescimento situam-se entre os 15 e 25 °C. Prefere solos francos, ricos em matéria orgânica, mas com boa drenagem e pH ente 6,0 e 7,5. O cultivo em ambiente protegido proporciona uma melhor produção do manjeriço, normalmente, apresentando folhas grandes, que podem ser preferidas pelo mercado. A germinação das plantas ocorre geralmente entre 5 a 7 dias, após a sementeira (LORENZI; MATOS, 2008).

O manjeriço é uma planta aromática, que tem despertado grande interesse econômico. Podendo ser utilizada, na culinária, apresentando um sabor diferenciado

devido a sua folhagem; na medicina, no tratamento de tosses, diarreias, dores de cabeça, febre; e ornamentação de jardins. É cultivada para o comércio *in natura* e principalmente para produção industrial de óleos essenciais (HOLM, 1999; VIEIRA; SIMON, 2000; LORENZI; MATOS, 2008). O óleo extraído dessa cultura, é um produto do metabolismo secundário, que atua na produção de compostos que garantem vantagens adaptativas à sobrevivência e à perpetuação da espécie, por exemplo, compostos de defesa e atrativos para insetos polinizadores, é rico em compostos fenólicos, usado nas indústrias farmacêuticas, e é uma fonte de compostos aromáticos que apresentam propriedades biológicas, como repelente, nematicida, agentes antibacterianos e antifúngicos e antioxidantes (JULIANI; SIMON, 2002; LEE et al., 2005; TAI; ZEIGER, 2013).

A ISO (*Internacional Standard Organization*) define óleos essenciais como sendo matéria prima de origem vegetal, obtidos pelos processos de extração, como hidrodestilação, por exemplo. Esses óleos podem ser encontrados em sementes, raízes, rizomas, cascas, troncos, galhos, folhas, flores ou frutos, podem diferir em composição química, odores e características físico-químicas, apesar de apresentarem aspecto e cor semelhantes. Segundo Alves et al. (2015) as maiores concentrações de óleos essenciais ficam nas folhas, cálices forais, canais secretores e pêlos glandulares.

Os óleos essenciais são compostos principalmente por terpenoides voláteis, produzidos pelo metabolismo secundário de plantas aromáticas. Os principais compostos que formam um óleo essencial pertencem às classes químicas dos monoterpenos oxigenados, monoterpenos, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados (MEIRELES, 2009)

O teor de óleo essencial no manjeriço pode ser alterado quando a planta é exposta a estresses, como deficiência hídrica, salinidade e presença de metais pesados. No entanto, o efeito do estresse sobre o teor de óleo pode variar dependendo de fatores do estresse (tipo, intensidade e duração) e da planta (variedade e estágio de desenvolvimento) (ALVES et al., 2015; JESUS et al., 2016). Segundo Ekren et al. (2012) a produção de óleo aumentou significativamente em plantas sob estresse hídrico, já Bernstein et al. (2010) observaram o aumento da produção em plantas sob estresses salino. No entanto, de acordo Alves et al. (2015) a salinidade não influenciou os teores de óleo essencial em manjeriço.

1.1. REFERÊNCIAS

ALADOS, C. L.; PUIGDEFÁBREGAS, J.; MARTINEZ-FERNANDEZ, J. Ecological and socio-economical thresholds of land and plant-community degradation in semi-arid Mediterranean areas of southeastern Spain. **Journal of Arid Environments**, London, v. 75, n. 12, p. 1368-1376, 2011.

ALVES, L. S.; PAZ, V. P. S.; SILVA, A. J. P.; OLIVEIRA, G. X. S.; OLIVEIRA, F. E. R.; AMORIM, E. L. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de plantas de manjeriço submetidas ao estresse salino com NaCl. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Campinas, v. 17, n. 4, p. 807-813, 2015.

AZEVEDO NETO, A. D. PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; MEDEIROS, J. V. R.; GOMES-FILHO, E. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 162, n. 10, p. 1114-1122, 2005.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Changes in soluble amino-N, soluble proteins and free amino acids in leaves and roots of salt-stressed maize genotypes. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2009.

AZEVEDO NETO A. D.; SILVA E. C. Physiology and biochemistry of salt stress tolerance in plants. In: Chakraborty, U.; Chakraborty, B. (Ed.). **Abiotic stresses in crop plants**. Wallingford: CABI, 2015. Cap. 6, p. 81-101.

BARBOSA, M.R. SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L. G.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BERNSTEIN, N.; KRAVCHIK, M.; DUDAI, N. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum*) in relation to alterations of morphological development. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.156, n.2, p.167-177, 2010.

BIONE, M. A. A.; PAZ, V. P. S.; SILVA, F.; RIBAS, R. F.; SOARES, T. M. Crescimento e produção de manjeriço em sistema hidropônico NFT sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 12, p. 1228-1234, 2014.

BOHNERT, H.J.; SHEN, B. Transformation and compatible solutes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 78, n. 1-4, p. 237-260, 1999.

BOWLER, C.; FLUHR, R. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 5, n.6, p. 241-246, 2000.

BRAY, E.A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: Buchanan, B.B., Gruissem, W. and Jones, R.L. (ed.) **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1158-1203.

CARVALHO, F. E. L.; LOBO, A. K. M.; BONIFACIO, A.; MARTINS, M. O.; LIMA NETO, M. C.; SILVEIRA, J. A. G. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 4, p. 416-423, 2011.

CHRISTOU, A.; MANGANARIS, G. A.; FOTOPOULOS, V. Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 107, n. 1, p. 46-54, 2014.

COSTA, D. M. A.; HOLANDA, J. S.; FIGUEIREDO FILHO, O. A. Caracterização de solos quanto a afetação por sais na Bacia do Rio Cabugi - Afonso Bezerra, RN. **Revista Holos**. Afonso Bezerra, v. 2, n. 1, p. 112-125, 2004.

COUTO, M. E. O. **Coleção de plantas medicinais aromáticas e condimentares**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006, p. 91.

COVA, A. M. W. **Respostas fisiológicas e bioquímicas do noni (*morinda citrifolia* L.) ao estresse salino.** 2016. 103 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.

COVA, A. M. W.; Azevedo Neto, A. D.; Ribas, R. F.; Gheyi, H. R.; Menezes, R. V. Inorganic solute accumulation in noni (*Morinda citrifolia* Linn) under salt stress during initial growth. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 11, n. 35, p. 3347-3354, 2016.

CUNHA, P. C.; MENDES, B. S. S.; OLIVEIRA FILHO, R. A.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L. G. Crescimento, síntese de solutos orgânicos e equilíbrio iônico de plântulas de pinhão-manso sob estresse salino. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, n. 3, p. 46-52, 2013.

DANTAS, R. M. L. **Hidroponia utilizando águas salobras nos cultivos de agrião e couve chinesa.** 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (ed.). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados.** Fortaleza: INCTSal, 2010, Cap. 9, p. 130-141.

EKREN, S.; SONMEZ, C.; OZÇAKAL, E.; KURTTAS, Y. S. K.; BAYRAM, E.; GURGULU, H. The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v.109, n. 1, p.155-161, 2012.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.119, n. 3, p. 355-364, 2003.

GENHUA, N.; RAUL, C. Growth and physiological responses of landscape plants to saline water irrigation: A Review. **Hortscience**, Virgínia, v. 45, n. 11, p. 1065-1609, 2010.

GONDIM, F. A. ENÉAS-FILHO, J.; MARQUES, E. C.; PRISCO, J. T. Efeitos do H₂O₂ no crescimento e acúmulo de solutos em plantas de milho sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 373-381, 2011.

HENZLER, T.; STEUDEL, E. Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in *Chara corallina*: model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of H₂O₂ across water channels. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 2053-2066, 2000.

HOLM, Y. Bioactivity of basil. In Hiltunen, R.; Holm, Y. (ed.). **Basil: The genus Ocimum**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, v. 10, 1999, p. 113-135.

HOSSAIN, M. A.; BHATTACHARJEE, S.; ARMIN, S. M.; QIAN, P.; XIN, W.; LI H. Y.; BURRITT, D. J.; FUJITA, M.; TRAN, L. S. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**. Melbourne, v. 6, n. 420, p. 1-19, 2015.

JESUS, D. S.; AZEVEDO, B. O.; PINELLI, M. S.; KORN, M. G. A.; AZEVEDO NETO, A. D.; LUCCHESI, A. M.; OLIVEIRA, L. M. Growth and volatile compounds of *Martianthus leucocephalus* exposed to heavy metal stress. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 12, p. 2110-2117, 2016.

JULIANI, H. R.; SIMON, J. E. Antioxidant activity of basil. In: JANIC, J.; WHIPKEY, A. (ed.), **Trends in new crops and new uses**. Alexandria: ASHS Press, 2002, p. 575–579.

KANG, H. M.; SALTVEIT, M. E. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 113, n. 4, p. 548-556, 2001.

KHOSLA, M. K.; SOBOTI, S. N. Karyomorphological studies in genus *Ocimum* II. Sanctum group. **Cytologia**, Tokyo, v. 50, n. 2, p. 523-563, 2000.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LIMA, B. L. C. SOARES, H. R.; SILVA, E. F. F.; SILVA, G. F.; SILVA, M. A.; DANTAS, D. C. Influência da salinidade em parâmetros biométricos da alface americana cultivada com águas salobras em sistema hidropônico. In: III INOVAGRI International Meeting, p. 2431-2441, 2015, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: III INOVAGRI, 2016.

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

MACIEL, M. P.; SOARES, T. M.; GHEYI, H. R.; REZENDE, E. P. L.; OLIVEIRA, G. X. S. Produção de girassol ornamental com uso de águas salobras em sistema hidropônico NFT. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.16, n. 2, p.165-172, 2012.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. 651 p.

McKERSIE, B. D.; LESHEM, Y. Y. **Stress and stress coping in cultivated plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishes, 1994. 256p.

MEIRELES, M.A.A. **Extracting bioactive compounds for food products: theory and applications**. Boca Ranton: CRC, 2009. 464p.

MEKAWY, A. M.; ASSAHA, D. V.; YAHAGI, H.; TADA, Y.; UEDA, A.; SANEOKA, H. Growth, physiological adaptation, and gene expression analysis of two Egyptian rice cultivars under salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 87, n.1, p.

17-25, 2015.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 453-467, 2010.

MONTEZ, A. C. M. **Exposição e acumulação de elementos potencialmente tóxicos em manjericão (*Ocimum basilicum*)**, 2014, 63 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) Instituto Superior de Agronomia Lisboa, 2014.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**. Logan, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R., JAMES, R. A., LAUCHLI, A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 5, p. 1025-1043, 2006.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, n. 1, p. 651-681, 2008.

NAIDU, B.P.; PALEG, L.G.; JONES, G.P. Nitrogenous compatible solutes in drought-stressed *Medicago* spp. **Phytochemistry**, v. 31, p. 1195-1197, p. 1992.

PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 60, n. 3, p. 324-349, 2005.

PAULUS, D.; DOURADO NETO, D.; FRIZZONE, J. A.; SOARES, T. M. Produção e indicadores fisiológicos de alface sob hidroponia com água salina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 29-35, 2010.

PETROV, V. D.; VAN BREUSEGEM, F. Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. **AoB Plants**, Oxford, v. 2012, n.1, p. 1-13, 2012.

PEI, Z. M.; MURATA, Y.; BENNING, G.; THOMINE, S.; KLUSENER, B.; ALLEN, G. J.; GRILL, E.; SCHROEDER, J. I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. **Nature**, New York, v. 406, n. 6796 p. 731-734, 2000.

PRAVUSCHI, P. R.; RIGOLIN, B. H. M.; MARQUES, P. A. A. Manjerição irrigado: alternativa à extração predatória do pau-rosa. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, São Paulo, v. III, p. 64-78, 2007.

PUSHPANGADAN, P.; BRADU, B. L. Basil. In: CHADHA, K. L.; GUPTA, R. (ed). **Advances in horticulture, medicinal and aromatic plants**. 11. ed. New Delhi: Malhotra Publishing House, 1995, p. 627-657.

RODRIGUES, L. R. F. **Técnicas de cultivo hidropônico e de controle ambiental no manejo de pragas, doenças e nutrição vegetal em ambiente protegido**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 762p.

SAIRAM, R.K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science**, Bengaluru, v. 86, n. 3, 407-421, 2004.

SHALATA, A.; MITTOVA, V.; VOLOKITA, M.; GUY, M.; TAL, M. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.112, n.3, p.487-494, 2001.

SILVA, M. O. FREIRE, M. B. G. S.; MENDES, A. M. S.; FREIRE, F. J.; SOUSA, C. E. S.; GÓES, G. B. Crescimento de meloeiro e acúmulo de nutrientes na planta sob irrigação com águas salinas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 12, n. 6, p. 593-605, 2008.

SILVEIRA, J. A. G.; ARAÚJO, S. A. M.; LIMA, J. P. M. S.; VIÉGAS, R. A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 1-8, 2009.

SOARES, T. M.; DUARTE, S. N.; SILVA, E. F. F.; PAZ, V. P. S.; BARCELOS-OLIVEIRA, J. L. Uso de águas salobras em sistemas hidropônicos de cultivo. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010, Cap. 19, p. 337-366.

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

SOUSA, A. B. O.; BEZERRA, M. A.; FARIAS, F. C. Germinação e desenvolvimento inicial de clones de cajueiro comum sob irrigação com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 4, p. 390-394, 2011.

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

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

VANDENABEELE S.; KELEN, K. V. D.; DAT, J.; GADJEV, I.; BOONEFAES, T.; MORSA, S.; ROTTIERS, P.; SLOOTEN, L.; MONTAGU, M. V.; ZABEAU, M.; INZÉ, D.; BREUSEGEM, F. V. Comprehensive analysis of hydrogen peroxide-induced gene expression in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington; v. 100, n. 26, p.16113-16118, 2003.

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

WAHID, A. PERVEEN, M.; GELANI, S.; BASRA, S. M. Pretreatment of seed with

H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. **Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 164, n. 3, p. 283-294, 2007.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 6, n. 11, p. 1-23, 2010.

WYN JONES, R.G.; GORHAM, J. Osmoregulation. In: LANGE, D.L.; NOBEL, P.S.; OSMOND, C.B.; ZIEGLER, H. (ed.) **Encyclopedia of Plant Physiology**: physiological plant ecology III - Response to chemical and biological environment. Berlin: Springer-Verlag, 1983. p. 35-58.

CAPÍTULO 2

Uso do peróxido de hidrogênio na aclimação do manjeriço ao estresse salino

2. RESUMO	20
2.1. ABSTRACT	21
2.2. INTRODUÇÃO	22
2.3. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.3.1. <i>Material vegetal, condições de crescimento e tratamentos</i>	23
2.3.2. <i>Produção de biomassa e teor relativo de água</i>	24
2.3.3. <i>Análise de solutos inorgânicos e orgânicos</i>	25
2.3.4. <i>Teores de pigmentos</i>	26
2.3.5. <i>Extração de óleo essencial</i>	26
2.3.6. <i>Análise estatística</i>	27
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
2.5. CONCLUSÕES	37
2.6. REFERÊNCIAS	37
3. ANEXOS	43

2. USO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO NA ACLIMATAÇÃO DO MANJERICÃO AO ESTRESSE SALINO

RESUMO: A salinidade é um dos maiores problemas enfrentados pela agricultura, sendo um dos efeitos o acúmulo de ROS, responsável pelo estresse oxidativo. Entretanto, o H₂O₂ em concentrações reduzidas pode aumentar a tolerância contra a salinidade. O manjeriço tem despertado grande interesse econômico, sendo cultivado para o comércio *in natura* e principalmente para produção industrial de óleos essenciais. Portanto, este trabalho objetivou verificar os efeitos da aplicação de H₂O₂ na produção de óleo e na tolerância à salinidade em manjeriço cultivado em casa de vegetação. As plântulas foram submetidas a seis tratamentos: T1-0 mM NaCl e 0 µM H₂O₂; T2-80 mM NaCl e 0 µM H₂O₂; T3-80 mM NaCl e 1000 µM H₂O₂/24 h na fase de plântula pré-estresse salino; T4-80 mM NaCl e 1 µM H₂O₂/48 h na fase de plântula pré-estresse salino; T5-80 mM NaCl e 1000 µM H₂O₂/24 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino; T6-80 mM NaCl e 1 µM H₂O₂/48 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino. As plantas foram coletadas aos 15 e 25 dias de estresse. A aplicação de 1 µM H₂O₂/48 h e sua reaplicação, aos 15 dias de estresse salino aumentou a produção de massa seca foliar em comparação aos demais tratamentos salinos. Observou-se redução do teor relativo de água e aumento da suculência e do índice de esclerofilia com a salinidade. O aumento da suculência foi mais pronunciado com a aplicação de H₂O₂. A salinidade aumentou os teores de pigmentos apenas na ausência de H₂O₂. Os teores de Cl⁻, Na⁺ e solutos orgânicos aumentaram com a salinidade, sendo este efeito mais pronunciado nos tratamentos que receberam H₂O₂. Observou-se também que, o teor, o rendimento e a produtividade de óleo foram induzidos pela salinidade e pelo H₂O₂. Os resultados indicam que a aplicação de H₂O₂ aumenta a tolerância no manjeriço à salinidade e que seu cultivo em hidroponia com água salina é uma nova tecnologia para a produção de óleo.

Palavras chave: *Ocimum basilicum* L.; Óleo; Produtividade; Salinidade

2.1. USE OF HYDROGEN PEROXIDE IN THE ACCLIMATION OF BASIL TO SALT STRESS

ABSTRACT: Salinity is one of the major problems faced by agriculture, one of the effects being the accumulation of ROS, responsible for oxidative stress. However, H₂O₂ at low concentrations may increase tolerance of plants against salinity. The basil has aroused great economic interest, being cultivated for the commerce *in nature* and mainly for industrial production of essential oils. Therefore, this study was carried out with the objective to verify the effects of H₂O₂ application on oil production and on salinity tolerance in greenhouse basil. The seedlings were submitted to six treatments: T1-0 mM NaCl and 0 μM H₂O₂; T2-80 mM NaCl and 0 μM H₂O₂; T3-80 mM NaCl and 1000 μM H₂O₂/24 h in the pre-salt stress seedling stage; T4-80 mM NaCl and 1 μM H₂O₂/48 h in the pre-salt stress seedling stage; T5-80 mM NaCl and 1000 μM H₂O₂/24 h in the pre-salt stress seedling stage and at 15 days of salt stress; T6-80 mM NaCl and 1 μM H₂O₂/48 h in the pre-salt stress seedling stage and at 15 days of salt stress. The plants were collected after 15 and 25 days of stress. The application of 1 μM H₂O₂/48 h and its reapplication, at 15 days of salt stress, increased leaf dry mass production in comparison to the other saline treatments. A reduction was also observed in the relative water content and increase of the succulence and the sclerophilic index with the salinity. The increase of succulence was more pronounced with the application of H₂O₂. Salinity increased the pigment contents only in the absence of H₂O₂. The contents of Cl⁻, Na⁺ and organic solutes increased with the salinity, being this effect more pronounced in the treatments that received H₂O₂. It was also observed that the oil content, yield and productivity were induced by salinity and H₂O₂. The results indicate that the application of H₂O₂ increases the tolerance in basil to salinity and that its hydroponic cultivation with saline water is a new technology for the production of oil.

Keywords: *Ocimum basilicum* L.; Oil; Productivity; Salinity

2.2. INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos maiores problemas enfrentados pela agricultura mundial, principalmente em regiões áridas e semiáridas, como o Nordeste brasileiro (COVA et al., 2016). Nesta região, o uso excessivo de fertilizantes, a falta de drenagem adequada e a utilização de águas de baixa qualidade na irrigação têm sido considerados os principais fatores que contribuem para a salinização dos solos (GENHUA; RAUL, 2010).

Estudos têm sido realizados para investigar a possível utilização de águas salobras na produção agrícola, principalmente em sistemas hidropônicos (SANTOS et al., 2012; BIONE et al., 2014). Entretanto, o cultivo hidropônico com água salobra reduz a produtividade das culturas (PAULUS et al., 2010), devido aos efeitos osmótico e iônico, os quais alteram a absorção de água e nutrientes, a integridade das membranas, as trocas gasosas, o metabolismo, o balanço hormonal e reduzem a expansão e divisão celular (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

Para manter as homeostases osmótica e iônica, as plantas podem acumular solutos orgânicos e inorgânicos, diminuindo o potencial hídrico e favorecendo a absorção de água. Este mecanismo é essencial para manter o crescimento das plantas cultivadas em ambiente salino (SILVEIRA et al., 2009; AZEVEDO NETO; SILVA, 2015).

O estresse salino também induz o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio, o radical superóxido e o radical hidroxila, que são altamente reativas e podem alterar o metabolismo celular levando à destruição oxidativa das células (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015). Entre as espécies reativas de oxigênio, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) tem recebido especial atenção, pois em alta concentração causa danos celulares, enquanto que em concentração baixa ou moderada atua como mensageiro secundário em cascatas de sinalização intracelulares que medeiam as respostas das células vegetais contra diferentes tipos de estresse (AZEVEDO NETO et al., 2005; CHRISTOU; MANGANARIS; FOTOPOULOS, 2014). Neste cenário, diversos autores reportaram que a aplicação exógena de H_2O_2 aumentou a tolerância ao estresse salino em milho (AZEVEDO NETO et al., 2005; GONDIM et al., 2011), morango (CHRISTOU; MANGANARIS; FOTOPOULOS, 2014); e arroz (CARVALHO et al., 2011).

O manjeriçao (*Ocimum basilicum* L.) é uma erva aromática com características arbustiva, anual ou perene (LORENZI; MATOS, 2008) que tem despertado grande interesse econômico. Ele é cultivado para o comércio *in natura* e, principalmente, para produção industrial de óleos essenciais, muito utilizados na indústria farmacêutica (LORENZI; MATOS, 2008; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A ISO (*Internacional Standard Organization*) define óleos essenciais como sendo matéria prima de origem vegetal, obtidos pelos processos de extração, como hidrodestilação, por exemplo. Segundo Alves et al. (2015) as maiores concentrações de óleos essenciais ficam nas folhas, cálices forais, canais secretores e pêlos glandulares. A quantidade do óleo essencial de manjeriçao pode ser afetada por estresses, como deficiência hídrica e salinidade, porém, o efeito sobre o teor de óleo pode ser muito variado, dependendo do tipo, intensidade e duração desse estresse (ALVES et al., 2015).

Diante do exposto, o presente estudo parte da hipótese que a aplicação de H₂O₂ aumenta a produção de óleo e a tolerância do manjeriçao à salinidade. Visto a importância desta cultura e a possibilidade de cultivo em regiões com problemas de salinidade na água e no solo, o objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da aplicação de H₂O₂ na produtividade de óleo e na tolerância do manjeriçao ao estresse salino.

2.3. MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1. Material vegetal, condições de crescimento e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola (PPGEA) e as análises realizadas no Laboratório de Bioquímica, ambos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), localizada em Cruz das Almas, Bahia. Foram utilizadas sementes de manjeriçao da variedade Gennaro de menta, obtidas da empresa ISLA Sementes®. Estas foram semeadas em copos descartáveis com volume de 80 mL, contendo fibra de coco e irrigadas diariamente com água da empresa de abastecimento. A partir da germinação, as plântulas foram irrigadas com solução nutritiva (SN) de Furlani (1998), até completarem 20 dias.

Após este período foi realizada a primeira aplicação de H₂O₂, onde grupos de 20 plântulas foram submetidas a três concentrações (0, 1 ou 1000 µM) na SN por 24 ou

48 h. Experimentos preliminares com diferentes concentrações de H_2O_2 e tempos de exposição, mostraram que a aplicação prévia de $1,0 \mu M$ de H_2O_2 por 48 h e $1000 \mu M$ de H_2O_2 por 24 h foram os tratamentos que produziram maior massa seca foliar em condições salinas. Após a primeira aplicação de H_2O_2 , as plântulas foram transferidas para sistema hidropônico DFT em pirâmide, na ausência ou presença de NaCl. Aos 15 dias de estresse salino foi realizada a segunda aplicação de H_2O_2 . Para isso, os perfis hidropônicos que receberam essa segunda aplicação foram isolados a fim de evitar contaminação dos demais tratamentos. Após a aplicação, a solução contendo H_2O_2 foi removida e os perfis religados ao sistema. Conforme os tratamentos descritos abaixo:

T1 - 0 mM NaCl e $0 \mu M H_2O_2$;

T2 - 80 mM NaCl e $0 \mu M H_2O_2$;

T3 - 80 mM NaCl e $1000 \mu M H_2O_2 / 24$ h na fase de plântula pré-estresse salino;

T4 - 80 mM NaCl e $1 \mu M H_2O_2 / 48$ h na fase de plântula pré-estresse salino;

T5 - 80 mM NaCl e $1000 \mu M H_2O_2 / 24$ h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino;

T6 - 80 mM NaCl e $1 \mu M H_2O_2 / 48$ h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino.

Foram utilizadas quatro plantas por repetição, espaçadas a 10 cm. Uma planta foi utilizada para a análise nutricional e de crescimento, outra para as análises fisiológicas e bioquímicas e duas para a determinação de óleo essencial. Foram realizadas duas coletas, uma aos 15 dias de estresse salino (prefloração) e aos 25 dias de estresse (pós-floração). Devido ao maior crescimento das plantas do tratamento controle, a partir da primeira coleta o espaçamento entre as plantas deste tratamento foi aumentado para 20 cm, a fim de evitar o auto sombreamento.

2.3.2. *Produção de biomassa e teor relativo de água*

Nas coletas, as plantas foram separadas em folhas e caules. Em seguida, o material vegetal foi acondicionado em sacos de papel e transferido para estufa com circulação forçada de ar a $65 \text{ }^\circ\text{C}$, por 72 h, para determinação das massas secas de folha (MSF) e caule (MSC). A partir dos dados de MSF e MSC, foi calculada a massa seca da parte aérea (MSPA). Com os valores de massa fresca das folhas

(MFF), MSF e área foliar (AF), foi calculada a suculência foliar (Suc) e o índice de esclerofilia (IE), de acordo com as equações propostas por Benincasa (2003):

$$\text{Suc} = (\text{MFF} - \text{MSF}) / \text{AF}$$

$$\text{IE} = \text{MSF} (\text{mg}) / \text{AF} (\text{cm}^2).$$

A determinação do teor relativo de água (TRA) foi realizada no par de folhas mais jovem completamente expandido, segundo a metodologia de Barrs e Weatherley (1962), utilizando a fórmula:

$$\text{TRA} (\%) = [(\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS})] \times 100$$

Onde, PS é o peso seco dos discos foliares, PF o peso fresco e PT o peso túrgido.

2.3.3. Análises de solutos inorgânicos e orgânicos

Para a determinação dos teores de sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloreto (Cl^-), os extratos brutos foram preparados como descrito por Rinne et al. (2012), com pequenas modificações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,1 g do material vegetal triturado e 10 mL de água desionizada. Os tubos foram aquecidos a 80 °C em banho-maria por 1 h. Após esse período, os extratos foram centrifugados a 10.000 × g, filtrados e armazenados em frascos plásticos a -20 °C, até sua utilização. Os teores de Na^+ e K^+ foram determinados por fotometria de chama (FAITHFULL, 2002) e o de Cl^- por espectrofotometria (GAINES *et al.*, 1984).

As análises dos solutos orgânicos foram realizadas nas mesmas folhas utilizadas para as determinações do TRA. As folhas foram coletadas, imediatamente congeladas, liofilizadas e armazenadas em freezer, para análises posteriores.

Para as determinações de solutos orgânicos, o extrato bruto foi obtido macerando-se, em almofariz, 100 mg de tecidos liofilizados de folhas, com 6,0 mL de tampão fosfato de potássio gelado a 0,1 M, pH 7,0, contendo EDTA 0,1 mM. O homogeneizado foi filtrado em tecido de náilon de malha fina e centrifugado a 10.000 × g por 10 min. Todas as operações foram realizadas a 4 °C. O sobrenadante foi armazenado em ultra freezer (-80 °C) e utilizado para as determinações de carboidratos solúveis, prolina livre, aminoácidos livres e proteínas solúveis.

A determinação de carboidratos solúveis foi realizada colorimetricamente (490 nm) em uma alíquota de 0,5 mL do extrato, convenientemente diluído, pelo método do fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). A prolina livre foi determinada colorimetricamente a 520 nm, em uma alíquota de 1,0 mL do extrato, utilizando-se a

ninhidrina como reagente específico (Bates *et al.*, 1973). Os aminoácidos livres totais foram determinados colorimetricamente pelo método da ninhidrina (570 nm), em uma alíquota de 0,5 mL do extrato (Yemm e Cocking, 1955). As proteínas solúveis foram determinadas colorimetricamente (595 nm) pelo método de ligação ao corante, em uma alíquota de 0,1 mL do extrato (Bradford, 1976).

2.3.4. Teores de pigmentos

Os teores de clorofila a (Cla), clorofila b (Clb) e carotenoides (Car) foram determinados no mesmo par de folhas usado para a determinação de TRA, por meio do espectrofotômetro a 649, 664 e 470 nm, em extrato etanólico a 95%, conforme metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001), utilizando as fórmulas:

$$\text{Cla } (\mu\text{g/mL}) = 13,36 \times A_{664} - 5,19 \times A_{649}$$

$$\text{Clb } (\mu\text{g/mL}) = 27,43 \times A_{649} - 8,12 \times A_{664}$$

$$\text{Car } (\mu\text{g/mL}) = (1000 \times A_{470} - 2,13 \times \text{Cla} - 97,64 \times \text{Clb}) / 209$$

A partir dos dados de Cla e Clb, foram calculados os teores de clorofila total (Clt) e as razões Cla/Clb e Clt/Car.

2.3.5. Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial do manjeriço Gennaro de menta foi realizada por hidrodestilação, no Laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, nas folhas e cálices florais (ALVES *et al.*, 2015). Ensaios preliminares com esta variedade confirmaram que o caule não possui óleo essencial. Para extração do óleo essencial foram utilizados 17 g de MSF resultantes da reunião de todas as repetições de cada tratamento. O processo de extração foi conduzido durante 2 h, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do Clevenger.

O volume (V) do óleo extraído foi determinado utilizando-se a fórmula para cálculo do volume de uma semiesfera (VENTURI, 2015):

$$V \text{ (cm}^3\text{)} = ((4 \times \pi \times r_1 \times r_2 \times r_3) / 3) / 2$$

Onde: r = raio do tubo de Clevenger.

O teor de óleo (TO), o rendimento (R) e a produtividade (P) foram calculados de acordo com as fórmulas:

$$\text{TO (\%)} = (V \times 100 / \text{MSF});$$

$$\text{R (cm}^3 \text{ planta}^{-1}\text{)} = (V \times \text{MSF});$$

$$P (\text{cm}^3 \text{ m}^{-1}) = (R \times N).$$

Onde: MSF = massa seca das folhas (g) e N = nº plantas m⁻¹ linear de perfil hidropônico (5 no tratamento controle e 10 nos tratamentos de estresse salino).

2.3.6. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o teste F e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 4.6 (FERREIRA, 2011). Para os dados de óleo, foi realizada análise estatística descritiva (MURTEIRA, 1993).

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A salinidade reduziu a produção de biomassa das plantas de manjeriço, quando comparadas com aquelas sob condições controle, tratamento T1 (Figura 2.1). Aos 15 dias de estresse salino, os tratamentos T3 e T4, aclimatados com H₂O₂ na fase de plântula apresentaram, respectivamente, aumentos de 27 e 14% na produção de MSF, em comparação ao T2 (Figura 2.1A). No entanto, aos 25 dias de estresse, apenas o tratamento T6 (aclimatado com H₂O₂ na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino) apresentou um aumento de 31% em relação ao T2. Com relação à MSC, não houve diferença significativa entre os tratamentos salinos para nenhum dos tempos de estresse (Figura 2.1B). A salinidade diminuiu a MSPA aos 15 dias de estresse, sendo esta redução mais pronunciada no tratamento T2 (44%) que no T3 (29%) e no T4 (34%) (Figura 2.1C). Aos 25 dias de estresse, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos de estresse, semelhante ao observado para MSC.

Embora a aclimação seja um fenômeno complexo, os resultados deste trabalho indicam que a aplicação de um estresse oxidativo moderado aumentou a tolerância do manjeriço à salinidade. Resultados semelhantes também foram reportados por outros autores em diferentes culturas (AZEVEDO NETO et al., 2005; AFTAB et al., 2011; DELAVARI; ENTESHARI; KALANTARI, 2014).

O TRA e a Suc são importantes variáveis para estudos com estresse salino, visto que estas encontram-se relacionadas com o grau de hidratação da planta (TAIZ; ZEIGER, 2013). A concentração de sais na zona radicular da planta faz com que ocorra o estresse osmótico, causando uma diminuição na absorção de água (MUNNS; TESTER, 2008). A salinidade reduziu o TRA tanto aos 15 dias de estresse (média de 7%), quanto aos 25 dias (média de 10%), em comparação ao tratamento T1 (Figura 2.1D). Christou, Manganaris e Fotopoulos (2014) também observou tal redução ocasionada pela salinidade, no entanto, ocorreu aumento do TRA nos tratamentos aclimatados com H₂O₂.

A Suc dos tratamentos salinos foi, em média, 15% mais elevada que a do controle aos 15 dias de estresse. Aos 25 dias, os tratamentos T1 e T2 não diferiram entre si, no entanto foi observado um aumento de cerca de 31% na Suc das plantas aclimatadas com H₂O₂ (Figura 2.1E), sugerindo que estas plantas não sofreram estresse hídrico induzido pela salinidade. Quando estão sob estresse salino ou outro estresse abiótico, as plantas podem apresentar mecanismos para sobrevivência às condições ambientais, como o aumento da suculência foliar. Este mecanismo resulta em uma maior quantidade de água por unidade de área foliar, a qual pode ser importante para economia de água através da transpiração e armazenamento e diluição dos íons tóxicos Na⁺ e Cl⁻ (Cova et al., 2016).

Em contraste ao TRA, a salinidade aumentou o IE das plantas sob estresse em média de 49 e 44% aos 15 e 25 dias, respectivamente, quando comparado ao tratamento T1 (Figura 2.1F). A esclerofilia pode ser vista como uma resposta adaptativa às condições de estresse, como a salinidade. Este aumento do IE indica uma maior espessura das folhas, com mais estratos de tecidos fotossintéticos, o que pode ser importante para reduzir os efeitos deletérios da salinidade no crescimento da planta (COVA et al., 2016).

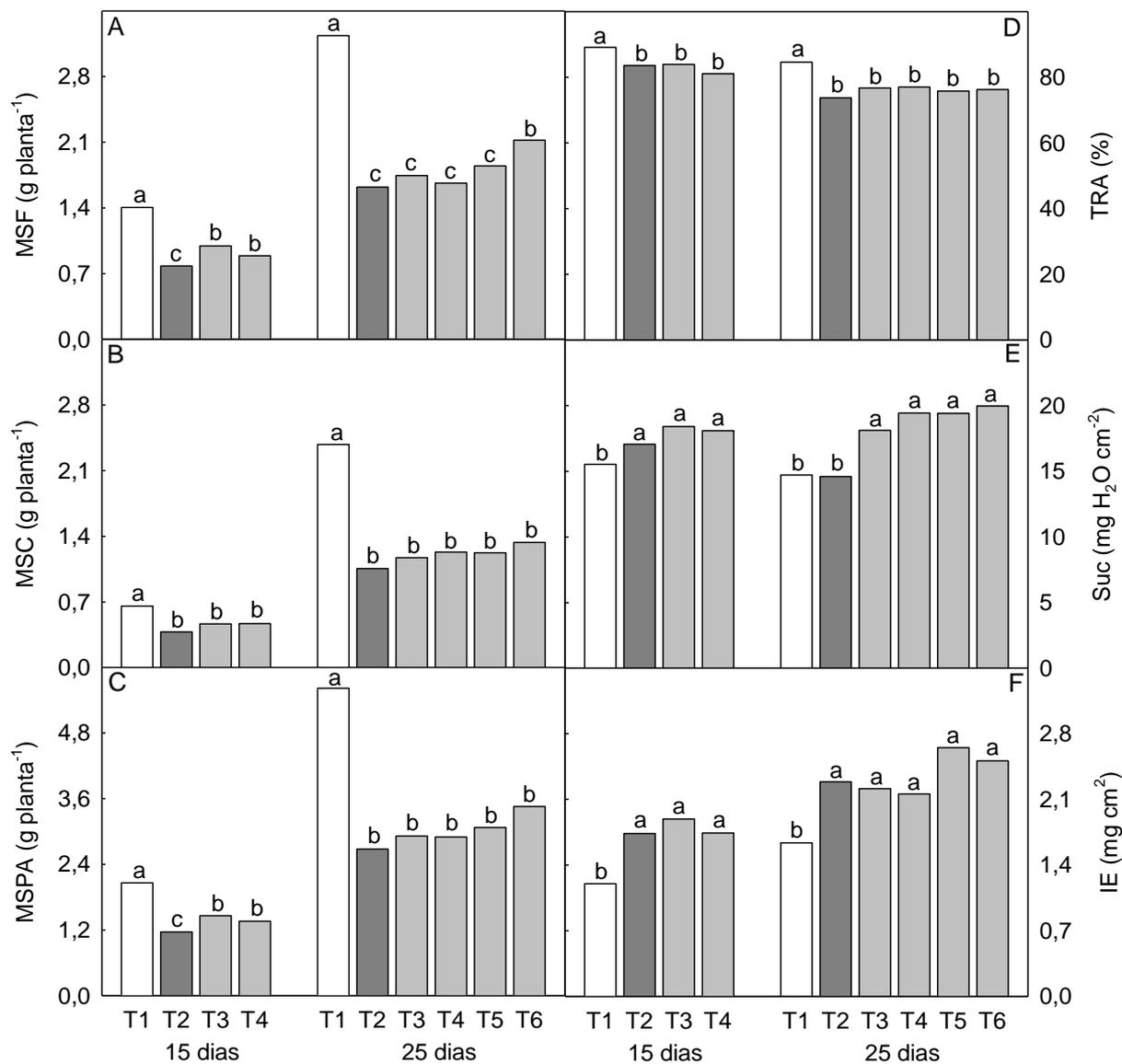


Figura 2.1. Produção de massa seca das folhas (A), caule (B) e parte aérea (C), teor relativo de água (D), succulência (E) e índice de esclerofilia (F) de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. As plantas foram submetidas a seis tratamentos: T1-0 mM NaCl e 0 μ M H₂O₂; T2-80 mM NaCl e 0 μ M H₂O₂; T3-80 mM NaCl e 1000 μ M H₂O₂/24 h na fase de plântula pré-estresse salino; T4-80 mM NaCl e 1 μ M H₂O₂/48 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino; T5-80 mM NaCl e 1000 μ M H₂O₂/24 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino e aos 15 dias de estresse salino; T6-80 mM NaCl e 1 μ M H₂O₂/48 h na fase de plântula pré-estresse salino e aos 15 dias de estresse salino. Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

A alteração dos teores de pigmentos fotossintéticos é um dos efeitos mais comuns do estresse salino, sendo o resultado do acúmulo de íons tóxicos nas folhas (DIAS; BLANCO, 2010). Dessa forma, a variação nos teores de pigmentos tem sido considerada por alguns autores como um marcador dos efeitos do estresse salino nas plantas (SINGH; DUBEY, 1995).

Aos 15 dias de estresse, a salinidade aumentou os teores de *Cl_a* (17%), *Cl_b* (25%) e *Cl_t* (20%) apenas no tratamento T2 quando comparado ao tratamento controle (Figura 2.2A, 2.2B e 2.2C). Aos 25 dias, a *Cl_a* manteve-se mais elevada em T2, em relação aos demais tratamentos. Nos tratamentos T5 e T6 os teores de *Cl_a* diminuíram 24 e 12%, respectivamente, em relação a T1 (Figura 2.2A). Nesse mesmo período, a *Cl_b* no tratamento T2 não foi afetada pelo estresse salino, mas diminuiu cerca de 11% em T3 e T4 e 23% em T5 e T6 (Figura 2.2B). Os resultados de *Cl_t* foram semelhantes aos de *Cl_a*, também aos 25 dias (Figura 2.2C). O aumento dos teores das *Cl_a* e *Cl_b* no tratamento T2, pode representar um maior custo energético para a biossíntese desses pigmentos nas plantas deste tratamento quando comparado aos tratamentos salinos com H₂O₂. Dessa forma, os dados sugerem que a manutenção dos teores de clorofilas pode ser um bom indicador da tolerância à salinidade em manjeriço.

Assim como as clorofilas, os Car são constituintes integrais das membranas tilacóides e atuam, tanto como pigmentos acessórios na absorção de luz, como agentes fotoprotetores dissipando rapidamente o excesso de luz absorvida (TAIZ; ZEIGER, 2013). Nesse trabalho, os teores de Car não foram influenciados pela salinidade aos 15 dias, entretanto aos 25 dias, foi observado um aumento médio de 30% nos Car das plantas estressadas em relação ao tratamento T1, com exceção do tratamento T5 (Figura 2.2D), sugerindo que estes pigmentos não foram bons indicadores do aumento da tolerância à salinidade induzido pela aclimação com H₂O₂.

A razão entre as clorofilas *a* e *b* não diferiu entre os tratamentos, aos 15 dias. No entanto, foi observado um aumento da *Cl_a/Cl_b* aos 25 dias nos tratamentos T3, T4 e T6 (Figura 2.2E). Aos 15 dias de estresse, a salinidade diminuiu a razão *Cl_t/Car* apenas nos tratamentos T3 e T4. Aos 25 dias, a *Cl_t/Car* diminuiu em todos os tratamentos salinos, sendo essa redução mais pronunciada nos tratamentos cujas plantas foram aclimatadas com H₂O₂ (Figura 2.2F).

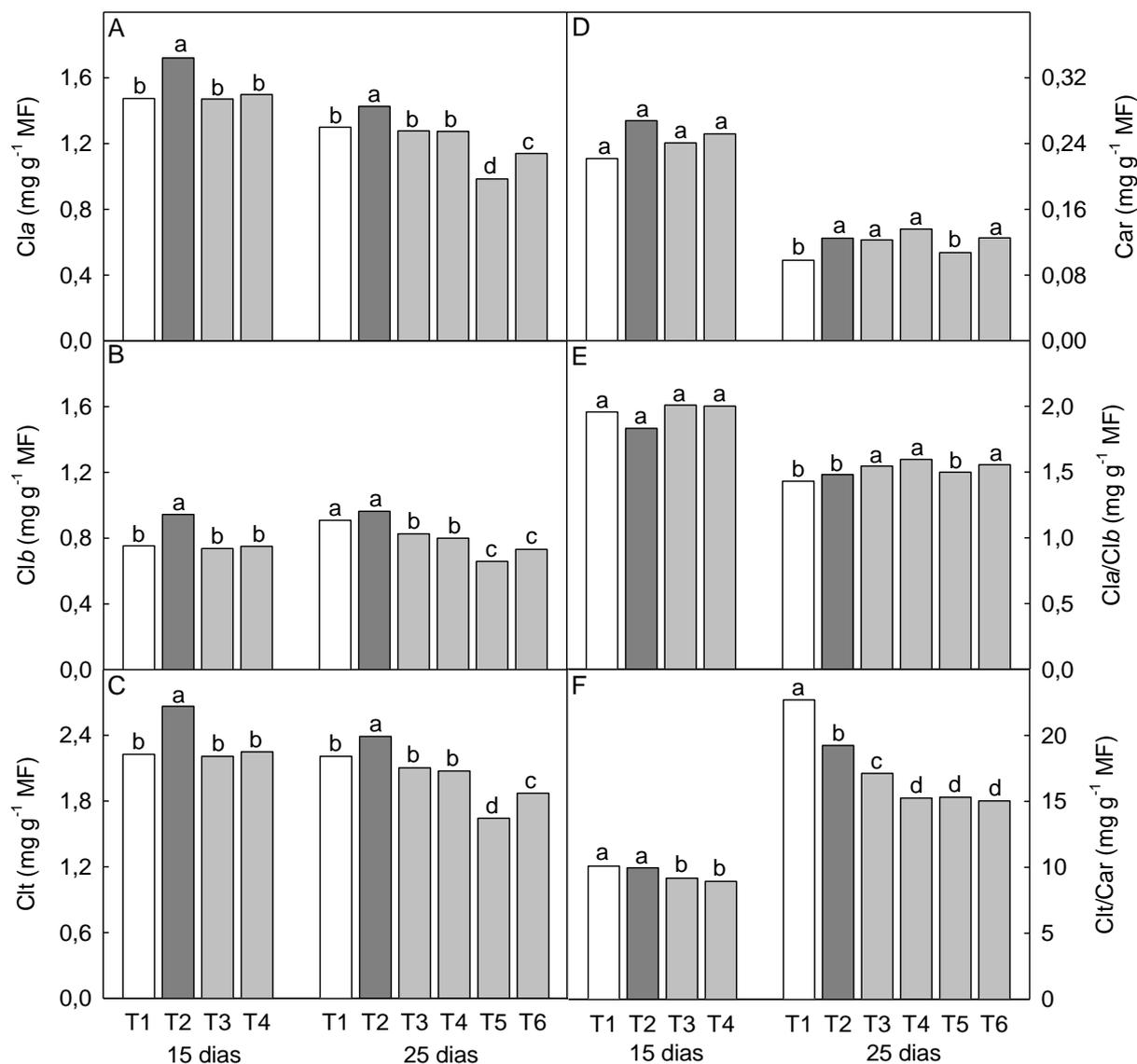


Figura 2.2. Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila total (C), carotenóides (D) e razões clorofila *a*/clorofila *b* (E) e clorofilas/carotenóides (F) de plantas de manjericão Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.1.

Em geral, a salinidade aumentou os teores de Cl⁻ e Na⁺ nas folhas e caule (Figura 2.3A, 2.3B, 2.3C e 2.3D). Aos 15 dias, os teores de Cl⁻ nas folhas e no caule, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos salinos. Aos 25 dias, os teores foliares de Cl⁻ no tratamento T5 foram 22% mais elevados que os dos demais tratamentos salinos (Figura 2.3A). No caule, para este mesmo período, os teores de Cl⁻ nos tratamentos T4, T5 e T6 foram cerca de 17% maiores que os de T2 e T3 (Figura 2.3B).

Aos 15 dias, os teores foliares de Na^+ nos tratamentos salinos não diferiram entre si. No entanto, aos 25 dias, os teores de Na^+ nos tratamentos T4, T5 e T6 foram significativamente mais elevados que em T2 e T3 (Figura 2.3C). No caule, os resultados foram semelhantes em ambas as coletas (Figura 2.3D). Dessa forma, os teores de Na^+ nos tratamentos T2 e T3 não diferiram entre si, mas foram significativamente menores que nos tratamentos T4, T5 e T6. Também pode ser observado nas Figuras 2.3C e 2.3D que os teores de Na^+ no caule das plantas estressadas foram muito mais elevados que os das folhas.

O acúmulo de Cl^- e Na^+ nos tecidos das plantas expostas ao estresse salino representa um dos principais responsáveis pelos distúrbios metabólicos induzidos pela salinidade (DIAS; BLANCO, 2010). Assim, a absorção excessiva desses íons pode afetar a estabilidade eletroquímica e o crescimento das plantas (MUNNS; TESTER, 2008).

Avaliando conjuntamente os dados de MSF, Suc, Cl^- e Na^+ nos tratamentos de estresse salino pode-se observar que os que mais acumularam Cl^- e Na^+ (T5 e T6) também apresentaram maior Suc e MSF. Esses resultados sugerem que o aumento da Suc induzido pela aclimação com H_2O_2 permitiu um maior acúmulo de íons Cl^- e Na^+ nas folhas, reduzindo o potencial hídrico da planta e facilitando a absorção de água, o que é essencial para manter o crescimento da cultura em condições salinas (SILVEIRA et al., 2009; AZEVEDO NETO; SILVA, 2015). O aumento no acúmulo de Cl^- e Na^+ , em plantas sob condição de estresse salino, também foi observada por outros autores (GONDIM et al., 2011; NING et al., 2015; COVA et al., 2016).

Em geral, a salinidade não alterou os teores de K^+ nas folhas aos 15 dias, mas diminuiu cerca de 28% no caule. Aos 25 dias, a salinidade diminuiu os teores de K^+ nas folhas e caule sendo esta redução mais acentuada nos tratamentos cujas plantas foram aclimatadas com H_2O_2 (Figura 2.3E e 2.3F). A diminuição da concentração de K^+ induzida pelo Na^+ é reportada por vários autores (GONDIM et al., 2011; COVA et al., 2016). Esta redução tem sido relacionada ao antagonismo existente entre esses dois íons, pois o Na^+ , por apresentar semelhanças físico-químicas com o K^+ , pode ser absorvido pelas células radiculares através dos canais de K^+ (GONDIM et al., 2011). Apesar da redução nos teores foliares de K^+ observada nos tratamentos salinos (de 2,09 para 1,64 mM g^{-1} MS), estes estão acima da faixa considerada normal (0,81 - 1,18 mM g^{-1} MS) para o cultivo de

hortaliças (MENGEL, 2007), indicando que a redução da produção de massa seca induzida pelo estresse não foi decorrente de distúrbios na nutrição de K^+ .

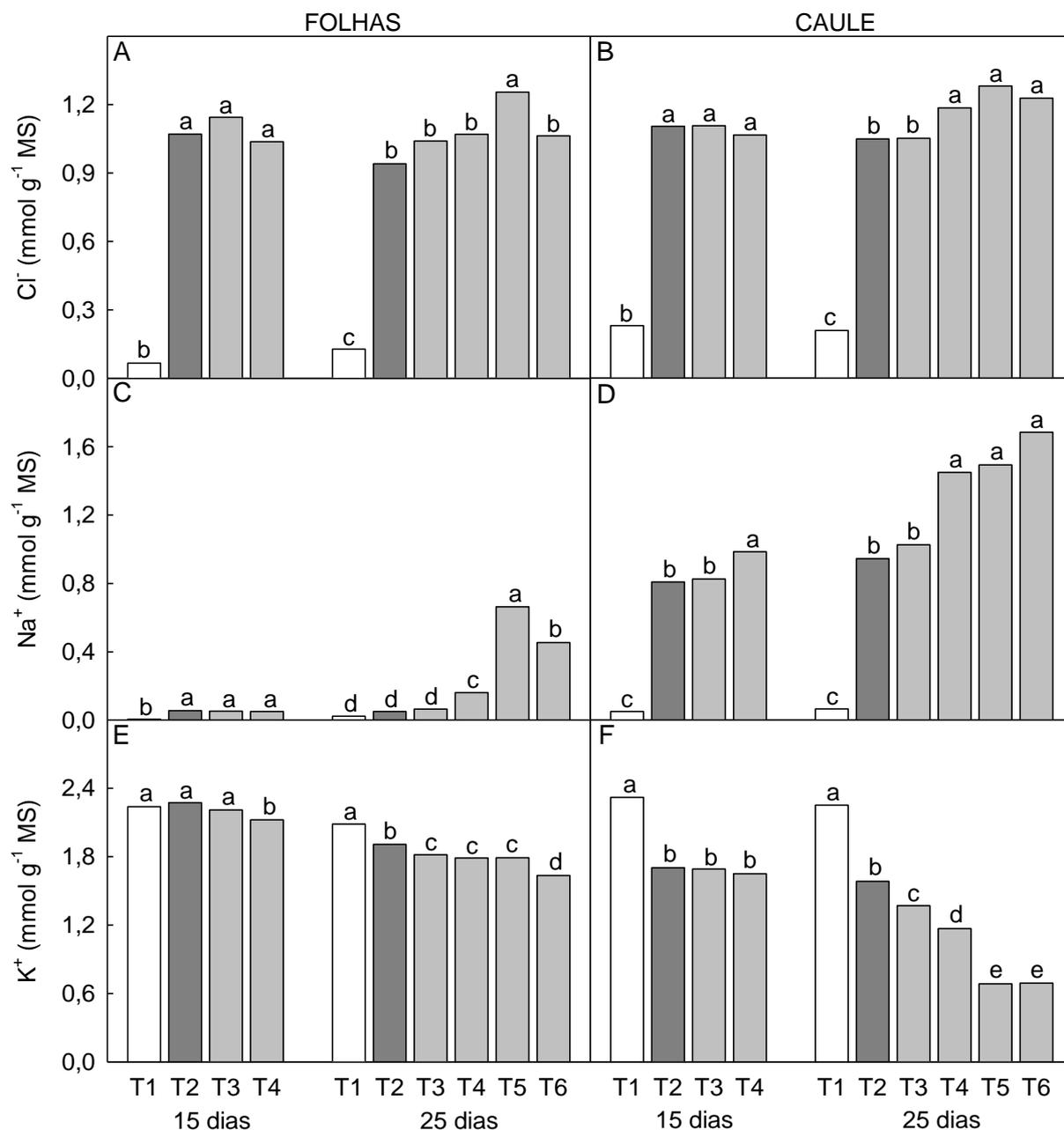


Figura 2.3. Teores de cloreto (A, B), sódio (C, D) e potássio (E, F) em folhas e caule de plantas de manjericão Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.1.

De maneira geral, pode-se observar na Figura 2.4 salinidade aumentou os teores de solutos orgânicos nas folhas, quando comparados com o tratamento T1, sendo este aumento mais evidente nas plantas tratadas com H₂O₂ (T3, T4, T5 e T6) que nas não tratadas (T2). Aos 15 dias, os teores de carboidratos solúveis aumentaram em média 112%, em comparação ao tratamento T1. Aos 25 dias, o tratamento T2 não diferiu do controle, entretanto os carboidratos solúveis nos tratamentos com uma (T3 e T4) e duas (T5 e T6) aplicações de H₂O₂ foram, respectivamente, 56 e 159% mais elevados que em T2 (Figura 2.4A).

Os teores de aminoácidos livres nas plantas estressadas e tratadas com H₂O₂ foram mais elevados que nos tratamentos T1 e T2 em ambas as coletas. Dessa forma, aos 15 dias os teores em T3 e T4 aumentaram, respectivamente, 24 e 71% em comparação a T2, enquanto aos 25 dias, os aumentos observados foram de 42% nos tratamentos T3, T4 e T6 e de 72% no tratamento T5 (Figura 2.4B).

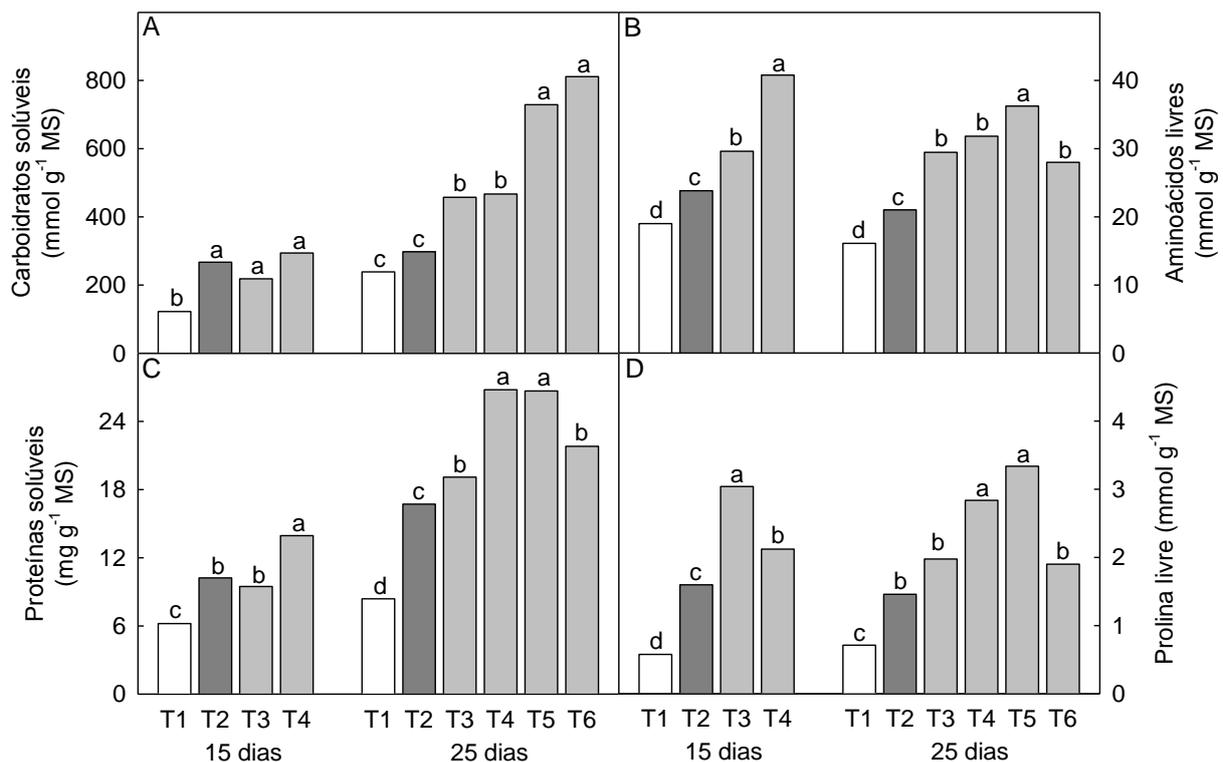


Figura 2.4. Teores de carboidratos solúveis (A), aminoácidos livres (B), proteína solúveis (C) e prolina livre (D) de plantas de manjericão Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.1.

O acúmulo de solutos orgânicos também tem grande importância para o ajustamento osmótico e entre eles, os carboidratos solúveis e os aminoácidos livres são os que mais contribuem para este mecanismo, pois apresentam teores muito mais elevados que os demais (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015). O aumento destes compostos em plantas cultivadas sob estresse salino também foi reportado por Heidari (2012) e Sacramento et al. (2014).

Aos 15 dias, os teores de proteínas solúveis no tratamento T4 aumentaram 36%, em relação a T2. Aos 25 dias, as maiores concentrações foram observadas nos tratamentos T4 e T5, com um aumento médio de 60%, quando comparados a T2 (Figura 2.4C).

Sob condições de estresse, as plantas frequentemente acumulam proteínas de baixa massa molecular (AZEVEDO NETO; PRISCO; GOMES-FILHO, 2009), também chamadas proteínas do estresse, cuja função principal parece ser a proteção das estruturas celulares e subcelulares contra os danos oxidativos e desidratação e na sinalização de respostas à salinidade (WAHID et al., 2007). Adicionalmente, o seu acúmulo pode servir como fonte de armazenamento de nitrogênio que pode ser mobilizado após o alívio ou remoção do estresse (AZEVEDO NETO; PRISCO; GOMES-FILHO, 2009).

Em relação aos teores de prolina livre, aos 15 dias, o tratamento T3 mostrou um aumento de 90% em relação a T2. Aos 25 dias, os tratamentos T4 e T5 aumentaram em média 111% quando comparados a T2 (Figura 2.4D). O acúmulo de prolina em resposta à salinidade é reportado por outros autores (AZEVEDO NETO; PRISCO; GOMES-FILHO, 2009; SACRAMENTO et al., 2014), entretanto seu papel na aclimação ao estresse salino ainda é controverso (AZEVEDO NETO; SILVA, 2015). Neste trabalho, a observação que as maiores concentrações de prolina foram encontradas nas plantas tratadas com H₂O₂ sugere que o acúmulo de prolina foi benéfico para a aclimação do manjeriço ao estresse salino.

Semelhante ao observado nos solutos inorgânicos, o aumento nas concentrações dos solutos orgânicos nas plantas tratadas com H₂O₂ induz uma maior absorção de água, resultando em um aumento da Suc, maior diluição de Cl⁻ e Na⁺ e, conseqüentemente, reduzindo a toxidez destes íons no metabolismo. A observação que, entre os tratamentos salinos, a maior produção de MSF foi obtida nas plantas com maior Suc e maiores teores de solutos inorgânicos e orgânicos suporta esta hipótese.

A salinidade aumentou numericamente os teores de óleo essencial, juntamente com o rendimento e a produtividade (Figura 2.5A, 2.5B, 2.5C). O teor de óleo do tratamento T2 (1,041% MSF) foi 2,4 vezes maior que o do controle (0,308% MSF). Comparando-se os tratamentos salinos, pode-se verificar que os teores de óleo nos tratamentos T3 (1,207% MSF) e T6 (1,509% MSF) foram 16 e 45% mais elevados que os obtidos em T2 (Figura 2.5A). Os rendimentos e a produtividade seguiram comportamento semelhante aos teores de óleo. Para o rendimento, ocorreu um aumento de 54% no T2, comparado à T1. Entretanto, o rendimento nos tratamentos T3 e T6 foram 25 e 83%, respectivamente, maiores que em T2 (Figura 2.5B).

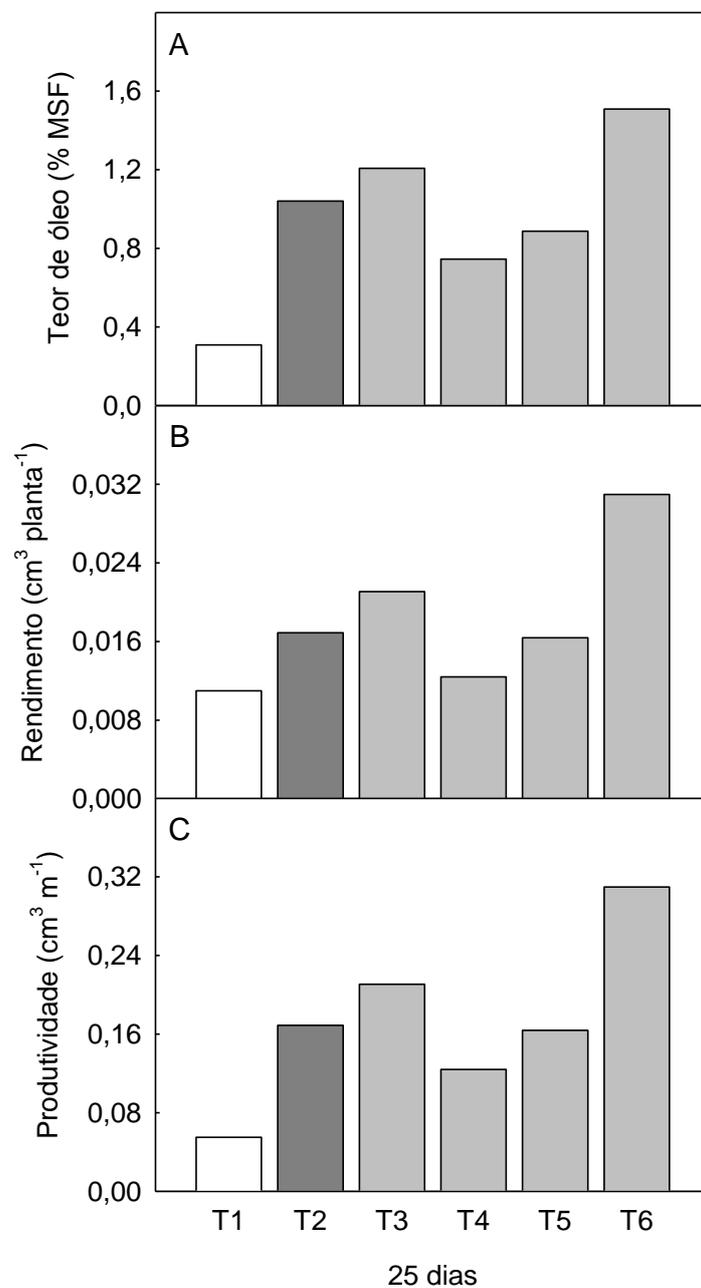


Figura 2.5. Teores, rendimentos e produtividades de óleo essencial de folhas de plantas de manjeriço Gennaro de menta em sistema hidropônico DFT, em função do tempo de cultivo e dos tratamentos utilizados. Detalhes adicionais como na Figura 2.1.

Considerando que a salinidade reduziu em 52% a produção de biomassa da parte aérea, a densidade populacional nos tratamentos salinos foi o dobro da utilizada no controle. Dessa forma, a produtividade de óleo no tratamento T2 foi 208% mais elevada que a de T1, enquanto as produtividades de T3 e T6 aumentaram 25 e 83% em comparação à T2 (Figura 2.5C).

Tendo em vista a baixa qualidade da água na região semiárida e o aumento do teor e produtividade de óleo induzido pela salinidade, os dados deste trabalho indicam que o cultivo do manjeriço em hidroponia com água salina com vistas à produção de óleo pode ser uma alternativa viável para os agricultores desta região.

2.5. CONCLUSÕES

A aplicação prévia de 1 μM H_2O_2 /48 h na solução nutritiva e a sua reaplicação aos 15 dias de estresse salino é o tratamento mais eficiente para aclimação e aumento da tolerância do manjeriço à salinidade.

A massa seca foliar, suculência e teores de clorofilas e solutos orgânicos são bons indicadores do aumento da tolerância à salinidade em manjeriço.

O teor, o rendimento e a produtividade de óleo nas folhas do manjeriço são induzidos tanto pela salinidade como pela aplicação de H_2O_2 . Dessa forma, o cultivo do manjeriço variedade Gennaro de Menta em hidroponia com água salina visando a produção de óleo é uma alternativa viável para os agricultores da região semiárida.

2.6. REFERÊNCIAS

AFTAB, T. KHAN, M. M. A.; IDREES, M.; NAEEM, M.; HASHMI, N.; MOINUDDIN; RAM, M. Growth, photosynthetic efficiency and metabolic alterations associated with exogenous hydrogen peroxide in *Artemisia annua*: Overproduction of artemisinin. **Russian Agricultural Sciences**, Moscow, v. 37, n. 3, p. 212-219, 2011.

ALVES, L. S.; PAZ, V. P. S.; SILVA, A. J. P.; OLIVEIRA, G. X. S.; OLIVEIRA, F. E. R.; AMORIM, E. L. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de plantas de manjeriço submetidas ao estresse salino com NaCl. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 807-813, 2015.

AZEVEDO NETO, A. D. PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; MEDEIROS, J. V. R.; GOMES-FILHO, E. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 162, n. 10, p. 1114-1122, 2005.

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Changes in soluble amino-N, soluble proteins and free amino acids in leaves and roots of salt-stressed maize genotypes. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2009.

AZEVEDO NETO A. D.; SILVA E. C. Physiology and biochemistry of salt stress tolerance in plants. In: Chakraborty, U.; Chakraborty, B. (Ed.). **Abiotic stresses in crop plants**. Wallingford: CABI, 2015. Cap. 6, p. 81-101.

BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, Clayton South, v. 15, n. 3, p. 413-428, 1962.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**: noções básicas. 2ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.

BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BIONE, M. A. A.; PAZ, V. P. S.; SILVA, F.; RIBAS, R. F.; SOARES, T. M. Crescimento e produção de manjeriço em sistema hidropônico NFT sob salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 12, p. 1228-1234, 2014.

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**, San Diego v. 72, ,n. 1- 2, p. 246-254, 1976.

CARVALHO, F. E. L.; LOBO, A. K. M.; BONIFACIO, A.; MARTINS, M. O.; LIMA NETO, M. C.; SILVEIRA, J. A. G. Aclimação ao estresse salino em plantas de arroz induzida pelo pré-tratamento com H₂O₂. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 4, p. 416-423, 2011.

CHRISTOU, A.; MANGANARIS, G. A.; FOTOPOULOS, V. Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford,v. 107, n. 1, p. 46-54, 2014.

COVA, A. M. W.; Azevedo Neto, A. D.; Ribas, R. F.; Gheyi, H. R.; Menezes, R. V. Inorganic solute accumulation in noni (*Morinda citrifolia* Linn) under salt stress during initial growth. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 11, n. 35, p. 3347-3354, 2016.

DELAVARI, M.; ENTESHARI, S.; KALANTARI, K. M. Effects of response of *Ocimum basilicum* to the interactive effect of salicylic acid and salinity stress. **Iranian Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 4, n. 2, p. 983-990, 2014.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (ed.). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010, Cap. 9, p. 130-141.

FAITHFULL, N. T. **Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. 266 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FURLANI, P. R. **Instrução para o cultivo de hortaliça de folha pela técnica de hidroponia– NFT**. Campinas: Instituto Agronômico, 1998, 30 p. (Boletim Técnico, 168).

GAINES, T. P.; PARKER, M. B.; GASCHO, G. J. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate extraction. **Agronomy Journal**, Madison, v. 76, n. 3, p. 371-374, 1984.

GENHUA, N.; RAUL, C. Growth and physiological responses of landscape plants to saline water irrigation: A Review. **Hortscience**, Virgínia, v. 45, n. 11, p. 1065-1609, 2010.

GONDIM, F. A. ENÉAS-FILHO, J.; MARQUES, E. C.; PRISCO, J. T. Efeitos do H₂O₂ no crescimento e acúmulo de solutos em plantas de milho sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 373-381, 2011.

HEIDARI, M. Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 11, n. 2, p. 379, 2012.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, New York: John Wiley & Sons, 2001, p. 431-438.

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

MENGEL, K. Potassium. In: BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. (ed.). **Handbook of plant nutrition**. New York: CRC press, 2007, Cap. 4, p. 91-120.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mecanismos of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, n. 1, p. 651-681, 2008.

MURTEIRA, B. J. F. **Análise exploratória de dados: estatística descritiva**. McGraw-Hill, Lisboa, 1993, 329 p.

NING, J. F.; CUI, L. H.; YANG, S. H.; AI, S. Y.; LI, M. J.; SUN, L. L.; CHEN, Y.; WANG, R.H.; ZENG, Z. B. Basil ionic responses to seawater stress and the identification of gland salt secretion. **The Journal of Animal and Plant Sciences**, Lahore, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.

PAULUS, D. et al. Produção e indicadores fisiológicos de alface sob hidroponia com água salina. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 29-35, 2010.

RINNE, K.T.; SAURER, M.; STREIT, K.; SIEGWOLF, R.T.W. Evaluation of a liquid chromatography method for compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ analysis of plant carbohydrates in alkaline media. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Nova Jersey v. 26, n. 18, p. 2173-2185, 2012.

SACRAMENTO, B. L.; CRUZ, T. S. SILVA, L. L.; MOTA, N. A. B.; AZEVEDO NETO, A. D. Pigmentos e teores de solutos orgânicos em plantas de aguapé sob estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 33-44, 2014.

SANTOS; R. S. S.; DIAS, N. S.; DUARTE, S. N.; LIMA, C. J. G. S. Uso de águas salobras na produção de rúcula cultivada em substrato de fibra de coco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 1, p. 113-118, 2012.

SINGH, A. K.; DUBEY, R. S. Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems I and II in rice seedlings induced by NaCl. **Photosynthetica**, Praha, v. 31, n. 4, p. 489-499, 1995.

SILVEIRA, J. A. G.; ARAÚJO, S. A. M.; LIMA, J. P. M. S.; VIÉGAS, R. A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 1-8, 2009.

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

VENTURI, J. J. **Álgebra Vetorial e Geometria Analítica**, Curitiba, Livrarias Curitiba. 10^a ed., 2015, 242 p.

WAHID, A. et al. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. **Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 164, n. 3, p. 283-294, 2007.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, n. 948, p. 209-213, 1955.

3. ANEXOS

ANEXO I

Visão geral do experimento



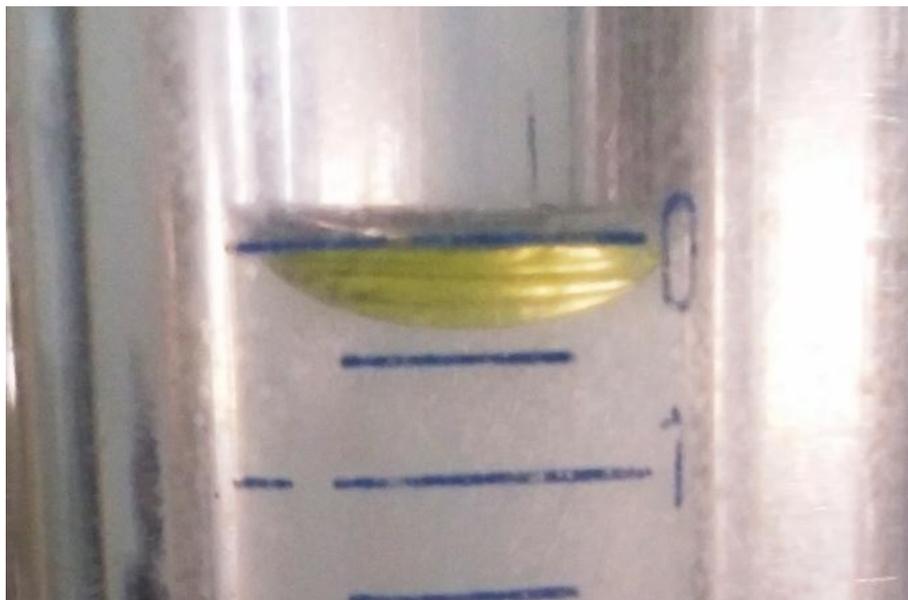
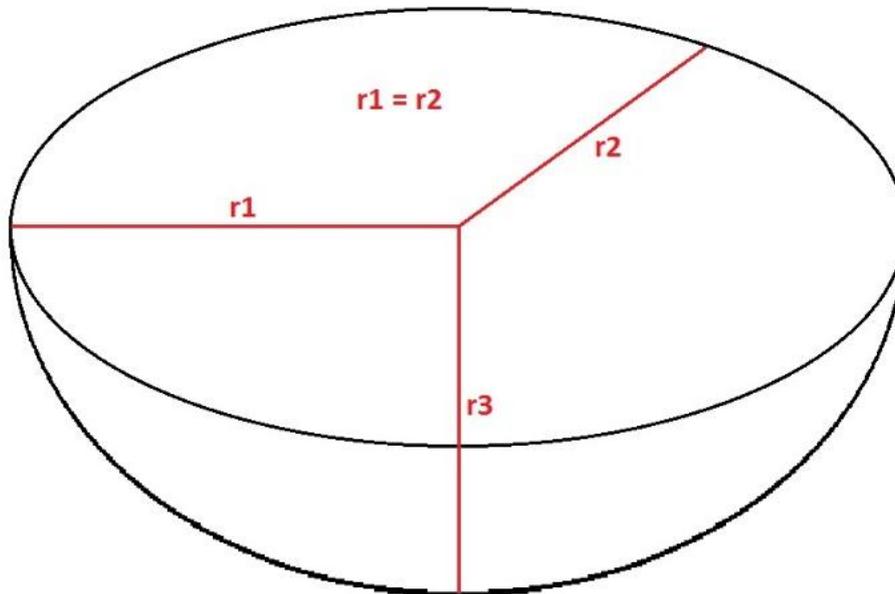
ANEXO II

Espaçamento das plantas de manjeriço em todos os tratamentos, a partir da primeira coleta.



ANEXO III

Desenho esquemático das dimensões utilizadas para o cálculo do volume do óleo essencial.



ANEXO IV

Análises de variância (ANAVA) das variáveis analisadas.

Variável analisada: MASSA SECA FOLIAR (MSF)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1.116000	0.372000	44.779	0.0000
erro	16	0.132920	0.008308		
Total corrigido	19	1.248920			
CV (%) =	8.95				
Média geral:	1.0180000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	0.782000	a1
4	0.890000	a2
3	0.994000	a2
1	1.406000	a3

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	9.380150	1.876030	29.337	0.0000
erro	24	1.534750	0.063948		
Total corrigido	29	10.914900			
CV (%) =	12.40				
Média geral:	2.0397000	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	1.622600	a1
4	1.665000	a1
3	1.745000	a1
5	1.847600	a1
6	2.122000	a2
1	3.236000	a3

Variável analisada: MASSA SECA DO CAULE (MSC)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.200735	0.066912	13.005	0.0001
erro	16	0.082320	0.005145		
Total corrigido	19	0.283055			
CV (%) =	14.53				
Média geral:	0.4935000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	0.382000	a1
3	0.466000	a1
4	0.470000	a1
1	0.656000	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	5.960449	1.192090	20.068	0.0000
erro	24	1.425646	0.059402		
Total corrigido	29	7.386095			
CV (%) =	17.40				
Média geral:	1.4006333	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	1.057600	a1
3	1.172600	a1
5	1.225000	a1
4	1.232600	a1
6	1.336000	a1
1	2.380000	a2

Variável analisada: MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	2.247055	0.749018	36.272	0.0000
erro	16	0.330400	0.020650		
Total corrigido	19	2.577455			
CV (%) =	9.51				
Média geral:	1.5115000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	1.164000	a1
4	1.360000	a2
3	1.460000	a2
1	2.062000	a3

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	30.074909	6.014982	28.188	0.0000
erro	24	5.121226	0.213384		
Total corrigido	29	35.196134			
CV (%) =	13.43				
Média geral:	3.4403000	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	2.680000	a1
4	2.897600	a1
3	2.917600	a1
5	3.072600	a1
6	3.458000	a1
1	5.616000	a2

Variável analisada: TEOR RELATIVO DE ÁGUA (TRA)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	170.205300	56.735100	8.570	0.0013
erro	16	105.919280	6.619955		
Total corrigido	19	276.124580			
CV (%) =	3.05				
Média geral:	84.4190000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
4	81.080000	a1
2	83.576000	a1
3	83.918000	a1
1	89.102000	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	348.255700	69.651140	2.509	0.0580
erro	24	666.378581	27.765774		
Total corrigido	29	1014.634281			
CV (%) =	6.81				
Média geral:	77.3479000	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	73.702000	a1
5	75.783200	a1
6	76.270200	a1
3	76.725200	a1
4	77.029800	a1
1	84.577000	a2

Variável analisada: SUCULÊNCIA (SUC)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	25.171326	8.390442	8.444	0.0014
erro	16	15.899380	0.993711		
Total corrigido	19	41.070706			
CV (%) =	5.77				
Média geral:	17.2797500	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	15.538800	a1
2	17.066600	a2
4	18.100800	a2
3	18.412800	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	149.399821	29.879964	9.994	0.0000
erro	24	71.751936	2.989664		
Total corrigido	29	221.151757			
CV (%) =	9.76				
Média geral:	17.7153667	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	14.603400	a1
1	14.717600	a1
3	18.121600	a2
5	19.425800	a2
4	19.441600	a2
6	19.982200	a2

Variável analisada: ÍNDICE DE ESCLEROFILIA (IE)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1.312627	0.437542	18.949	0.0000
erro	15	0.346349	0.023090		
Total corrigido	18	1.658975			
CV (%) =	9.33				
Média geral:	1.6287895	Número de observações:	19		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	1.200200	a1
2	1.735800	a2
4	1.741000	a2
3	1.890500	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	3.074678	0.614936	6.450	0.0006
erro	24	2.287984	0.095333		
Total corrigido	29	5.362661			
CV (%) =	13.77				
Média geral:	2.2425667	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	1.637000	a1
4	2.157000	a2
3	2.213800	a2
2	2.286800	a2
6	2.510200	a2
5	2.650600	a2

Variável analisada: CLOROFILA A (Cl a)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.217983	0.072661	3.557	0.0382
erro	16	0.326842	0.020428		
Total corrigido	19	0.544825			
CV (%) =	9.27				
Média geral:	1.5411500	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
3	1.471000	a1
1	1.473800	a1
4	1.498800	a1
2	1.721000	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	0.579581	0.115916	13.118	0.0000
erro	24	0.212072	0.008836		
Total corrigido	29	0.791653			
CV (%) =	7.62				
Média geral:	1.2339000	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
5	0.984800	a1
6	1.140200	a2
4	1.274400	a3
3	1.277400	a3
1	1.299800	a3
2	1.426800	a4

Variável analisada: CLOROFILA B (Cl b)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.147101	0.049034	8.996	0.0010
erro	16	0.087206	0.005450		
Total corrigido	19	0.234307			
CV (%) =	9.27				
Média geral:	0.7962000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
3	0.737400	a1
4	0.750200	a1
1	0.752800	a1
2	0.944400	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	0.311453	0.062291	19.221	0.0000
erro	24	0.077776	0.003241		
Total corrigido	29	0.389230			
CV (%) =	6.99				
Média geral:	0.8147333	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
5	0.659000	a1
6	0.732200	a1
4	0.799200	a2
3	0.826200	a2
1	0.908600	a3
2	0.963200	a3

Variável analisada: CLOROFILA TOTAL (Cl TOTAL)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.721183	0.240394	7.018	0.0032
erro	16	0.548054	0.034253		
Total corrigido	19	1.269237			
CV (%) =	7.92				
Média geral:	2.3374500	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
3	2.208400	a1
1	2.226800	a1
4	2.249200	a1
2	2.665400	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	1.704203	0.340841	16.093	0.0000
erro	24	0.508321	0.021180		
Total corrigido	29	2.212523			
CV (%) =	7.10				
Média geral:	2.0484333	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
5	1.643400	a1
6	1.872200	a2
4	2.073800	a3
3	2.103400	a3
1	2.207800	a3
2	2.390000	a4

Variável analisada: CAROTENOIDES (CAR)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.005616	0.001872	3.904	0.0287
erro	16	0.007672	0.000480		
Total corrigido	19	0.013289			
CV (%) =	8.92				
Média geral:	0.2456000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.221800	a1
3	0.240800	a1
4	0.252000	a1
2	0.267800	a1

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	0.004758	0.000952	8.213	0.0001
erro	24	0.002780	0.000116		
Total corrigido	29	0.007538			
CV (%) =	9.04				
Média geral:	0.1190600	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.098000	a1
5	0.107440	a1
3	0.122820	a2
2	0.124820	a2
6	0.125280	a2
4	0.136000	a2

Variável analisada: Cl a / Cl b

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.099995	0.033332	0.976	0.4283
erro	16	0.546147	0.034134		
Total corrigido	19	0.646142			
CV (%) =	9.47				
Média geral:	1.9501000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	1.832600	a1
1	1.957000	a1
4	2.001600	a1
3	2.009200	a1

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	0.088890	0.017778	5.272	0.0021
erro	24	0.080931	0.003372		
Total corrigido	29	0.169821			
CV (%) =	3.83				
Média geral:	1.5180333	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	1.431000	a1
2	1.480800	a1
5	1.498200	a1
3	1.545600	a2
6	1.555400	a2
4	1.597200	a2

Variável analisada: Cl TOTAL / CAR

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	4.811132	1.603711	8.161	0.0016
erro	16	3.144337	0.196521		
Total corrigido	19	7.955469			
CV (%) =	4.65				
Média geral:	9.5419500	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
4	8.939400	a1
3	9.182800	a1
2	9.960600	a2
1	10.085000	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	229.946336	45.989267	25.228	0.0000
erro	24	43.751401	1.822975		
Total corrigido	29	273.697737			
CV (%) =	7.74				
Média geral:	17.4440333	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	15.035800	a1
4	15.253600	a1
5	15.313800	a1
3	17.128600	a2
2	19.242400	a3
1	22.690000	a4

Variável analisada: TEOR DE CLORETO NA FOLHA

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	3.916132	1.305377	239.561	0.0000
erro	16	0.087185	0.005449		
Total corrigido	19	4.003317			
CV (%) =	8.90				
Média geral:	0.8298500	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.066400	a1
4	1.037200	a2
2	1.070800	a2
3	1.145000	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	3.986400	0.797280	78.015	0.0000
erro	24	0.245269	0.010220		
Total corrigido	29	4.231669			
CV (%) =	11.04				
Média geral:	0.9160333	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.127800	a1
2	0.940600	a2
3	1.040000	a2
6	1.062800	a2
4	1.070400	a2
5	1.254600	a3

Variável analisada: TEOR DE CLORETO NO CAULE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	2.794162	0.931387	130.386	0.0000
erro	16	0.114293	0.007143		
Total corrigido	19	2.908455			
CV (%) =	9.63				
Média geral:	0.8776000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.230800	a1
4	1.067000	a2
2	1.105200	a2
3	1.107400	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	3.983755	0.796751	87.183	0.0000
erro	24	0.219331	0.009139		
Total corrigido	29	4.203086			
CV (%) =	9.55				
Média geral:	1.0011667	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.209200	a1
2	1.049400	a2
3	1.052200	a2
4	1.185600	a3
6	1.228600	a3
5	1.282000	a3

Variável analisada: TEOR DE SÓDIO NA FOLHA

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.008305	0.002768	69.210	0.0000
erro	16	0.000640	0.000040		
Total corrigido	19	0.008945			
CV (%) =	15.13				
Média geral:	0.0418000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.006600	a1
4	0.051600	a2
3	0.053200	a2
2	0.055800	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	1.242283	0.248457	73.227	0.0000
erro	14	0.047502	0.003393		
Total corrigido	19	1.289785			
CV (%) =	23.31				
Média geral:	0.2498500	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.024333	a1
2	0.051333	a1
3	0.065750	a1
4	0.162000	a2
6	0.454667	a3
5	0.664250	a4

Variável analisada: TEOR DE SÓDIO NO CAULE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	2.630538	0.876846	394.829	0.0000
erro	16	0.035533	0.002221		
Total corrigido	19	2.666071			
CV (%) =	7.07				
Média geral:	0.6665000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.049800	a1
2	0.807200	a2
3	0.824800	a2
4	0.984200	a3

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	8.581663	1.716333	59.276	0.0000
erro	24	0.694914	0.028955		
Total corrigido	29	9.276576			
CV (%) =	15.35				
Média geral:	1.1088333	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.064200	a1
2	0.942600	a2
3	1.024400	a2
4	1.447800	a3
5	1.491800	a3
6	1.682200	a3

Variável analisada: TEOR DE POTÁSSIO NA FOLHA

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.062498	0.020833	6.293	0.0050
erro	16	0.052964	0.003310		
Total corrigido	19	0.115462			
CV (%) =	2.60				
Média geral:	2.2111000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
4	2.122600	a1
3	2.209800	a2
1	2.238200	a2
2	2.273800	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	0.565307	0.113061	10.754	0.0000
erro	24	0.252323	0.010513		
Total corrigido	29	0.817631			
CV (%) =	5.58				
Média geral:	1.8381000	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	1.635200	a1
4	1.789400	a2
5	1.791200	a2
3	1.817400	a2
2	1.908400	a3
1	2.087000	a4

Variável analisada: TEOR DE POTÁSSIO NO CAULE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1.544164	0.514721	89.939	0.0000
erro	16	0.091568	0.005723		
Total corrigido	19	1.635732			
CV (%) =	4.11				
Média geral:	1.8417500	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
4	1.650000	a1
3	1.692200	a1
2	1.703000	a1
1	2.321800	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	8.799503	1.759901	73.407	0.0000
erro	24	0.575386	0.023974		
Total corrigido	29	9.374889			
CV (%) =	11.98				
Média geral:	1.2920333	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
5	0.685000	a1
6	0.690400	a1
4	1.169600	a2
3	1.370400	a3
2	1.584000	a4
1	2.252800	a5

Variável analisada: CARBOIDRATOS SOLÚVEIS

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	85321.710580	28440.570193	10.153	0.0005
erro	16	44819.181650	2801.198853		
Total corrigido	19	130140.892230			
CV (%) =	23.49				
Média geral:	225.3397000		Número de observações:	20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	122.377800	a1
3	218.331800	a2
2	266.771000	a2
4	293.878200	a2

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	1308827.063508	261765.412702	25.116	0.0000
erro	24	250137.055391	10422.377308		
Total corrigido	29	1558964.118899			
CV (%) =	20.41				
Média geral:	500.1455000		Número de observações:	30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	238.574400	a1
2	297.268000	a1
3	457.506000	a2
4	467.095000	a2
5	728.975400	a3
6	811.454200	a3

Variável analisada: AMINOÁCIDOS LIVRES

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	1320.342601	440.114200	39.193	0.0000
erro	16	179.669889	11.229368		
Total corrigido	19	1500.012490			
CV (%) =	11.84				
Média geral:	28.3137000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	19.010000	a1
2	23.824800	a2
3	29.631400	a3
4	40.788600	a4

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	1350.317217	270.063443	21.623	0.0000
erro	24	299.748480	12.489520		
Total corrigido	29	1650.065697			
CV (%) =	13.03				
Média geral:	27.1136667	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	16.122000	a1
2	21.010000	a2
6	27.994000	a3
3	29.478000	a3
4	31.836000	a3
5	36.242000	a4

Variável analisada: PROTEÍNAS SOLUVEIS

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	151.461965	50.487322	23.690	0.0000
erro	16	34.098176	2.131136		
Total corrigido	19	185.560141			
CV (%) =	14.65				
Média geral:	9.9642000	Número de observações:		20	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	6.211200	a1
3	9.464600	a2
2	10.231000	a2
4	13.950000	a3

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	1202.065720	240.413144	35.262	0.0000
erro	24	163.629360	6.817890		
Total corrigido	29	1365.695080			
CV (%) =	13.11				
Média geral:	19.9180000	Número de observações:		30	

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	8.390000	a1
2	16.728000	a2
3	19.102000	a3
6	21.806000	a3
5	26.690000	a4
4	26.792000	a4

Variável analisada: PROLINA LIVRE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(15 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	15.857878	5.285959	29.487	0.0000
erro	16	2.868223	0.179264		
Total corrigido	19	18.726101			
CV (%) =	23.08				
Média geral:	1.8346000	Número de observações:	20		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.578000	a1
2	1.598000	a2
4	2.122000	a3
3	3.040400	a4

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA
(25 dias)

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	5	22.207507	4.441501	29.226	0.0000
erro	24	3.647280	0.151970		
Total corrigido	29	25.854787			
CV (%) =	19.13				
Média geral:	2.0373333	Número de observações:	30		

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	0.712000	a1
2	1.460000	a2
6	1.902000	a2
3	1.976000	a2
4	2.836000	a3
5	3.338000	a3