

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

**TOLERÂNCIA À SALINIDADE EM MANJERICÃO SOB
CULTIVO HIDROPÔNICO**

Renata Velasques Menezes

**CRUZ DAS ALMAS / BAHIA
2017**

TOLERÂNCIA À SALINIDADE EM MANJERICÃO SOB CULTIVO HIDROPÔNICO

Renata Velasques Menezes

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2011

Mestre em Solos e Qualidade de Ecossistema

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2013

Tese 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 Doutor em Engenharia Agrícola, Área de Concentração: Agricultura Irrigada e Recursos Hídricos.

Orientador: Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto

Coorientador: Prof. Dr. Hans Raj Gheyi

**CRUZ DAS ALMAS / BAHIA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

M543t

Menezes, Renata Velasques.

Tolerância à salinidade em manjerição sob cultivo hidropônico / Renata Velasques Menezes._ Cruz das Almas, BA, 2017.

112f.; il.

Orientador: André Dias de Azevedo Neto.

Coorientador: Hans Raj Gheyi.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Manjerição – Cultivo. 2.Manjerição – Hidroponia. 3.Estresse salino – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 633.88

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

**TOLERÂNCIA À SALINIDADE EM MANJERICÃO SOB CULTIVO
HIDROPÔNICO**

**Comissão Examinadora da Defesa de Tese de
Renata Velasques Menezes**

Aprovada em: 18 de abril de 2017

Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB
Examinador Interno (Orientador)

Prof. Dr. Tales Miler Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB
Examinador Interno

Prof. Dr. Rogério Ribas Ferreira Ribas
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / UFRB
Examinador Externo

Prof. Dr. Alisson Jadavi Pereira da Silva
Instituto Federal Baiano / IF Baiano
Examinador Externo

Dra. Alide Mitsue Watanabe Cova
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

À minha mãe **Meire Lúcia Velasques Chaves**, às minhas irmãs **Michele e Milene Menezes**, ao meu avô **Braz Menezes** (in memoriam).

OFEREÇO

Com gratidão e amor ao meu
esposo **Leandro Ribeiro Azevedo**

AGRADECIMENTOS

À Deus pela pelas bênçãos e cuidado em cada passo desta jornada;

Ao professor e orientador Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto, pelo exemplo de profissional ético e responsável, ensinamentos, atenção e paciência;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Hans Raj Gheyi, pelos ensinamentos e contribuições para o desenvolvimento da pesquisa;

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;

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

À minha mãe Meire Lúcia Velasques Chaves pelo amor e paciência nas ausências, pelo incentivo e o apoio sempre presente;

Às minhas irmãs, Michele e Milene, pela motivação, sorriso e alegria constante;

Ao meu esposo Leandro Ribeiro Azevedo, primeiro incentivador e cúmplice em todas as lutas;

Aos meus amigos doutorandos e mestrandos do programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UFRB, em especial Alide Mitsue, Monikuelly Mourato, Paula Viana e Hewsley Baleeiro;

À minha amiga de sempre e para sempre Marise Souza, pela acolhida, abraço e incentivo a todo instante;

Aos todos amigos que sempre respeitaram minha ausência com paciência, carinho e votos de sucesso.

A todos que em momento oportuno me deram uma palavra de incentivo.

EPÍGRAFE

“Segue o teu destino, rega as tuas plantas... ama as tuas rosas.
O resto é a sombra de árvores alheias.”

(Fernando Pessoa)

TOLERÂNCIA A SALINIDADE EM MANJERICÃO SOB CULTIVO HIDROPÔNICO

RESUMO: O trabalho objetivou avaliar o efeito do estresse salino sobre aspectos fisiológicos e bioquímicos de genótipos de manjeriço com tolerância diferenciada ao estresse salino. A pesquisa foi dividida em três etapas. Na primeira etapa foi avaliada a produção de biomassa e o acúmulo de solutos inorgânicos no manjeriço sob concentrações crescentes (0, 20, 40, 60 e 80 mM) de NaCl na solução nutritiva. A altura da planta, o número de folhas, o diâmetro do caule e a produção de biomassa diminuíram com a salinidade. Os teores de Cl⁻ e Na⁺ aumentaram em toda planta e o de K⁺ diminuiu no caule e nas raízes e aumentou nas folhas. Na segunda etapa foram avaliadas a produção de biomassa, os teores de pigmentos, o percentual de integridade das membranas (PIA) e o teor relativo de água em seis genótipos de manjeriço sob dois níveis salinos (0 e 80 mM NaCl). Os teores de pigmentos e o teor relativo de água não foram bons indicadores de tolerância à salinidade. O genótipo 'Toscano folha de alface' (TFA) apresentou maior acúmulo de K⁺ e menor acúmulo de Na⁺ nas folhas. A produção de biomassa e a PIA foram bons indicadores de tolerância à salinidade em manjeriço. Dessa forma, com base na redução da biomassa das plantas sob estresse o genótipo TFA foi considerado tolerante e o 'Gennaro de menta' (GM) sensível à salinidade. Na terceira etapa os genótipos TFA e GM foram cultivados nas mesmas condições da anterior, sendo realizadas coletas aos 8, 16, 24 e 32 dias de estresse. Foram avaliados os teores de solutos inorgânicos (Na⁺, Cl⁻ e K⁺), orgânicos (carboidratos solúveis, aminoácidos livres, prolina livre e proteínas solúveis), clorofilas, carotenoides e óleo essencial. A salinidade aumentou os teores de Cl⁻ e Na⁺ em todas as partes da planta, enquanto o de K⁺ aumentou nas folhas e diminuiu no caule e nas raízes, entretanto não foram observadas diferenças entre os genótipos, sugerindo que os solutos inorgânicos não foram bons indicadores da tolerância à salinidade. O estresse salino não causou alterações substanciais nos teores de carboidratos e proteínas solúveis de ambos os genótipos, mas aumentou os aminoácidos livres nas folhas e raízes do genótipo TFA, sugerindo um papel destes compostos na tolerância à salinidade do manjeriço. A prolina aumentou nas folhas e raízes de ambos genótipos. A salinidade aumentou os teores de pigmentos apenas no genótipo GM, não apresentando uma relação com a tolerância à salinidade nos genótipos estudados. O estresse salino aumentou o teor de óleo no genótipo GM e diminuiu no TFA, entretanto o TFA apresentou maior produtividade quando comparado ao GM.

Palavras-chave: Estresse salino; *Ocimum basilicum*. L.; Íons inorgânicos; Solutos orgânicos; Óleo essencial.

MECHANISMS OF TOLERANCE IN SALINITY IN BASIL GENOTYPES UNDER HYDROPONICS

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the effect of salt stress on physiological and biochemical aspects of basil genotypes differing in salt tolerance. The research was performed in three stages. In the first stage the biomass production and the inorganic solutes accumulation in the basil were evaluated under increasing concentrations (0, 20, 40, 60 or 80 mM) of NaCl in the nutrient solution. Plant height, leaf number, stem diameter and biomass production decreased with salinity. The levels of Cl^- and Na^+ increased in all plant parts and K^+ levels decreased in the stem and roots and increased in the leaves. In the second stage, biomass production, pigments content, membrane integrity percentage (PIA) and relative water content were evaluated in six basil genotypes under two salt levels (0 or 80 mM NaCl). The pigments and the relative water content were not good indicators of salinity tolerance. The 'Toscano folha de alface' genotype (TFA) presented higher accumulation of K^+ and less accumulation of Na^+ in the leaves. The biomass production and the PIA were good indicators of salinity tolerance in basil, thus, based on biomass reduction of the stressed plants, the TFA genotype was considered as salt-tolerant and the 'Gennaro de menta' (GM) as salt-sensitive. In the third stage the TFA and GM genotypes were cultivated under the same conditions as the previous one, and the harvests were realized at 8, 16, 24 and 32 days of stress. Inorganic (Na^+ , Cl^- , K^+), organic (soluble carbohydrates, free amino acids, free proline and soluble proteins), chlorophylls, carotenoids and essential oils contents were evaluated. Salinity increased the levels of Cl^- and Na^+ in all parts of the plant, while that of K^+ increased in the leaves and decreased in the stem and roots, however no differences were observed among the genotypes, suggesting that inorganic solutes were not good indicators of salt tolerance. Salt stress did not induce substantial changes in the carbohydrates and soluble protein contents of both genotypes, but increased the free amino acids in the leaves and roots of the TFA genotype, suggesting a role of these compounds in the tolerance of basil to salinity. Proline increased in the leaves and roots of both genotypes. The salinity increased the pigments content only in the GM genotype, showing no relation with the salt tolerance in the studied genotypes. Salt stress increased the oil content in the GM genotype and decreased in the TFA, however the TFA showed higher productivity when compared to the GM.

Key words: Salt stress; *Ocimum basilicum* L.; Inorganic ions; Organics solutes; Essential oil.

LISTA DE ABREVIATURAS

AF - Área foliar
Car - Carotenoides
Cl⁻ - Íon cloreto
Cl_a - Clorofila *a*
Cl_a/Cl_b - Relação clorofila *a* / clorofila *b*
Cl_b - Clorofila *b*
CO₂ - Dióxido de carbono
DAG - Dias após germinação
DC - Diâmetro do caule
DFT - Deep film tecnic
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
GM - Gennaro de menta
MSC - Massa seca do caule
MSF - Massa seca das folhas
MSPA - Massa seca da parte aérea
MST - Massa seca total
NF - Número de folhas
MF - Massa fresca
PIA - Percentual de integridade da membrana
MS – Massa seca
MT – Massa túrgida
SN - Solução nutritiva
Suc - Suculência foliar
TFA – ‘Toscano folha de alface’
TRA – ‘Teor relativo de água’
EROS – Espécies reativas de oxigênio
ABA – Ácido abscísico
dS – Decisiemens
PPO - Polifenol oxidase
DAT – Dias após emergência

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1.** Altura (A), diâmetro do caule (B) e número de folhas (C) de plantas de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo níveis crescentes de NaCl. Os valores indicam médias de quatro repetições e respectivos desvios-padrões.....61
- Figura 2.2.** Massa seca de folha (A), massa seca de caule (B), massa seca de raiz (C), massa seca da parte aérea (D) e massa seca total (F) e razão massa seca da parte aérea pela massa seca da raiz/MSR (E), em plantas de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo níveis crescentes de NaCl. Os valores indicam médias de quatro repetições e respectivos desvios-padrões.....63
- Figura 2.3.** Teores de Cl^- , Na^+ e K^+ nas folhas (A, D e G), caules (B, E e H) e raízes (C, F e I) em plantas de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo níveis de NaCl. Os valores indicam médias de quatro repetições e respectivos desvios-padrões.....64
- Figura 2.4.** Massa seca das folhas (A), dos caules (B), das raízes (C) e total (D) de seis diferentes genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (\square) ou de 80 mM NaCl (\blacksquare). Para cada genótipo, médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade..... 67
- Figura 2.5.** Teor de Na^+ (A, B e C), Cl^- (D, E e F) e K^+ (G, H e I) em mmol g^{-1} de ms das folhas (MSF), caules (MSC) e raízes (MSR) de seis genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (\square) ou de 80 mM NaCl (\blacksquare). Médias seguidas de mesmas letras entre níveis salino não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.....68
- Figura 2.6.** Concentração de Clorofila a (Cla), Clorofila b (Clb) e Carotenóides (Car) nas folhas e a relação Cla e Clb (Cla/Clb), de seis genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (\square) ou de 80 mM NaCl (\blacksquare). Para cada genótipo, médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.....70
- Figura 2.7.** Teor relativo de água nas folhas (TRA) e porcentagem de integridade absoluta (PIA) de seis genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (\square) ou de 80 mM NaCl (\blacksquare). Para cada genótipo, médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.....71

- Figura 3.1.** Teores de Na⁺ em folhas (A, B), caules (C, D) e raízes (E, F) em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....88
- Figura 3.2.** Teores de Cl⁻ em folhas (A, B), caules (C, D) e raízes (E, F) em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....89
- Figura 3.3.** Teores de K⁺ em folhas (A, B), caules (C, D) e raízes (E, F) em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....91
- Figura 3.4.** Teores de carboidratos solúveis em folhas (A e B) e raízes (B e C), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....92
- Figura 3.5.** Teores de aminoácidos livres em folhas (A e B) e raízes (C e D), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....93
- Figura 3.6.** Teores de proteínas solúveis em folhas (A e B) e raízes (C e D), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....94
- Figura 3.7.** Teores de prolina livre em folhas (A e B) e raízes (C e D), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....95

Figura 3.8. Teores de Cla (A, B), Clb (C, D) e Car (E, F), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.....97

Figura 3.9. Teor de óleo (A), rendimento (B) e produtividade (C), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (□) ou 80 mM de NaCl (■) na solução nutritiva. Dentro de cada tratamento médias seguidas de letras maiúsculas, e dentro de cada genótipo, médias seguidas de letras minúsculas, diferem estatisticamente e entre pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....99

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1. INTRODUÇÃO.....	16
1.2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
1.2.1. Efeito dos sais nas plantas.....	19
1.2.2. Efeito osmótico.....	22
1.2.3. Efeito de íons tóxicos (Na ⁺ e Cl ⁻).....	23
1.2.4. Mecanismo de tolerância à salinidade.....	25
1.2.5. Ajustamento osmótico.....	26
1.2.6. Solutos orgânicos compatíveis.....	27
1.2.7. Fotossíntese e pigmentos.....	28
1.2.8. Características botânicas do manjeriço.....	29
1.2.9. Exigências edafoclimáticas e cultivo.....	31
1.2.10. Importância fitoterapêutica do manjeriço.....	32
1.2.11. Estresse salino no manjeriço.....	33
1.3. REFERÊNCIAS.....	37
CAPÍTULO II - TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE MANJERICÃO À SALINIDADE	53
RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	54
2.2. INTRODUÇÃO	55
2.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
2.3.1. Experimento I.....	57
2.3.1.1. Condições experimentais e tratamentos.....	57
2.3.1.2. Produção de biomassa.....	58
2.3.1.3. Análise de solutos inorgânicos.....	58
2.3.2. Experimento II	58
2.3.2.1. Condições experimentais e tratamentos.....	58
2.3.2.2. Produção de biomassa análise de solutos inorgânicos.....	59
2.3.2.3. Pigmentos fotossintetizantes.....	59
2.3.2.4. Percentual de integridade absoluta das membranas (PIA) e teor relativo de água (TRA).....	59
2.3.3. Análise estatística.....	60
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
2.4.1. Experimento I.....	60
2.4.2. Experimento II	66
2.5. CONCLUSÕES	72
2.6. REFERÊNCIAS.....	73

**CAPÍTULO III - TEORES DE SOLUTOS, PIGMENTOS E ÓLEO ESSENCIAL EM DOIS
GENÓTIPOS DE MANJERICÃO COM TOLERÂNCIA DIFERENCIADA À SALINIDADE.....79**

RESUMO..... 80

ABSTRACT 81

3.2. INTRODUÇÃO	81
3.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	83
3.3.1. <i>Material vegetal, condução e tratamentos</i>	83
3.3.2. <i>Solutos inorgânicos</i>	84
3.3.2.1. <i>Cloreto</i>	85
3.3.2.2. <i>Sódio e potássio</i>	85
3.3.3. <i>Solutos orgânicos</i>	85
3.3.3.1. <i>Carboidratos solúveis</i>	86
3.3.3.2. <i>Prolina livre</i>	86
3.3.3.3. <i>Aminoácidos livres totais</i>	86
3.3.3.4. <i>Proteínas solúveis</i>	86
3.3.4. <i>Pigmentos fotossintetizantes</i>	86
3.3.5. <i>Extração e quantificação do óleo essencial</i>	87
3.3.6. <i>Análise estatística</i>	87
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.5. CONCLUSÕES	100
3.6. REFERÊNCIAS.....	100

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 108

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1.INTRODUÇÃO

O estresse salino, em conjunto com o estresse hídrico, são os maiores estresses abióticos que afeta as plantas cultivadas em todo mundo. Solos salinos estão localizados principalmente em regiões áridas e semiáridas, como parte da região Nordeste brasileira que possui cerca de 9,1 milhões de hectares afetados pela salinidade (FAGERIA et al., 2010). Nestas regiões, as características de solos rasos e baixa pluviometria não favorecem a lixiviação dos sais para camadas mais profundas no solo. Estes sais permanecem nas camadas superficiais dos solos estando disponíveis na zona radicular, os quais são levados a superfície por meio da evaporação da água do solo (RENGASAMY, 2006). Em casos severos pode-se observar manchas brancas na superfície dos solos salinizados, que é o acúmulo dos sais. Outro fator é que regiões áridas e semiáridas são dependentes da irrigação para atender as necessidades hídricas das culturas, pois a evapotranspiração excede a precipitação anual.

Tendo em mente a importância dos solos salinos para a agricultura, estima-se que 20% das áreas cultivadas são afetados por sais. Para enfrentar tal problema, busca-se estudar alternativas viáveis como a utilização de espécies tolerantes à salinidade (AKÇA; SAMSUNLU, 2012). As espécies são consideradas tolerantes quando completam seu ciclo produtivo sem redução significativa da biomassa, ou seja, quando o estresse salino não afeta sua produtividade. O oposto são as espécies sensíveis à salinidade, caracterizadas por significativa redução do crescimento e, conseqüentemente, da biomassa sob estresse salino.

Concentrações salinas elevadas no solo afetam as plantas, em primeira instância, pelo efeito osmótico que dificulta a extração de água pelas raízes. Em segunda, pelo efeito tóxico que é caracterizado pelo acúmulo excessivo de sais na planta, causando toxidez e alterações nutricionais, bioquímicas e fisiológicas (MUNNS; TESTER, 2008).

O estresse salino afeta a fisiologia, a morfologia e a bioquímica da planta, sendo o primeiro sinal visual a redução de crescimento. Akça e

Samsunlu (2012), em estudos sob estresse salino avaliam o crescimento, o acúmulo de prolina, o teor de clorofila, as razões K/Na e Ca/Na, e o acúmulo de Na⁺ e Cl⁻ (AKÇA; SAMSUNLU, 2012). Pode-se acrescentar também o acúmulo dos solutos orgânicos compatíveis como sinalizadores fisiológicos e bioquímicos da tolerância ou sensibilidade ao estresse salino. Os solutos orgânicos são variáveis importantes, uma vez que, espécies glicófitas dependem do ajuste osmótico para manutenção do fluxo hídrico. Não obstante, é importante destacar que as diferentes plantas são afetadas de forma específica, ou seja, cada espécie reage de maneira particular ao estresse, e nem todas as variáveis atuam como bons indicadores do estresse salino nas plantas.

Com o objetivo de reduzir o impacto da salinidade, seja no uso de terras afetadas por sais ou de águas de baixa qualidade para a agricultura, há na literatura diversos estudos sobre tolerância das plantas ao estresse. Tal abordagem poderá auxiliar na aplicabilidade de técnicas como o melhoramento genético de espécies sensíveis a salinidade, para manutenção e/ou aumento da produção agrícola. Também poderá ser aplicada em estudos que visam atenuar os efeitos da salinidade, a exemplo o uso de peróxido de hidrogênio.

Neste contexto, espécies halófitas ou halotolerantes servem de parâmetro para os estudos de tolerância a salinidade (HIMABINDU et al., 2016). Esta classe de plantas é, de modo geral, nativa de regiões salinas e estão adaptadas a estas condições. Entre as espécies halófitas encontra-se a *Atriplex numularia* forrageira conhecida como erva sal; a *Blutaparon portulacoides* e *Alternanthera maritima*, espécies comuns de dunas litorâneas; e espécies de manguezais como a *Rhizophora mangle* (mangue vermelho), *Avicennia schaueriana* (mangue preto) e *Laguncularia racemosa* (mangue branco).

Além das espécies nativas de regiões salinas, as espécies cultivadas podem também possuir graus de tolerância ao sal em níveis elevados. Esta vantagem provém da diversidade genotípica que as espécies possuem na medida em que essa variedade permite a diferenciação do grau de tolerância ou sensibilidade ao estresse salino. Assim, é possível a distinção e a seleção

destas espécies por meio de estudos e ensaios. São exemplos destes ensaios: Faridunddin et al. (2012) em estudos com tomate; Hariadi et al. (2015) com seis variedades de arroz, Bayuelo-Jimenez et al. (2012) estudaram quatro genótipos de *Phaseolus* e Ali et al. (2014), que estudaram 33 genótipos de arroz. Contudo, esta não é uma técnica recente: Shannon (1980) e Shannon et al. (1983) estudaram seleções de genótipos com base na produção de biomassa em cultivares de alface. Tais estudos são realizados num espaço curto de tempo comparando-se condições salinas com não salinas. Outra forma de avaliar o índice de tolerância salina entre genótipos e espécies é a determinação do acúmulo de sais na parte aérea em relação a produção de biomassa.

Alguns estudos têm sido realizados em manjeriço (*Ocimum basilicum*, L.) para determinar sua tolerância a salinidade bem como seus principais indicadores (ATTIA et al., 2011; KHALIQ et al., 2014; MAIA et al., 2017; NING, et al., 2015; RAMIN, 2006). Muitos autores descrevem o manjeriço como tolerante ou moderadamente tolerante ao estresse salino. Contudo, devido às suas características botânicas, o manjeriço possui uma diversidade muito grande de genótipos, variedades e cultivares que muitas vezes são difíceis de serem identificados de forma fenotípica, o que implica também na variação da tolerância ou sensibilidade ao estresse salino dentro da espécie. Assim, com ampliação do estudo com genótipos de manjeriço é possível diferenciar caracteres morfofisiológicos e bioquímicos que esclareçam lacunas sobre o desenvolvimento dos mecanismos de tolerância à salinidade, podendo ser útil na seleção de manjeriço para melhoramento genético visando a tolerância estresse salino.

Estudos em sistemas hidropônicos além de otimização dos recursos, como o hídrico, tem como vantagem a não interferência do sistema solo na disponibilidade de nutrientes, conferindo maior controle sobre a nutrição e/ou a toxidez dos nutrientes, e ainda uma rápida resposta devido à redução do ciclo de cultivo. Há também a facilidade de coletar o sistema radicular para estudos nutricionais, entre outros. Este estudo tem por interesse modificações

fisiológicas e bioquímicas que podem ocorrer na planta sob estresse salino, ao longo do tempo de cultivo do manjeriço.

Portanto, este estudo foi realizado com o objetivo de caracterizar marcadores fisiológicos e bioquímicos para determinar a tolerância diferenciada entre seis genótipos de manjeriço (Toscano Folha de Alface, Alfavaca Basilicão, Alfavaca Basilicão vermelho, Gennaro de Menta, Limocino e Grecco a palla), quando submetidos à dose salina sub letal e contribuir com os dados literários quanto a tolerância à salinidade da espécie.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. Efeito dos sais nas plantas

O estresse salino é considerado um dos fatores mais relevantes e limitantes a produção agrícola em termos mundiais, principalmente em regiões áridas e semiáridas devido as condições edafoclimáticas destas regiões (ASHRAF, 2005; CONUS et al. 2009; GHEYI, 2000; MUNNS, 2011). Estima-se que mais de 20% das terras cultivadas em todo o mundo são afetadas por sais, e que este valor é crescente (GUPTA; HUANG, 2014). Em áreas afetadas por sais têm-se estudado a utilização de espécies e cultivares mais resistentes, capazes de obter rendimentos econômicos mesmo em solo salinos sem viabilidade técnica e econômica (NUNES et al., 2009).

Conus et al. (2009), descrevem resistência à salinidade como a habilidade da planta em evitar, por meio de uma regulação salina, que grandes quantidades de sais alcancem o protoplasma, e também de tolerar os efeitos tóxicos e osmóticos associados ao aumento da concentração de sais na planta. Para Shannon e Grieve (1999), a tolerância ou resistência das plantas a salinidade é a capacidade inerente da planta de suportar os elevados efeitos dos sais na zona radicular ou nas folhas, sem um efeito adverso significativo.

Espécies tolerantes à salinidade, denominadas halófitas ou halotolerantes (PARIDA, 2005), são caracterizadas por completarem seu ciclo de vida mesmo em um ambiente com altas concentrações salinas e por manterem a turgência foliar pela acumulação de íons (MAAS; NIEMAN, 1978),

sendo geralmente da flora nativa de solos salinos. Segundo Flowers (2004), espécies halófitas podem suportar concentrações maiores que 400 mM NaCl. Por sua vez, as espécies sensíveis aos sais são denominadas glicófitas que, sob estresse salino não possuem adaptação osmótica eficiente (MAAS; NIEMAN, 1978). Gupta e Huang (2014), mesmo considerando essa divisão grosseira, classificam a maior parte das plantas cultivadas no grupo das glicófitas.

As culturas respondem à salinidade por diferentes maneiras. A salinidade limiar é o nível máximo de salinidade média do extrato de saturação do solo que pode ser tolerado pelas plantas, sem afetar sua produção (AYERS; WESTCOT, 1999). A partir deste conceito, os mesmos autores estabeleceram limites de tolerância relativa à salinidade para a maioria das culturas: plantas sensíveis toleram no máximo 1,3 dS m⁻¹; moderadamente sensível 1,3 - 3,0 dS m⁻¹; moderadamente tolerante 3,0 - 6,0 dS m⁻¹; tolerante 6,0 - 10,0 dS m⁻¹ e altamente tolerante >10,0 dS m⁻¹.

A salinização pode afetar a planta ao longo de todo seu ciclo desde a germinação até a fase reprodutiva, podendo ocasionar a morte em casos extremos. Os danos metabólitos são oriundos dos efeitos osmótico, efeitos tóxicos de íons específicos e distúrbio nutricionais (MARSCHNER, 2011). Assim, torna-se fator limitante para o desenvolvimento de cultivos e induz a alterações morfológicas e metabólicas nas plantas superiores (CONUS et al., 2009). Munns (2002) ainda afirma que o conjunto de alterações metabólicas são idênticas as relatadas para o estresse hídrico.

O estresse osmótico e a toxicidade iônica são os primeiros sinais de estresse salino nas plantas, enquanto que no estresse hídrico o primeiro sinal é o estresse osmótico (ZHU et al., 2016). O estresse osmótico interfere na capacidade da planta de absorver água e nutrientes e ocorre de maneira muito rápida. O estresse iônico é o efeito acumulativo de íons salinos alcançando níveis tóxicos (MUNNS; TESTER, 2008). Tanto para o estresse salino quanto para o estresse hídrico, os efeitos secundários são mais complexos, como o estresse oxidativo; disfunção metabólica: danos nos lipídios das membranas, proteínas e ácidos nucleicos (ZHU et al., 2016).

Hasengawa et al. (2000), por sua vez, propõem que a tolerância a salinidade em plantas é determinada por moléculas efetoras e moléculas reguladoras. As moléculas efetoras (metabólitos, proteínas ou componentes de vias bioquímicas) tem por função adaptar as plantas por meio da homeostase iônica, biossíntese de osmólitos, remover radicais tóxicos, manter o transporte de água e os transdutores de coordenação de resposta de longa distância. Já as reguladoras, componentes das vias de transdução de sinal, são responsáveis pela regulação da quantidade das moléculas efetoras.

No que diz respeito aos solos salinos, os principais íons encontrados nestes ambientes são o Na^+ e o Cl^- . Segundo Amorim et al. (2002), a alta concentração destes sais no solo reduz o potencial osmótico do solo, e por consequência reduz também a capacidade da planta em absorver água mesmo se houver disponibilidade hídrica. Quando absorvidos pela raiz, estes sais chegam às folhas por meios do fluxo de transpiração, onde são acumulados e podem alcançar níveis tóxicos (MUNNS, 2002).

Das alterações anatômicas causada pelo excesso de sais, são observadas lignificação das paredes celulares (NEVES, 2009; OURIQUE et al., 2010); aumento da espessura do mesofilo foliar (PARIDA et al., 2004) e das estrias de Caspary, favorecendo a redução do transporte de íons de Na^+ pela via apoplástica (FERNANDEZ-GARCIA et al., 2009); acúmulo de cristais de oxalato de cálcio nas células (HUNSCHE et al., 2010); diminuição do número de células do xilema e floema, e desorganização no arranjo dessas células (HU et al., 2005).

Outro efeito secundário ao estresse salino é o estresse oxidativo que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a defesa antioxidante, levando ao dano oxidativo de macromoléculas e, eventualmente, de estrutura celular (MENEGUZZO et al., 1999). Tarchoune et al. (2010) sugerem que os efeitos da salinidade no crescimento das plantas pode ser uma relação específica, sendo a tolerância ao sal correlacionada com a estimulação de enzimas antioxidantes e sua maior capacidade para remover EROs.

1.2.2. Efeito osmótico

Quando as forças de embebição dos tecidos das raízes são maiores que a força com que a água é retida no solo, ocorre a entrada da água nas células das raízes. Contudo, a presença de sais solúveis no solo faz com que a água seja mais fortemente retida por seu efeito osmótico, podendo ocorrer o estresse hídrico na planta (DIAS; BLANCO, 2010). Este fenômeno faz com que as células foliares percam água, mas esta perda de volume celular e turgência é transitória (MUNNS; TESTER, 2008).

O aumento da pressão osmótica causado pelo excesso de sais poderá acarretar na seca fisiológica, que é um fenômeno pelo qual, a absorção de água pela planta torna-se impossível, podendo ocorrer a perda de água para o meio de cultivo (DIAS; BLANCO, 2010).

O efeito osmótico do sal em torno das raízes tem por consequência a diminuição da taxa de crescimento foliar ao longo dos dias, por meio das reduções no alongamento celular e também a divisão celular. As proporções das células mudam, com mais redução na área do que a profundidade, portanto as folhas tornam-se menores e mais espessas. Estas respostas são semelhantes ao estresse hídrico (MUNNS; TESTER, 2008).

Altas concentrações de Na^+ interrompe processos celulares ao interferir na atividades de enzimas sensíveis ao Na^+ e afeta o transporte de íons essenciais. Deste modo, ao regular a absorção de Na^+ pelas células e seu transporte de longa distância, parece ser uma adaptação crucial das plantas ao estresse salino (MUNNS et al., 2000).

As plantas tolerantes respondem ao estresse e salino por meio do acúmulo de íons para a manutenção do fluxo de água, ou pela síntese de moléculas orgânicas para o ajuste osmótico, ou ainda pela exclusão parcial de íons do citosol, de modo a manter um gradiente osmótico favorável para absorção de água pelas raízes, evitando a toxicidade citoplasmática. As plantas sensíveis ao estresse salino tendem a excluir os sais na solução do solo e são ineficientes para o ajustamento osmótico (DIAS; BLANCO, 2010). O ajustamento osmótico é o processo de acúmulo de solutos pelas células no

qual o potencial hídrico de uma célula pode ser diminuído sem uma diminuição associada no turgor das células (ASHRAF, 2004).

1.2.3. Efeito de íons tóxicos (Na^+ e Cl^-)

A predominância de Cl^- e/ou de Na^+ no meio de crescimento, causa toxidez nas plantas ao se acumular nos tecidos vegetais, tanto no sistema radicular quanto na parte aérea (MUNNS, 2002). De acordo com Rómheld (2012), a toxicidade é o aumento na absorção de um elemento pela planta com redução crítica em seu crescimento. O mesmo autor, todavia, ressalta que o critério utilizado para identificar esta redução no crescimento precisa ser definido. Nesse âmbito, dois fenômenos merecem atenção dado a sua importância toxicológica: o acúmulo de íons e o desequilíbrio nutricional. O acúmulo de íons tóxicos ocorre quando os sais são transportados para a folha pelo fluxo de transpiração e promovem mudanças na absorção e transporte de íons nutrientes, afetam o crescimento, causam desequilíbrio iônico que resulta da inativação de enzimas, deficiência nutricional e estresse oxidativo (IQBAL, 2014; LACERDA, 2004; LACERDA, 2003; MUNNS, 2002). O desequilíbrio nutricional, por sua vez, é causado pela redução na absorção e transporte de elementos essenciais ao desenvolvimento das plantas, por meio do aumento nas concentrações dos íons de Na^+ e Cl^- no interior da planta. Por exemplo, a diminuição das concentrações nos níveis de K^+ e Ca^{2+} (SHANNON et al., 1998).

Em condições salinas, as plantas estão submetidas a quantidades elevadas de sais trocáveis do solo (Ex: Na^+ , K^+ e Ca^{2+}). Nestas condições as plantas absorvem preferencialmente o Na^+ e reduz a absorção de K^+ e Ca^{2+} . Entretanto, para manter a integridade e funcionamento das membranas é requerido absorção de K^+ e Ca^{2+} em taxas razoáveis (BERNSTEIN, 1975; MARSCHNER, 2011).

O K^+ possui diversas funções nos processos metabólicos celulares e é o cátion mais abundante nas plantas. Contudo, sabe-se que por sua similaridade iônica ao Na^+ , é susceptível ao desequilíbrio na homeostase iônica sob

situação de estresse salino. Em concentrações fisiológicas normais, os níveis de K^+ (100-200 mM) e de Na^+ (1-10 mM) obedecem uma elevada razão K^+/Na^+ no citosol. Desta maneira, um aumento nas concentrações extracelulares de Na^+ promoverá um desequilíbrio eletroquímico da membrana celular que favorecerá o transporte passivo de sódio para o citosol, e por consequência haverá efluxo de K^+ e redução na razão K^+/Na^+ e desequilíbrio iônico e nutricional (APSE; BLUMWALD, 2007; FOSTER; MIKLAVCIC, 2015; KRONZUCKER; BRITTO, 2011).

Para manter o nível de Na^+ no citosol baixo quando a concentração externa salina for elevada, são necessários processos ativos (FOSTER; MIKLAVCIC, 2016). Assim, mecanismos que mantêm baixa as concentrações de Na^+ no citossol (efluxo ativo para o apoplasto, restrição de transporte para a célula e compartimentalização no vacúolo) são vitais para a manutenção da homeostase iônica. Se há o desequilíbrio iônico na célula, ocorre redução significativa nas taxas de crescimento das culturas, senescência precoce da folha e morte prematura (FOSTER; MIKLAVCIC, 2016; KRONZUCKER; BRITTO, 2011). Os mecanismos que envolvem a manutenção adequada do K^+ sob estresse salino parecem ser dependentes da absorção seletiva de K^+ , compartimentalização e distribuição seletiva de K^+ , Cl^- e Na^+ (MUNNS et al., 2000).

O cloreto é um ânion que quando retido pelas raízes é translocado para a folha por meio do fluxo de transpiração onde se acumula e é amplamente conhecido como íon fitotóxico, principalmente quando associado ao Na^+ , formando o NaCl. No entanto, há grande variabilidade na sensibilidade de plantas ao Cl^- podendo haver diferenças entre espécies, e até mesmo entre genótipos (XU et al., 2000).

Muitos estudos apontam o cloreto como elemento essencial na ativação de enzimas fotossintéticas, regulação osmótica, divisão celular e prevenção de doenças em plantas (ESNA-ASHARI; GHOLAMI, 2010). De acordo com Maschner (1986), o cloreto é essencial para muitas espécies a uma taxa de 0,3 a 1,0 mg/g de massa seca. Contudo, Blanco e Dias (2010) afirmam que para plantas sensíveis nesta taxa ocorre os sintomas de toxidez. Os mesmos

autores pontuam adicionalmente que plantas tolerantes podem acumular de 4,0 a 5,0% de cloreto sem apresentarem sintomas.

Estudos apontam que o cloreto pode ser utilizado para melhoria na qualidade de frutos de morango, sem alterações em seu flavor (ESNA-ASHARI; GHOLAMI, 2010).

O Na^+ e Cl^- quando não compartimentados, são tóxicos. Este compartimento deve possuir uma membrana que pode absorver, mas não vaziar estes íons, como a membrana do vacúolo (FLOWERS et al., 2015). O desequilíbrio nutricional causa danos indiretos, como redução da condutância estomática, diminuição da taxa fotossintética, alteração na condutividade hidráulica das raízes, na transpiração e causa abscisão foliar, afetando negativamente a taxa de crescimento das espécies vegetais (ROMERO-ARANDA et al., 1998; MUNNS, 2002; DIAS; BLANCO, 2010).

1.2.4. Mecanismo de tolerância à salinidade

Mecanismos de tolerância à salinidade referem-se à capacidade das plantas em tolerar os efeitos osmótico e tóxicos de excessos de sais por meio da regulação salina e evitar que estes sais cheguem ao protoplasma. A restrição ao crescimento e desenvolvimento das culturas e as manifestações dos efeitos tóxicos vão depender do estágio de desenvolvimento da cultura, do grau de resistência da espécie à salinidade, do tipo de sal utilizado e ainda do tempo de exposição aos sais (FERREIRA; REBOUÇAS, 1992). Entre as principais adaptações para tolerância ao estresse induzido pelo sal pode-se citar o acúmulo e compartimentalização, ou exclusão dos íons Na^+ e Cl^- tanto a nível de células como de plantas inteiras (MUNNS; TESTER, 2008). Segundo Hasegawar et al. (2000), alta taxa de acúmulo de íons tóxico em folhas maduras e velhas pode ser um mecanismo de proteção de células meristemáticas.

Os mecanismos de tolerância à salinidade podem ser de alta ou baixa complexidade. São considerados de baixa complexidade aqueles que alteram rotas bioquímicas, enquanto de altas complexidades são mecanismos no qual

as alterações protegem processos vitais, como por exemplo a fotossíntese e a respiração. Segundo Bohnert et al. (1999) estes mecanismos atuam ordenadamente de forma que para a proteção dos processos essenciais é necessário primeiro a atuação dos mecanismos de baixa complexidade (PARIDA; DAS, 2005).

Mecanismos bioquímicos e moleculares são desenvolvidos pelas plantas sob estresse salino. Segundo Iyengar; Reddy (1996), estas vias bioquímicas tendem a agir de forma aditiva e sinérgica. Parida e Das (2005), em sua revisão sobre efeito da tolerância de plantas à salinidade, citam diversos caminhos bioquímicos que auxiliam os vegetais: acúmulo ou exclusão de íons seletivos; controle no processo e absorção e transporte dos íons para a parte aérea; compartimentação de íons tanto a nível celular quanto na planta inteira; síntese de solutos orgânicos compatíveis para manutenção da homeostase celular; alterações na via fotossintética; alteração estrutural; indução enzimática antioxidante, e a indução de hormônios vegetais.

1.2.5. Ajustamento osmótico

O ajustamento osmótico corresponde ao acúmulo de íons inorgânicos no vacúolo ou solutos orgânicos de baixo peso molecular no citoplasma das células foliares, aumentando a concentração salina no interior das plantas, ainda que mantendo a concentração salina no citoplasma em baixos níveis. Assim, o potencial da água de uma célula pode diminuir sem uma redução do turgor celular, por meio do aumento líquido no conteúdo de soluto por célula. Desta maneira, os mecanismos metabólicos e enzimáticos e a hidratação de proteína das células permanecerão sem interferência (DIAS; BLANCO, 2010; MUNNS; TESTER 2008; TAIZ; ZEIGER, 2004).

O ajustamento osmótico aumenta a pressão osmótica no interior das células, mantendo a absorção de água e assim pressão de turgor das células, conferindo continuidade dos processos fisiológicos, alongamento e divisão celular. Constitui-se um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes sob estresse salino (MARIJUAN; BOSCH, 2013; HOPKINS, 1999), tido como

diferencial entre plantas tolerantes e sensíveis. A compartimentalização dos solutos inorgânicos aumenta a capacidade da planta em superar os efeitos do estresse osmótico e hídrico, quando por meio deste processo ocorre a manutenção da homeostase de íons (NAZAR et al., 2011; KHAN et al., 2012). De acordo com Niu et al. (1995), este mecanismo tem por objetivo final manter uma alta relação K^+/Na^+ no citoplasma.

Os solutos orgânicos compatíveis são chamados osmólitos. A concentração destes solutos tende a aumentar para alcançar o equilíbrio osmótico. Os principais íons inorgânicos acumulados são o Na^+ e Cl^- . Há também relatos que o acúmulo de solutos pode ultrapassar os limites da regulação celular, com ação inversa ao proposto, ou seja, podendo comprometer o crescimento da planta (PITMAN, 1984).

1.2.6. Solutos orgânicos compatíveis

Os osmólitos são caracterizados como moléculas neutras sob pH fisiológico, que possuem baixa massa molecular e alta solubilidade em água, também são atóxicos para os organismos mesmo quando acumulados em altas concentrações no citosol (YOSHIDA, 2002). A contribuição relativa dos solutos orgânicos é variável de acordo com cada espécie, cultivares e mesmo entre diferentes compartimentos dentro da mesma planta (ASHRAF; BASHIR, 2003).

Os solutos compatíveis não inibem reações metabólicas normais. Para tolerar a salinidade os osmólitos protegem as estruturas e o equilíbrio osmótico que sustentam o influxo contínuo da água, por meio da redução do potencial osmótico interno. Entende-se ainda que, como compostos hidrofílicos, eles poderiam substituir a água na superfície de proteínas, complexos de proteínas ou membranas, atuando como osmoprotetores (HASENGAWA et al., 2000).

O acúmulo de carboidratos solúveis em plantas tem sido amplamente relatado como respostas à salinidade, embora o aumento desta concentração tenha sido associado com a baixa taxa de assimilação de CO_2 . Entre os compostos orgânicos os açúcares contribuem com até 50% do potencial osmótico. No entanto, é necessário grande esclarecimento no papel dos

açúcares solúveis como indicadores de tolerância salina (ASHRAF; HARRIS, 2004).

As proteínas solúveis quanto a sua função de osmólitos, são classificadas em dois grupos: as que se acumulam unicamente sob estresse salino e as que respondem a outros estresses (calor, frio, seca, alagamento e deficiência e toxidez mineral). As proteínas podem ainda serem sintetizadas em resposta ao estresse salino, ou pode estar presente no vegetal em baixa concentração e aumentam a concentração quando ocorrer a exposição ao mesmo estresse (ASHRAF; HARRIS, 2004).

Aminoácidos também se acumulam em plantas sob estresse salino como soluto compatível. São aminoácidos importantes a alanina, arginina, glicina, serina, leucina e valina. A prolina é um aminoácido importante e bastante relatado com aumento de sua concentração sobre estresse salino. Espécies monocotiledôneas são caracterizadas por acumular prolina em condições de estresse salino. Entretanto, este acúmulo ocorre também sobre estresse hídrico, caracterizando este acúmulo como não específico a salinidade. O papel da prolina na osmoregulação para a tolerância salina geralmente tem sido questionada (ASHRAF; HARRIS, 2004).

1.2.7. Fotossíntese e pigmentos

Diversos estudos apontam para os efeitos deletérios da salinidade na fotossíntese: a salinidade reduz a taxa fotossintética líquida, a transpiração, a condutância estomática, além de aumentar o teor de clorofila quando em níveis salinos baixos e degradá-la com alta salinidade.

Mao et al. (2007) afirma que clorofila é o principal pigmento fotossintético e a quantificação do seu teor reflete na taxa fotossintética. Outros autores sugerem que a variação no teor de pigmento pode fornecer informações sobre o desempenho fisiológico e capacidade fotossintética das folhas, bem como a presença de estresse ou doenças (BACHA et al., 2017).

Sevengor et al. (2011), em estudos com genótipos de abóbora, relatam que o teor de clorofila diminuiu significativamente para todos os genótipos

submetidos ao estresse salino (100 mM NaCl por sete dias). Os mesmos também apontam que a redução da clorofila ocorreu devido ao aumento da clorofilase, enzima de degradação da clorofila, induzida pelo sal. Estudos de Noreen e Ashraf (2009) com rabanete submetidos a 0, 80 e 160 mM NaCl também suporta esta ideia. Outros autores relatam redução de clorofila induzido pelo sal (BACHA et al., 2017, JIANG et al 2017, NAZARBEYGI et al. 2011 e TAIBI et al., 2016).

1.2.8. Características botânicas do manjericão

Manjericão é o nome vulgar dado à espécie *Ocimum basilicum* L. que possui a seguinte classificação botânica:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Família: Lamiaceae

Gênero: *Ocimum*

Espécie: *Ocimum basilicum*

Nome científico: *Ocimum basilicum* L.

Entre as ervas medicinais, o gênero *Ocimum* é o grupo mais popular no mundo e abrange espécies selvagens, domesticadas, anuais e perenes (REWERS; JEDRZEJCZYK, 2016). Pertence família botânica Lamiaceae que possui cerca de 200 gêneros e 3200 espécies herbáceas e arbustivas distribuídas no globo terrestre (LIMA; CARDOSO, 2007). Estima-se que aproximadamente entre 50-150 espécies, pertencem ao gênero *Ocimum* (SIMON et al., 1990). Contudo, Paton (1992) amplia esta estimativa para 30-300 espécies.

Segundo Khan et al. (2015) o manjericão é nativo de regiões tropicais e subtropicais e está difundido na Ásia, África e América do Sul. Para Stobart (1982) a região de origem do *Ocimum basilicum* é a Ásia tropical, relatada entre o Médio Oriente até o Irão, e foi introduzindo às Américas no século XVII. Klimánková et al. (2008), também relatam que o manjericão é nativo da Índia e outras regiões da Ásia. Para Paton (1992), a África é considerada o principal centro de diversidade do gênero.

O grande número de espécies no gênero *Ocimum* encontra-se associado às características de polinização cruzada, hibridação interespecífica, poliploidia e aneuploidia, além de alterações na estrutura do genoma. Estas características resultaram em um alto grau de polimorfismo e uma elevada gama de subespécies, variedades e genótipos de *Ocimum* difíceis de serem identificadas e caracterizadas (BLANK et al., 2004; REWERS; JEDRZEJCZYK, 2016). Assim, há variação na pigmentação, forma e tamanho de folhas e inflorescência (GRAYER et al., 1996). Algumas pesquisas relatam hibridação intraespecífica e interespecífica em *Ocimum* (DA COSTA et al., 2014; KHOSLA, 1995; PATEL et al., 2015). Paton (1992) ressalta a importância das hibridações como recurso para o melhoramento genético e a possibilidade de desenvolver espécies com potenciais industriais.

Há ainda a existência de quimiotipos, isto é, genótipos que não se diferem na morfologia, mas sim na composição química do óleo essencial (SIMON et al., 1990; VIÑA; MURILO, 2003), de maneira que confere um variado potencial medicinal a espécie. Os quimiotipos são identificados por meio da análise da composição química do óleo essencial e são denominados de acordo com seus componentes majoritários. Klimánková et al. (2008), identificaram cinco quimiotipos de manjeriço (linalol, metilcavicol, eugenol, bergamoteno e o cinamato de metil). Telci et al. (2006) também identificaram diferentes quimiotipos entre os sete genótipos estudados (Linalol, cinamato de metil, metil cinamato/linalol, metil eugenol, citral, metil chavicol e metil chavicol/citral). Há também relatos de variação na composição química do óleo essencial entre os órgãos da planta de manjeriço (CHALCHAT; O'ZCAN, 2008). Contudo, o ambiente pode alterar a composição química do óleo, portanto a classificação por quimiotipos deve ser cuidadosa, sugerindo ser utilizada em condições ambientais específicas ao cultivo.

Algumas pesquisas foram desenvolvidas na tentativa de definir um padrão de identificação botânica para o gênero. Labra et al (2004) estudaram a combinação da identificação de marcadores moleculares, componentes de óleo volátil e traços morfológicos para identificar as espécies. Rewers e Jedrzejczyk (2016), seguindo a mesma linha, propuseram um sistema padronizado

utilizando apenas recursos genéticos como o uso de marcadores genômicos, como técnica auxiliar na conservação e coleta de germoplasma e na taxonomia das espécies de *Ocimum*.

De modo geral, a espécie é caracterizada por possuir um caule ereto, de seção quadrangular, um hábito arbustivo e ramificado que pode atingir 0,3 a 0,6 m de altura. As folhas são ovadas a elípticas, simples, membranáceas com bordas onduladas e nervuras salientes. As flores, de corola brancas, amareladas ou avermelhadas, encontram-se agrupadas em racemos terminais curtos, com sementes de boa capacidade germinativa (ALMEIDA, 2006; LORENZI; MATOS, 2008).

1.2.9. Exigências edafoclimáticas e cultivo

O manjeriço é uma planta produtora de óleo essencial, com importância comercial e medicinal, sendo amplamente cultivado em todo o mundo (ATTIA et al., 2009; KALITA; KHAN, 2013). É cultivado como cultura anual, sob condições naturais e em cultivos protegido. O cultivo protegido maximiza o rendimento e permite um fornecimento regular da produção, durante todo o ano. O cultivo comercial do manjeriço destina-se a extração de óleo essencial para os mercados farmacêuticos, cosméticos e condimentares e quando em menor escala para comércio local, como as feiras livres.

Apesar de ser considerada uma espécie de climas temperados a temperados-quentes, tem boa adaptação climática sendo cultivada em todo o Brasil em hortas domésticas para uso condimentar e medicinal (LORENZI; MATOS, 2008). O cultivo comercial recomendado é o cultivo protegido durante todo o ano e em campo apenas no período quente (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

A espécie é classificada como uma planta perene. O florescimento é considerado tardio e a colheita das folhas aromáticas pode ser realizada várias vezes ao ano (LORENZI; MATOS, 2008). Com o manejo de cortes sucessivos apresenta boas produtividades até o segundo ano de cultivo. A propagação pode ser realizada por sementes ou estacas herbáceas de plantas matrizes

selecionadas pelo vigor e sanidade. As temperaturas ótimas de crescimento situam-se entre os 15 e 25 °C e é uma planta sensível a geadas. Prefere solos francos, ricos em matéria orgânica, com boa drenagem e pH ente 6,0 e 7,5. Quando sob cultivo protegido, o manjericão normalmente produz folhas maiores em relação ao cultivo desprotegido que podem ser preferidas pelo mercado (ALMEIDA, 2006; PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Além da produção de folhas fresca para o mercado culinário, o manjericão é rico em óleos essenciais. Os óleos essenciais são produzidos por meio do metabolismo secundário. As substâncias oriundas do metabolismo secundário são denominadas princípio ativos ou metabólitos secundários (CASTRO et al., 2001). Os metabólitos secundários são caracterizados por possuir estrutura complexa, baixo peso molecular, atividades biológicas definidas e, estão em um grupo específico de plantas, as espécies medicinais (BERG; LUBERT, 2008).

Anteriormente, pensava-se que os metabólitos secundários não possuíam funções específicas nas plantas. Atualmente sabe-se que os óleos possuem importante papel ecológico, a exemplo de odor característico para atração de insetos polinizadores para o auxílio nas interações ecológicas, na defesa contra herbívoros, na regulação da taxa de decomposição da matéria orgânica no solo e ainda atuam como agentes antimicrobianos (HARBONE, 1987). São exemplos de metabólitos secundários as resinas, os óleos essências, alcalóides, flavanóides, taninos e outros (CASTRO et al., 2001). Os óleos essenciais podem estar localizados em diferentes órgãos da planta (folhas, caule, raízes, flores), em organelas especializadas, denominadas canais secretores e pelos glandulares (HARBONE, 1987).

1.2.10. Importância fitoterapêutica do manjericão

Em estudos etnobotânicos o manjericão é citado com diversos usos tradicionais no tratamento de doenças ou agravo a saúde, como: acidentes vasculares cerebrais, hipertensão, intoxicação alcoólica, ansiedade, enxaquecas, cólicas menstruais, carminativo, lactante, úlceras de goma,

problemas renais, acne, melhorar a circulação sanguínea, diabetes, doenças oculares, insônia, estimulante digestivo e constipação (GRAYER et al., 2004; KHAN et al., 2015; O'ZCAN et al., 2005; PANDEY et al., 2014; POLITEO et al., 2007; VIÑA; MURILO, 2003).

O manjeriço possui também uma diversidade de atividade biológica como repelente, inseticida, nematicida, antibacteriano, antifúngico, além de possuir agentes antioxidantes (PANDEY et al., 2014; LEE et al., 2005; SIMON et al., 1990). Tal diversidade de usos para a espécie pode estar relacionada a sua diversidade em compostos voláteis como os óleos essenciais. A composição química dos óleos voláteis em manjeriço é bastante estudada desde o século XX, no qual foram identificados aproximadamente 190 compostos químicos (CHANG et al., 2008).

Dentre os compostos voláteis majoritários destacam-se o eugenol, 1,8-cineol e linalol, devido à sua importância na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar (HILTUNEN; HOLM, 1999). Segundo Kalita e Khan (2013), o óleo essencial de *Ocimum* é rico em cânfora, citral, geraniol, linalol, acetato de linalilo, metilcavicol, eugeol, timol, entre outros, o que favorece sua valorização no setor industrial de demanda por produtos naturais. Como visto, a concentração majoritária de cada componente do óleo definirá o quimiotipo da variedade/espécie/cultivar. Também são encontrados compostos fenólicos (TARCHOUNE et al., 2013), como o ácido rosmarinico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido litospérico, ácido hidroxi-ácido benzóico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico (KHAN et al., 2015).

1.2.11. Estresse salino no manjeriço

O crescimento e a produção de manjeriço podem ser afetados por fatores ambientais como a salinidade da água e do solo. O manjeriço é classificado como tolerante ou moderadamente tolerante a salinidade (ATTIA et al., 2009), mas é necessário ainda conhecer os aspectos fisiológicos desse comportamento. Bekhradi et al. (2015) afirmam que a variação genotípica do manjeriço favorece respostas diferenciadas ao estresse salino na espécie.

A variabilidade genética do manjeriço pode servir como importantes modelos para estudar as respostas de adaptação ao estresse salino (ORMEÑO et al., 2007). Estudos com duas cultivares de manjeriço, Napoletano e Genovese, sob estresse salino a 100 mM NaCl, aponta para a tolerância moderada à salinidade, apesar da redução significativa da massa fresca e da área foliar (BARBIERI et al., 2012). Bione et al. (2014), por sua vez, classificou a variedade de manjeriço estudada de acordo com o nível de salinidade tolerado e assim sugeriu: tolerante para águas ao nível de 1,45 dS m⁻¹, moderadamente sensível de 3,80 e 6,08 dS m⁻¹ e sensível à salinidade à 8,48 dS m⁻¹ com redução de massa fresca superior a 60%.

Attia et al. (2009), em estudos sobre o transporte de Na⁺ no manjeriço sob concentrações salinas de 25 e 50 mM NaCl observaram que a maior seletividade para o transporte de K⁺ pelo xilema, e o acúmulo de uma parte do Na⁺ nas raízes, são mecanismos importantes para a aclimação do manjeriço ao estresse salino. Assim, segundo os autores, a tolerância ao estresse salino no manjeriço está diretamente relacionada com a capacidade de manter normalizadas as taxas de K⁺, e ao mesmo tempo regular o acúmulo excessivo de sódio nas folhas em valores compatíveis aos padrões fisiológicos normais. O estudo complementa que a capacidade de manter a turgescência foliar, mesmo sobre alto acúmulo de sais (Na⁺ e Cl⁻) nas folhas, é um indício da eficiência do mecanismo de compartimentalização dos íons tóxicos e sugere que para o manjeriço, o Na⁺ é utilizado com eficiência no processo de ajustamento osmótico.

Outro fator relevante a tolerância do manjeriço a salinidade, estudados por Attia et al. (2009), é a recirculação do Na⁺ como mecanismo de proteção das folhas aos excessos deste íon. Foi identificado que uma pequena fração de Na⁺ (não mais de 20%), transportado pela seiva do xilema é redirecionada para as raízes, o que sugere a origem de um mecanismo de dessalinização da seiva do xilema ao longo do caule.

Segundo Ning et al. (2015), o maior acúmulo de sódio nas raízes de manjeriço (57-65%), quando comparado com as folhas (6-11%), implica numa restrição de transporte deste íon das raízes para as folhas, e é um importante

mecanismo de tolerância a salinidade. Corroborando com estes autores, Heidari (2012), afirma que quantidades muito grandes de sais transportados pelo xilema pode afetar as células de maneira a reduzir a transpiração e a fotossíntese. Reduções na fotossíntese e nos teores de pigmentos em manjeriço são relatados por diversos autores (ATTIA et al., 2011; BEKHRADI et al., 2015; HEIDARI, 2012).

Attia et al. (2011), em estudos com duas variedades de manjeriço, identificadas por seu tamanho de folhas (SSL-folha pequena e LSL-folhas grandes), sugeriram que o manjeriço tolera mais o estresse salino no nível de atividade fotossintética e produção de biomassa do que para o desenvolvimento foliar. De acordo com os mesmos pesquisadores, a salinidade altera a composição mineral e a absorção de nutrientes, que tem por consequência o desequilíbrio iônico e/ou toxicidade no manjeriço. Barbieri et al. (2012), também estudaram estresse salino em duas variedades de manjeriço (Napoletano e Genovese) e concluíram que em conjunto a redução da densidade estomática, o acúmulo tardio de moléculas sinalizadoras e inibidoras de crescimento (ácido abscísico - ABA e prolina), níveis elevado de ascorbato e a atividade de polifenol oxidase (PPO), auxiliaram a melhor eficiência do uso de água e aclimação da variedade Genovese. Assim, concluem que a tolerância do Genovese é função do conjunto de características morfológicas, fisiológicas e metabólicas interligadas para uma melhor aclimação ao estresse salino.

Outro mecanismo importante recentemente descoberto é a exclusão de íons tóxicos por glândulas secretoras de óleo no manjeriço. Ning et al. (2015), identificaram que além dos compostos orgânicos, glândulas secretoras em manjeriço continham Na^+ e Ca^{2+} e que a percentagem de Na^+ nas secreções aumentaram, enquanto que a de Ca^{2+} diminuiu com o aumento dos níveis salino. Esta descoberta sustenta a hipótese que o manjeriço possui a capacidade de secreção de sais, o que contribui para a manutenção de baixos níveis de Na^+ , bem como para a regulação do equilíbrio salino em suas folhas, sendo um possível mecanismo detoxificação do sal na planta.

O aumento da salinidade reduziu significativamente a espessura foliar e a área das células parenquimáticas em manjeriço Green Iranian, a transpiração e o conteúdo de clorofilas diminuíram significativamente, enquanto que a peroxidação lipídica aumentou no genótipo Genovese (BEKHRADI et al., 2015). Heidari (2012), estudando duas espécies de manjeriço (*O. basilicum* L e *O. minimum* L.) relata uma maior redução da massa fresca, clorofila *a* e *b*, e carotenóides no *O. minimum* L., sob estresse salino à 60 mM NaCl, como principal determinante da sensibilidade desta espécie, a mesma apresentou também maior teor de prolina nas folhas. Ambas variedades não apresentaram diferenças nos teores de carboidratos solúveis.

A concentração de vitaminas e compostos fenólicos em folhas de manjeriço são influenciadas por vários fatores, incluindo solos, irrigação e as condições climáticas. De acordo com Barbieri et al. (2012), componentes voláteis, como eugenol e fenilpropanóides, podem conferir tolerância ao estresse salino por meio de funções antioxidantes e sinalizadoras. Ormeño et al. (2007), também se referem à característica volátil das plantas como variável genética que interfere na adaptação da espécie ao estresse salino. Entretanto, mesmo considerando diferenças adaptativas entre quatro variedades de manjeriço, Bekhradi et al. (2015), não relataram diferença no teor total de ácidos fenólicos e antocianinas nas condições de crescimento salino (40 e 80 mM NaCl por 25 dias).

Quanto aos teores do óleo essencial no manjeriço, tem sido relatado por muitos autores o aumento no teor de óleo com o aumento da salinidade. Bernstein et al. (2009), observaram que com o aumento da salinidade de 1 para 130 mM NaCl, houve também aumentos nos teores de óleo essencial e carotenóides nas folhas, que foi associada a uma forte redução da biomassa foliar. Os autores sugerem que tais respostas explicam ainda mais a sensibilidade moderada do genótipo. Os mesmos autores ainda observaram que para a cultivar Perrie, à 100 mM NaCl durante 25 dias houve um aumento de 70% no teor de óleo essencial no manjeriço. Em contrapartida, Alves et al. (2015), Carrasco et al. (2007) e Barbieri et al. (2012) observaram que o aumento dos níveis salinos não apresentou alterações significativas na

produção de óleo essencial para manjeriço. Taurchoune et al. (2013), avaliaram o rendimento de óleo essencial de manjeriço submetido ao estresse com dois tipos de sais (Na_2SO_4 e NaCl), e observaram que diminuiu significativamente à 25 mM Na_2SO_4 (28%) e mostrou um aumento em 50 mM NaCl (27%).

1.3. REFERÊNCIAS

AKÇA, Y; SAMSUNLU, E. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and K/Na ratio in walnut, **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 5, p.1513-1520, 2012.

ALI, M. N.; YEASMIN, L.; GANTAIT, S.; GOSWAMI, R.; CHAKRABORTY, S. Screening of rice landraces for salinity tolerance at seedling stage through morphological and molecular markers. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 20, n. 4, p. 411-423, 2014.

ALMEIDA, D. **Manual de Culturas Hortícolas** – Volume I. Presença (Ed.). Lisboa, 2006.

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**, v. 17, n. 4, p. 807-813, 2015.

AMORIM, J. R. A.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; AZEVEDO, N. C. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n. 2, p. 167-176, 2002.

APSE, M. P.; BLUMWALD, E. Na⁺ transport in plants. **FEBS Letters**, v. 581, p. 2247–2254, 2007.

ASHRAF, M.; BASHIR, A. Salt stress induced changes in some organic metabolites and ionic relations in nodules and other plant parts of two crop legumes differing in salt tolerance. **Flora**, v. 198, n. 6, p. 486-498, 2003.

ASHRAF, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

ASHRAF, M. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. **Flora**, v. 199, p. 361-376, 2004.

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

ATTIA, H.; KARRAY, N.; ELLILI, A.; MSILINI, N.; LACHAÂL, M. Sodium transport in basil. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.31, p. 1045–1051, 2009.

ATTIA, H.; OUHIBI, C.; ELLILI, A.; MSILINI, N.; BOUZAI"EN, G.; KARRAY, N.; LACHAA"EL, M. Analysis of salinity effects on basil leaf surface area, photosynthetic activity, and growth. **Acta Physiologiae Plantarum**. 824, 33:823–833, 2011.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade de água na agricultura**. 2.ed. Campina Grande: UFPB, FAO, 1999, 153p. (Estudos Irrigação e Drenagem, 29 revisado).

BACHA, H.; TEKAYA, M.; DRINE, S.; GUASMI, F.; TOUIL, L.; ENNEB, H.; TRIKI, T.; CHEOUR, F.; FERCHICHI, A. Impact of salt stress on morpho-physiological and biochemical parameters of *Solanum*

lycopersicum cv. *Microtom* leaves. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 364-369, 2017.

BARBIERI, G.; VALLONE, S.; ORSINI, F.; PARADISO, R.; PASCALE, S.; NEGRE-ZAKHAROV, F.; MAGGIO, A. Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 1737-1746, 2012.

BAYUELO-JIMENEZ, J. S.; JASSO-PLATA, N.; OCHOA, I. Growth and physiological responses of *Phaseolus* species to salinity stress. **International Journal of Agronomy**, v. 2012, p. 1-13, 2012.

BEKHRADI, F.; DELSHAD, M.; MARÍN, A.; LUNA, M. C.; GARRIDO, Y.; KASHI, A.; BABALAR, M.; GIL, M. I. Effects of salt stress on physiological and postharvest quality characteristics of different iranian genotypes of basil. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 56, n. 6, p. 777-785, 2015.

BERG, J. M. T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 545 p.

BERNSTEIN, L. Effects of salinity and sodicity on plant growth. **Annual Review of Phytopathology**, v. 13, p. 295-312, 1975.

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**, v. 156, p. 167-177, 2009.

BIONE, M. A. A.; PAZ, V. P. DA S.; SILVA, F.; RIBAS, R. F.; SOARES, T. M. Crescimento e produção de manjericão em sistema hidropônico NFT sob

salinidade. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 18, n. 12, p. 1228-1234, 2014.

BLANK, A. F.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS NETO, A. L.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p. 113-116, 2004.

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

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2001, 104 p.

CARRASCO, G.; RAMÍREZ, P.; HERMINE VOGEL, H. Efecto de la conductividad eléctrica de la solución nutritiva sobre el rendimiento y contenido de aceite esencial en albahaca cultivada en nft. **Idesia**, v. 25, n. 2, p. 59-62, 2007.

CHALCHAT, J.; O'ZCAN, M. M. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. **Food Chemistry**, v. 110, p. 501-503, 2008.

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

CONUS, L. A.; CARDOSO, P. C.; VENTUROSOS, L. R.; SCALON, S. P. Q. Germinação de sementes e vigor de plântulas de milho submetidas ao estresse salino induzido por diferentes sais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 067-074, 2009.

DA COSTA, A. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; DA SILVA, M. A. A. P.; ALVES, M. F.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. The impact of hybridization in the volatile and sensorial profile of *Ocimum basilicum* L. **Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-8, 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. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e publicados**. 1. ed. Fortaleza: Inctsal, 2010, v. 1. 472 p.

ESNA-ASHARI, M.; GHOLAMI, M. The effect of increased chloride (Cl⁻) content in nutrient solution on yield and quality of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruits. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research** vol, v. 18, n. 1, p. 37-44, 2010.

FAGERIA N. K.; SOARES FILHO W. S.; GHEYI H. R. Melhoramento genético vegetal e seleção de cultivares tolerantes à salinidade. In: GHEYI HR; DIAS NS; LACERDA CF (eds). **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos Básicos e Aplicados**. Fortaleza: INCT Sal. p. 206-217. 2010.

FARIDUDDIN, Q.; MIR, B. A.; AHMAD, A. Physiological and biochemical traits as tools to screen sensitive and resistant varieties of tomatoes exposed to salt stress. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 24, n. 4, p. 281-292, 2012.

FERNANDEZ-GARCIA, N.; LOPEZ-PEREZ, L.; HERNANDEZ, M.; OLMOS, E. Role of phi cells and the endodermis under salt stress in *Brassica oleracea*. **New Phytologist**, v. 181, n. 2, p. 347-360, 2009.

FERREIRA, L. G. R.; REBOUÇAS, M. A. A. Influência da hidratação/desidratação de sementes de algodão na superação de efeitos da salinidade na germinação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 609-615, 1992.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 396, p. 307-319, 2004.

FOSTER, K. J.; MIKLAVCIC, S. J. Toward a biophysical understanding of the salt stress response of individual plant cells. **Journal of Theoretical Biology**, v. 385, p. 130-142, 2015.

GHEYI, H. R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T; ASSIS JR. R. N; ROMERO R. E. E; SILVA, J. R. C. (eds.) **Agricultura, sustentabilidade e o semiárido**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 329-345, 2000.

GRAYER R. J.; KITE, G. C.; GOLDSTONE, F. J.; BRYAN, S. E.; PATON, A.; PUTIEVSKY, E. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 5, p. 1033-1039, 1996.

GRAYER, R. J.; VIEIRA, R. F.; PRICE, A. M.; KITE, G. C.; SIMON, J. E.; PATON, A. J. Characterization of cultivars within species of *Ocimum* by exudate flavonoid profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 10, p. 901-913, 2004.

GUPTA, B.; HUANG, B.; Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, v. 2014, p. 1-8, 2014.

HARBONE, J. B. Chemical signals in the ecosystem. **Annals of Botany**, v.60, n. 4, p. 39-57, 1987.

HARIADIA, Y. C.; NURHAYATIA, A. Y.; SOEPARJONOA, S.; ARIFB, I. Screening six varieties of rice (*Oryza sativa*) for salinity tolerance. **Procedia Environmental Sciences**, v. 28, p. 78-87, 2015.

HASENGWAR, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J-K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 463-99, 2000.

HEIDARI, M. Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 379-384, 2012.

HILTUNEN, R.; Y. HOLM, Y. **Basil. The genus Ocimum** (Eds.). Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 1999. 182 p.

HIMABINDU, Y.; CHAKRADHAR, T.; REDDY, M. C.; KANYGIN, A.; REDDING, K. E.; CHANDRASEKHAR, T. Salt-tolerant genes from halophytes are potential key players of salt tolerance in glycophytes. **Environmental and Experimental Botany**, v.124, p. 39-63, 2016.

HOPKINS, G. W. **Introduction to plant physiology**. John Wiley e Sons, New York, 1999. 512 p.

HU, Y.; FROMM, J.; SCHMIDHALTER, U. Effect of salinity on tissue architecture in expanding wheat leaves. **Planta**, v. 220, n. 06, p. 838-848, 2005.

HUNSCHE, M.; BURLING, K.; SAIED, A. S.; SCHMITZ-EIBERGER, M.; SOHAIL, M.; GEBAUER, J.; NOGA, G.; BUERKERT, A. Effects of NaCl on surface properties, chlorophyll fluorescence and light remission, and cellular compounds of *Grewia tenax* (Forssk.) Fiori and *Tamarindus indica* L. leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 61, n. 03, p. 253-263, 2010.

IQBAL, N.; UMAR, S.; KHAN, N. A.; KHAN, M. I. R. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 100, p. 34-42, 2014.

IYENGAR, E. R. R.; REDDY, M. P. Photosynthesis in highly salttolerant plants. In: Pesserkali, M. (Ed.), **Handbook of photosynthesis**. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, p. 897-909. 1996.

JIANG, Y.; DING, X.; ZHANG, D.; DENG, Q.; YU, C-L.; ZHOU, S.; HUI, D. Soil salinity increases the tolerance of excessive sulfur fumigation stress in tomato plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 133, p. 70-77, 2017.

KALITA, J.; KHAN, M. L. Commercial potentialities of essential oil of *Ocimum* members growing in North East India. **International Journal of Pharmacy & Life Sciences**, v.4, n. 4, p. 2559-2567, 2013.

KHALIQ, S.; ZAFAR, Z. U.; ATHAR, H. R.; KHALIQ, R. Physiological and biochemical basis of salt tolerance in *Ocimum basilicum* L. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 2, n. 1, p. 18-27, 2014.

KHAN, I.; AHMAD, K.; KHALIL, A. T.; KHAN, J.; KHAN, Y. A.; SAQIB, M. S.; UMAR, M. N.; AHMAD, H. Evaluation of antileishmanial, antibacterial and brine shrimp cytotoxic potential of crude methanolic extract of Herb *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 35, n. 3, 2015.

KHAN, M. I. R.; IQBAL, N.; MASOOD, A.; KHAN, N. A. Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycinebetaine and ethylene. **Pedosphere**, v. 22, p. 746-754, 2012.

KHOSLA, M. K. Study of inter-relation-ship, phylogeny and evolutionary tendencies in genus *Ocimum*. **Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**, v. 55, p. 71-83, 1995.

KLIMÁNKOVÁ, E.; HOLADOVÁ, K.; HAJŠLOVÁ, J.; ČAJKA, T.; POUSTKA, J.; KOUDELA, M. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars

grown under conventional and organic conditions. **Food Chemistry**, v. 107, p. 464-472, 2008.

KRONZUCKER, H. J.; BRITTO, D. T. Sodium transport in plants: a critical review. **New Phytologist**, v. 189, p. 54-81, 2011.

LABRA, M.; MIELE, M.; LEDDA, B.; GRASSI, F.; MAZZEI, M.; SALA, F. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. **Plant Science**, v. 167, p. 725-731, 2004.

LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A.; RUIZ, H. A. Influência do cálcio sobre o crescimento e solutos em plântulas de sorgo estressadas com cloreto de sódio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 289-295, 2004.

LACERDA, C. F.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, M. A.; RUIZ, H. A. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 113-118, 2003.

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**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v. 3, n. 03, p. 14-24, 2007.

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

MAAS, E. V.; NIEMAN, R. H. Physiology of plant tolerance to salinity. In: JUNG, G. A. **Crop tolerance to suboptimal land conditions**. Am. Soc. Agron. Pub., v. 32, p. 277-299, 1978.

MAIA, S. S. S.; SILVA, R. C. P.; OLIVEIRA, F. A.; SILVA, O. M. P.; SILVA, A. C.; CANDIDO, W. S. Responses of basil cultivars to irrigation water salinity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 44-49, 2017.

MAO, L. Z.; LU, H. F.; WANG, Q.; CAI, M. M. Comparative photosynthesis characteristics of *Calycanthus chinensis* and *Chimonanthus praecox*. **Photosynthetica**, v. 45, p. 601-605, 2007.

MARIJUAN, M. P.; BOSCH, S. M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. **Trends in Plant Science**, v.18, p. 660-666, 2013.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 2011. 672 p.

MENEGUZZO, S.; NAVARI-IZZO, F.; IZZO, R. Antioxidative Responses of Shoots and Roots of Wheat to Increasing NaCl Concentrations. **Journal of Plant Physiology**, v. 155, p. 274-280, 1999.

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

MUNNS, R.; PASSIOURA, J. B.; GUO, J.; CHAZEN, O.; CRAMER, G. R. Water relations and leaf expansion: importance of time scale, **Journal of experimental Botany**, v. 51, n. 350, p. 1495-1504, 2000.

MUNNS, R. Plant adaptations to salt and water stress: differences and commonalities. In: TURKAN, I (Ed.). **Plant responses to drought and salinity stress**: developments in a postgenomic Era. London: Elsevier, 2011, 132 p.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Reviews Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

NAZARBEYGI, E.; YAZDI, H. L.; NASERI, R.; SOLEIMANI, R. The effects of different levels of salinity on proline and A-, B- chlorophylls in canola. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 10, n. 1, p. 70-74, 2011.

NAZAR, R.; IQBAL, N.; SYEED, S.; KHAN, N. A. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mung bean cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 807-815, 2011.

NEVES, G. Y. S. **Estresse salino e seus efeitos na lignificação de raízes de soja**. 76 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

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**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.

NIU, X.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; PARDO, J. M. Ion homeostasis in NaCl stress environments. **Plant Physiology**, v. 109, p. 735-742, 1995.

NOREEN Z.; ASHRAF, M. Changes in antioxidant enzymes and some key metabolites in some genetically diverse cultivars of radish (*Raphanus sativus* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, n. 2, p. 395-402, 2009.

NUNES, J. C.; CAVALCANTE, L. F.; REBEQUI, A. M.; LIMA NETO, A. J.; DENIS, A. A.; SILVA, J. J. M.; BREHM, M. A. S. Formação de Mudanças de Noni sob Irrigação com Águas Salinas e Biofertilizante Bovino no Solo. **Engenharia Ambiental**, v. 6, n. 2, p. 451-463, 2009.

ÖZCAN, M., ARSLAN, D.; ÜNVER, A. Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 3, 375-379, 2005.

ORMEÑO, E.; MEVY, J. P.; VILA, B.; BOUSQUET-MELOU, A.; GREFF, S.; BONIN, G.; FERNANDEZ, C. Water deficit stress induces different monoterpene and sesquiterpene emission changes in Mediterranean species. Relationship between terpene emissions and plant water potential. **Chemosphere** v. 67, p. 276-284, 2007.

OURIQUE, G. S. et al. Alterações anatômicas em plantas de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp submetidas a condições de seca e salinidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 62, Natal. **Anais eletrônicos...** Natal: SBPC UFRN, 2010.

PANDEY, A. K.; SINGH, P.; TRIPATHI, N. N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 9, p. 682-694, 2014.

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

PATEL, D.; PATEL, P. A Review Paper on Different Approaches for Query Optimization using Schema Object base View. **International Journal of Computer Applications**, v. 114, n. 4, p. 0975-8887, 2015.

PATON, A. A synopsis of *Ocimum* L. (*Labiatae*) in Africa. **Kew Bul**, v. 47, p. 403-435, 1992.

PEREIRA, R. C. A.; MOREIRA, A. L. M. **Manjeriçãõ: cultivo e utilizaçãõ** – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 31 p.; l. 21 cm. – (Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 2179-8184, 136).

PITMAN, M. G. Transport across the root and shoot/root interactions. In STAPLES, R. C.; TOENNIESSEN, G. H. eds, *Salinity Tolerance in Plants: Strategies for crop improvement*. John Wiley & Sons, I Vew York, p. 93-123, 1984.

POLITEO, O., JUKICA, M.; MILOSA, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 379-385, 2007.

RAMIN, A. A. Effects of Salinity and Temperature on Germination and Seedling Establishment of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). **Juornal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, n. 4, p. 81-90, 2006.

RENGASAMY, P. World salinization with emphasis on Australia. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 5, p. 1017-1023, 2006.

REWERS, M; JEDRZEJCZYK, I. Genetic characterization of *Ocimum* genus using flow cytometry and inter-simple sequence repeat markers. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 142-151, 2016.

ROMERO-ARANDA, R.; MOYA, J. L.; TADEO, F. R. LAGAZ, F.; PRIMO-MILLO, E.; TALON, M. Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: Beneficial and detrimental effects of cations. **Plant, Cell and Environment**, v. 21, p. 1243-1253, 1998.

RÓMHELD V. Diagnosis of deficiency and toxicity of nutrients. In: P Marschner, ed. Marschner's. **Mineral nutrition of higher plants**, 3rd edn. San Diego: Elsevier/Academic Press, p. 299-312, 2012.

SEVENGOR, S.; YASAR, F.; KUSVURAN, S.; ELLIALTIOGLU, S. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 21, p. 4920-4924, 2011.

SHANNON, M. C.; RHOADES, J. H.; DRAPER, J. H.; SCARDACI, S. C.; SPYRES, M. D. Assessment of salt tolerance in rice cultivars in response to salinity problems in California. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 394-398, 1998.

SHANNON, M. C. Differences in salt tolerance within 'empire' lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 105, p. 944-947, 1980.

SHANNON, M. C.; GRIEVE, C. M. Tolerance of vegetable crops to salinity. **Scientia Horticulturae**, v. 78, p. 5-38, 1999.

SHANNON, M. C.; MCCREIGHT, J. D.; DRAPER, J. H. Screening tests for salt tolerance in lettuce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 108, p. 225-230, 1983.

SIMON, J. E.; QUINN, J.; MURRAY, R. G. Basil: A source of essential oils. p. 484-489. In: J. Janick and J. E. Simon (eds.), **Advances in new crops**. Timber Press, Portland, OR. 1990.

STOBART, T. **Herbs, Spices, and Flavorings**. Woodstock, NY: The Overlook Press, 51-55, 1982 p.

TAIBI, K.; TAIBI, F.; ABDERRAHIM, L. A; ENNAJAH, A.; BELKHODJA, M.; MULET, J. M. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid

peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 306–312, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p. 449-484, 2004.

TARCHOUNE, I.; BAÂTOUR, O.; HARRATHI, J.; HAMDAOUI, G., LACHAÂ L, M.; OUERGHI, Z.; MARZOUK, B. Effects of two sodium salts on fatty acid and essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Acta Physiol Plant**, v. 35, p. 2365–2372, 2013.

TARCHOUNE, I.; SGHERRI, C.; IZZO, R.; LACHAAL, M.; OUERGHI, Z.; NAVARI-IZZO, F. Antioxidative responses of *Ocimum basilicum* to sodium chloride or sodium sulphate salinization. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 9 ,p. 772-777, 2010.

TELICI, I.; BAYRAM, E.; YILMAZ, G.; AVCI, B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 489-497, 2006.

VIÑA, A.; MURILLO, E. Essential oil composition from twelve varieties of basil (*Ocimum spp*) grown in Colombia. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 5, p. 744-749, 2003.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971-974, 1967.

XU, G.; MAGEN, H.; TARCHITZKY, J.; KAFKAKI, U. Advances in chloride nutrition. p. 97-150. In: Sparks, D., ed. **Advances in agronomy**, Elsevier, Newark, NJ, USA. 2000.

YOSHIDA, K. Plant biotechnology - Genetic engineering to enhance plant salt tolerance. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 94, n. 6, p. 585-590, 2002.

ZHU, J-K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v.167, n. 2, p. 313-324, 2016.

CAPÍTULO II

TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE MANJERICÃO À SALINIDADE

(Cópia do trabalho enviado para a revista Caatinga, obedecendo às normas deste periódico, excetuando-se a numeração das figuras e a fonte)

TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE MANJERICÃO À SALINIDADE

RESUMO - O manjericão é uma espécie medicinal, da família Lamiaceae, popularmente conhecida por seus benefícios múltiplos e altos teores de compostos voláteis. A espécie é considerada como uma das plantas mais produtoras de óleos essenciais. Cultivada no Brasil também como condimento em hortas caseiras. Objetivou-se avaliar o efeito da salinidade no crescimento do manjericão em solução nutritiva de Furlani e identificar variáveis relacionadas com a tolerância à salinidade nesta espécie. O primeiro estudo foi realizado com variação de quatro níveis salinos (20, 40, 60 ou 80 mM NaCl) e tratamento controle (0 mM NaCl). No segundo foram avaliados seis genótipos sob dois níveis salinos 0 e 80 mM NaCl. Foram avaliados altura, diâmetro do caule, número de folha, massas secas e solutos inorgânicos dos diferentes órgãos, pigmentos fotossintéticos, integridade absoluta de membrana e teor relativo de água. A salinidade reduziu significativamente todas as variáveis biométricas no manjericão. A produção de massa seca e a percentagem de integridade das membranas foram as variáveis que melhor discriminaram as características de tolerância à salinidade entre os genótipos de manjericão estudados. O manjericão apresentou tolerância diferenciada entre os genótipos, sendo o 'Toscano folha de alface' considerado mais tolerante e o 'Gennaro de menta' o mais sensível, quando comparados entre si.

Palavras-chave: Biomassa. Estresse salino. Integridade da membrana.

SALT TOLERANCE OF BASIL GENOTYPES

ABSTRACT - Basil is a medicinal species, Lamiaceae family's, popularly known for its multiple benefits and high levels of volatile compounds. The species is considered to be one of the most essential oil producing plants. Cultivated in

Brazil as well as condiment in home gardens. The study was divided into two stages. The first aimed was to evaluate the effect of different concentrations of NaCl in the nutrient solution on basil growth. In the second stage, the objective was to evaluate differs salt tolerance among basil genotypes. The first study was carried out with a range of four increasing salt levels (20, 40, 60 and 80 mM NaCl) and control (0 mM NaCl). In the second six genotypes were evaluated in two salinity levels 0 and 80 mM NaCl. Were evaluated biometric and physiological parameters in the different organs of the plant. Salinity significantly reduced all biometric parameters in basil, but did not cause plant death. The dry masss production and membrane integrity percentage variables were those that best discriminated the salinity tolerance characteristics among the studied basil genotypes. Basil had different tolerance among genotypes, the Toscano folha de alface considered more tolerant and Gennaro de menta the most sensitive.

Keywords: Biomass. Membrane integrity. Salt stress. *Ocimum basilicum* L.

2.2. INTRODUÇÃO

O manjericão (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta da família Lamiaceae, produtora de óleos essenciais importância farmacêutica, alimentícia, perfumaria e cosméticos, também é muito utilizada na medicina tradicional (BHARTI et al., 2016). A espécie é cultivada em escala comercial na Ásia, África, América do Sul e região do Mediterrâneo, sob condições naturais ou em cultivo protegido. O cultivo em estufas tem por vantagens maximizar o rendimento, permitir um fornecimento constante de material ao longo do ano (SGHERRI et al., 2010).

O uso de águas salobras na irrigação pode resultar na salinização dos solos e compromete o crescimento das plantas. A produtividade das culturas em meio salinizado depende da quantidade de sais solúveis e da capacidade das plantas para tolerar o estresse salino (COVA et al., 2016). A redução do potencial hídrico no meio de cultivo, decorrente da maior concentração de sais

solúveis, afeta a absorção de água e, por consequência, a turgescência e a expansão celular. Além disso, o estresse salino também provoca redução da fotossíntese pelo fechamento dos estômatos e, desta forma limita absorção de dióxido de carbono e conseqüentemente, ocorre a redução do crescimento e da produtividade (FAROOQ et al., 2009).

Em solos salinos os principais íons encontrados são Na^+ e Cl^- , que quando absorvidos e acumulados em excesso, podem contribuir para o ajustamento osmótico ou tornarem-se tóxicos (FLOWERS; MUNNS; COLMER, 2015). Dessa forma, a homeostase iônica entre K^+ e Na^+ é fundamental para regulação do potencial osmótico celular (ZHU, 2003) e evitar os efeitos deletérios do estresse salino.

A integridade das membranas celulares, a atividade enzimática e a fotossíntese são funções metabólicas e fisiológicas indicadoras de variação de tolerância nas espécies por serem sensíveis à salinidade. Considera-se que, para avaliar a tolerância das plantas à salinidade, o crescimento é uma medida efetiva por integrar um conjunto de mecanismos fisiológicos que ocorrem na planta (NIKNAM; McCOMB, 2000). Plantas tolerantes podem ter mecanismos de compartimentação iônica, enquanto que nas sensíveis este mecanismo não é eficiente. As respostas das plantas ao estresse salino são complexas e podem variar entre cultivares de uma mesma espécie (MAAS; HOFFMAN, 1977; NIKNAM; McCOMB, 2000). A variabilidade genotípica pode conferir tolerância diferenciada ao estresse salino entre plantas de uma mesma espécie como comprovado por diversos autores (AZEVEDO NETO et al., 2011; BAFEEL, 2014; COLOMBA et al., 2013; HARIADI et al., 2015).

Sabendo que o manjeriço é uma cultura bastante importante, objetivou-se avaliar o efeito da salinidade no crescimento do manjeriço em solução nutritiva de Furlani e identificar variáveis relacionadas com a tolerância à salinidade de seis genótipos de manjeriço ao estresse salino e classifica-los de acordo com o grau de tolerância ao estresse.

2.3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Cruz das Almas - BA (12°40'19"S, 39° 6'23"W), no período de janeiro a março de 2015. Foram realizados dois ensaios: no primeiro o delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com cinco níveis salinos e quatro repetições e no segundo foi utilizado um delineamento em blocos casualizados com dois níveis salinos e seis genótipos, com quatro repetições.

O Experimento I, foi realizado como um experimento piloto, com o objetivo de definir o nível de salinidade para submeter os genótipos estudados. Foi realizado submetendo seis genótipos de manjeriço (Genaro de menta, Alfavaca basilicão, Toscano folha de alface, Grecco a palla, Limocino e Basilicão vermelho) as doses salinas de 0 e 100 mM de NaCl, em solução nutritiva de Furlani (1998) com aeração em sistema hidropônico Floating. Na dose de 100 mM de NaCl foi observado uma paralização do crescimento das plantas até os vinte dias de cultivo e este experimento foi cancelado. Realizou-se novo experimento com fracionamento das doses salinas com o objetivo de identificar uma salinidade subletal para desenvolvimento da pesquisa.

2.3.1. Experimento I

2.3.1.1. *Condições experimentais e tratamentos*

Sementes de manjeriço var. Alfavaca basilicão, obtidas na empresa Isla Sementes Ltda foram semeadas em copos plásticos de 150 mL contendo areia lavada. Aos 21 dias após emergência (DAE), com um par de folhas completamente expandido, as mudas foram transferidas para recipientes em sistema hidropônico tipo "Floating" com aeração, contendo 12 L de solução nutritiva Furlani (1998). Após quatro dias nestas condições, as mudas passaram a receber seus respectivos tratamentos salinos 0, 20, 40, 60 e 80 mM NaCl, correspondentes às condutividades elétricas de 2, 4, 6, 8 e 10 dS m⁻¹, respectivamente, que representa o somatório da solução nutritiva com os níveis salinos. O NaCl foi adicionado gradualmente, 20 mM dia⁻¹, para evitar o choque osmótico. O volume das soluções foi completado diariamente com água e o pH mantido entre 6,0 e 6,5 pela adição de HCl ou NaOH. A coleta foi realizada após 17 dias de estresse.

2.3.1.2. *Produção de biomassa*

Na coleta foram realizadas medidas de altura das plantas, diâmetro do caule (DC) e número de folhas (NF).

Para avaliações de matéria seca, as plantas foram coletadas e separadas em folhas, caule e raízes. O material vegetal foi transferido para estufa com circulação forçada de ar a 65 °C por 72 h para determinação das massas secas das folhas (MSF), caule (MSC) e raízes (MSR) em balança analítica. A partir dos dados da massa seca das partes das plantas foram calculados a massa seca da parte aérea (MSPA) e a massa seca total (MST).

2.3.1.3. *Análise de solutos inorgânicos*

Para a determinação dos teores de Na⁺, K⁺ e Cl⁻, os extratos foram preparados como descrito por Jones (2001), com pequenas modificações. Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,1 g do material seco em estufa, triturado, e 10 mL de água deionizada. Os tubos foram aquecidos a 80° C em banho-maria por 1 h, sendo agitado a cada 15 minutos e em seguida centrifugados a 5.000 × g. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -20 °C, para posterior análise. Os teores de Na⁺ e K⁺ foram determinados por fotometria de chama (FAITHFULL, 2002) e os de Cl⁻ por espectrofotometria (JONES, 2001).

2.3.2. Experimento II

2.3.2.1. *Condições experimentais e tratamentos*

No segundo ensaio foram utilizadas sementes dos genótipos 'Gennaro de menta', 'Alfavaca basilicão vermelho', 'Alfavaca basilicão', 'Toscano folha de alface', 'Limocino' e 'Grecco a palla', obtidas na empresa Isla Sementes Ltda. A produção das mudas e o sistema de cultivo foram idênticos ao Experimento I. As mudas de cada genótipo foram submetidas a dois níveis de cloreto de sódio na solução nutritiva (0 e 80 mM de NaCl). A adição do NaCl e o controle das soluções nutritivas também foram idênticos ao do Experimento I. A coleta foi realizada após 20 dias de cultivo nessas condições.

2.3.2.2. Produção de biomassa análise de solutos inorgânicos

Ao fim do período experimental, as plantas foram separadas em folhas, caule e raiz para avaliação de massa seca e determinação dos teores de Na⁺, K⁺ e Cl⁻, conforme descrito no Experimento I.

2.3.2.3. Pigmentos fotossintetizantes

Os teores de clorofila *a*, clorofila *b* e de carotenóides (carotenos e xantofilas) foram determinados por espectrofotômetro a 649, 664 e 470 nm, em extrato etanólico a 95%, conforme metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001). Os resultados foram calculados com as equações 1, 2 e 3, e os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de MF.

$$Cl_a (\mu\text{g ml}^{-1}) = (13,36 \times A_{664} - 5,19 \times A_{649}) \dots\dots\dots(1)$$

$$Cl_b (\mu\text{g ml}^{-1}) = (27,43 \times A_{649} - 8,12 \times A_{664}) \dots\dots\dots(2)$$

$$Car (\mu\text{g ml}^{-1}) = (1000 \times A_{470} - 2,13 \times Cl_a - 97,64 \times Cl_b) \div 209 \dots\dots\dots(3)$$

2.3.2.4. Percentual de integridade absoluta das membranas (PIA) e teor relativo de água (TRA)

As avaliações da PIA e do TRA foram realizadas no terceiro par de folhas completamente expandidas, para todos os genótipos exceto para 'Grecco a palla', o qual foi determinado no ramo principal, adaptando a metodologia para a morfologia deste genótipo.

A determinação de PIA foi realizada segundo Pimentel et al. (2002). 10 discos foliares com área conhecida foram colocados em tubos rosqueados com 10 mL de água deionizada. Os tubos foram postos por 24 horas em local escuro e em seguida foi medida a condutividade elétrica da água (condutividade livre). Logo após, os tubos foram colocados em banho-maria a 100 °C por uma hora e, após esfriarem foi novamente medida a condutividade elétrica da água (condutividade total). Os resultados foram determinados de acordo com a equação 4.

$$PIA (\%) = 100 - (CL \times 100 \div CT) \dots\dots\dots(4)$$

O TRA foi determinado segundo Barr e Watherley (1962), em que 10 discos foliares com área conhecida, foram retirados e pesados para obtenção do Massa fresca (MF). Em seguida, os discos foram colocados em placas de Petri, imersos em água deionizada e deixados por 24 h em refrigerador. Após este período, os discos foram enxugados e pesados para obtenção do Massa túrgida (MT). Após, foram levados para secar em estufa até obter-se peso constante, o Massa seca (MS). Os resultados foram determinados de acordo com a equação 5.

$$\text{TRA (\%)} = [(MS - MF) \div (MS - MT)] \times 100 \dots \dots \dots (5)$$

2.3.3. Análise estatística

Para o primeiro ensaio, os resultados foram submetidos à análise de variância e de regressão, utilizando o software estatístico SISVAR 4.6 (FERREIRA 2011). No segundo ensaio, os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 0,05 de probabilidade.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Experimento I

As variáveis altura de planta, diâmetro do caule (DC) e número de folhas (NF) apresentaram comportamento linear decrescente com o incremento do cloreto de sódio na solução nutritiva (Figura 2.1). Comparando o tratamento controle com o de 80 mM NaCl, observam-se reduções de 37, 31 e 27,5%, para os valores de altura, DC e NF, respectivamente.

A altura diminuiu 0,2363 cm por incremento de mM NaCl, variando de 51 cm no controle para 32,34 cm no tratamento de 80 mM. Bione et al. (2014), em estudos com manjeriço, para mesma variável, com os mesmos níveis salinos, relataram 0,0117 m de redução por incremento de mM NaCl, aos 49 DAT. Além de sistemas hidropônicos, estudos apontam para redução na altura das

plantas, sob estresse salino, em variedades de manjeriço quando cultivado em solo, como relatado por Blank et al. (2012) e Silva (2012).

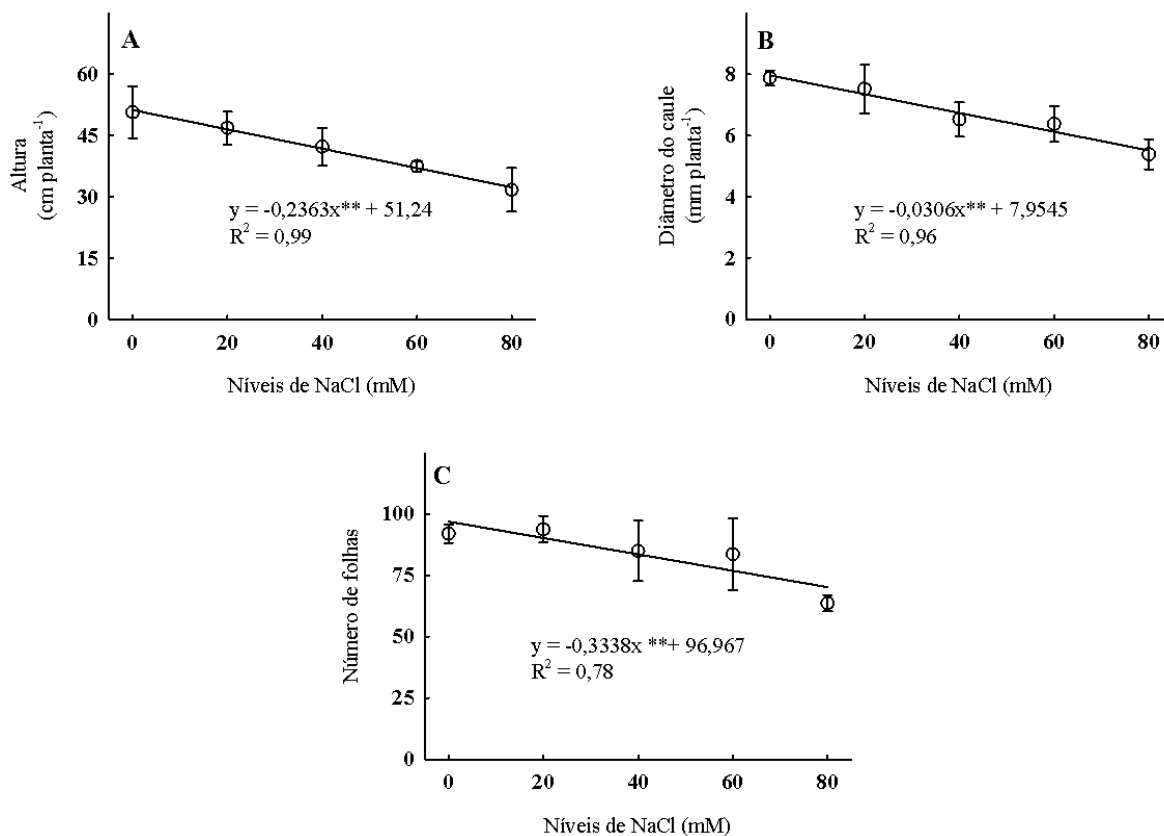


Figura 2.1. Altura (A), diâmetro do caule (B) e número de folhas (C) de plantas de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo níveis crescentes de NaCl. Os valores indicam médias de quatro repetições e respectivos desvios-padrões.

O diâmetro do caule apresentou redução de 7,95 para 5,51 mm. O DC é uma variável importante sob cultivo sem solo, pois é responsável pelo suporte da parte aérea assim, se muito fino pode causar tombamento de plantas.

Para o NF a redução foi de 97 para 70 folhas por planta com incremento da salinidade na solução nutritiva (Figura 2.1C). As folhas são locais de armazenamento de reservas, fontes de hormônios e outros compostos vegetais e é onde está localizado o maquinário fotossintético. Logo, uma redução no NF está relacionada com uma redução na absorção de CO₂ e produção de biomassa.

Diversos fatores podem estar associados à redução do crescimento das plantas quando submetida ao estresse salino, como o baixo potencial osmótico da solução, a interação de íons específicos, os desequilíbrios nutricionais ou ainda a combinação desses fatores (PARIDA; DAS, 2005; MARSCHNER, 2012). O potencial osmótico do meio salino reduz a capacidade das plantas para absorver água, o qual afeta os processos fisiológicos e inibe a atividade meristemática, o alongamento e a divisão celular, que tem por consequência rápida redução na taxa de crescimento e produção de biomassa (AYERS; WESTCOT, 1999; MUNNS, 2002; PARIDA; DAS, 2005).

O aumento da salinidade na solução nutritiva também reduziu linearmente a produção de massa seca nos diferentes órgãos (Figura 2.2).

As MSF e MSR apresentaram reduções de 0,027 e 0,008 g por incremento de mM NaCl, respectivamente. A MSC apresentou ajuste matemático ao modelo quadrático (Figura 2.2B), os dados estimados para a MSC mínima foi de 0,25 g (0 mM NaCl) e a máxima de 2,08 g (80 mM NaCl). Para a MSPA e MST esta redução foi de 0,044 e 0,051 g, respectivamente. Deste modo, as reduções estimadas foram de 58, 88, 47, 56 e 55% para MSF, MSR, MSPA e MST, respectivamente, indicando que a parte aérea foi mais sensível à salinidade que as raízes. Como a redução da produção de massa seca nas diferentes partes das plantas foram semelhantes, os valores de MSPA/MSR não foram afetados pela salinidade, apresentando valor médio de aproximadamente 4,5 (Figura 2.2E).

Bione et al. (2014) em estudos com manjeriço, observaram redução de 0,0786 g na MSPA para cada incremento unitário em dS m^{-1} , em que 8,48 dS m^{-1} foi o nível máximo de condutividade elétrica. Paulus et al. (2010) e Santos et al. (2010), em estudos com cultivo hidropônico de alface, também relataram redução linear na MSPA com do aumento dos níveis salinos. A redução na produção de massa seca pode ser reflexo do custo metabólico de energia associado à aclimação ao estresse salino e redução no ganho de carbono (ATKIN; MACHEREL, 2009). Desta maneira, ocorre a redução do fornecimento de fotoassimilados e hormônios vegetais para os tecidos em crescimento

(MUNNS, 1993), o que pode estar relacionado com a redução da massa seca dos diferentes órgãos do manjeriço.

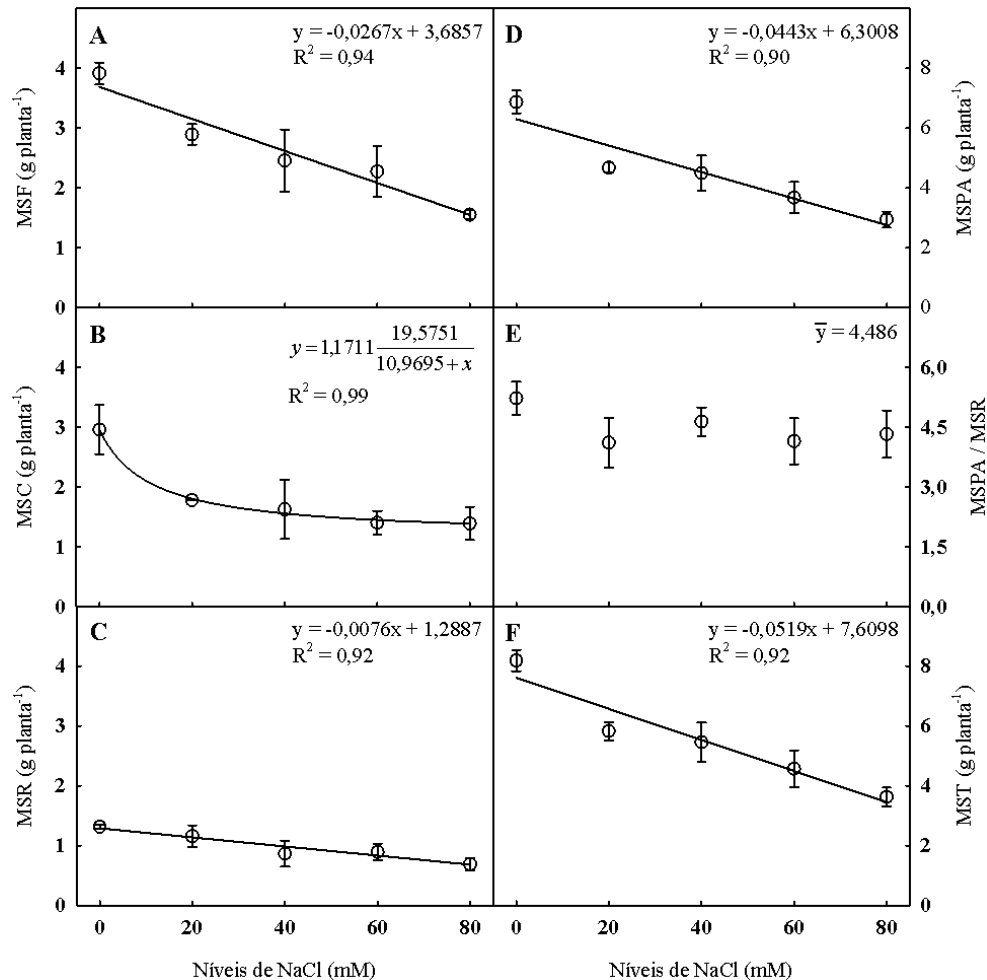


Figura 2.2. Massa seca de folha (A), massa seca de caule (B), massa seca de raiz (C), massa seca da parte aérea (D) e massa seca total (F) e razão massa seca da parte aérea pela massa seca da raiz/MSR (E), em plantas de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo níveis crescentes de NaCl. Os valores indicam médias de quatro repetições e respectivos desvios-padrões.

Como já mencionado anteriormente, outro fator que afeta o crescimento das plantas sob estresse salino é o efeito osmótico, que restringe a absorção e o transporte de água. Tal restrição desencadeia uma sequência de reações mediadas por hormônios e tem por consequência a redução da abertura

estomática e da assimilação fotossintética do CO₂ e da produção de biomassa (ODJEGBA; CHUKWUNWIKE, 2012; SILVEIRA et al., 2010).

Os teores de Cl⁻ e de Na⁺ aumentaram linearmente em todas as partes da planta com a adição de NaCl na solução nutritiva (Figura 2.3). Os teores de Cl⁻ nas folhas, caule e raízes apresentaram incrementos de 0,01; 0,008 e 0,005 mmol g⁻¹ MS, respectivamente, por mM de NaCl na solução nutritiva (Figura 2.3A, 2.3B e 2.3C). Dessa forma, os teores deste íon nas folhas, caule e raízes aumentaram 5,15, 3,15 e 2,97 vezes respectivamente, quando comparados ao tratamento controle (0 mM NaCl) ao maior tratamento salino (80 mM NaCl).

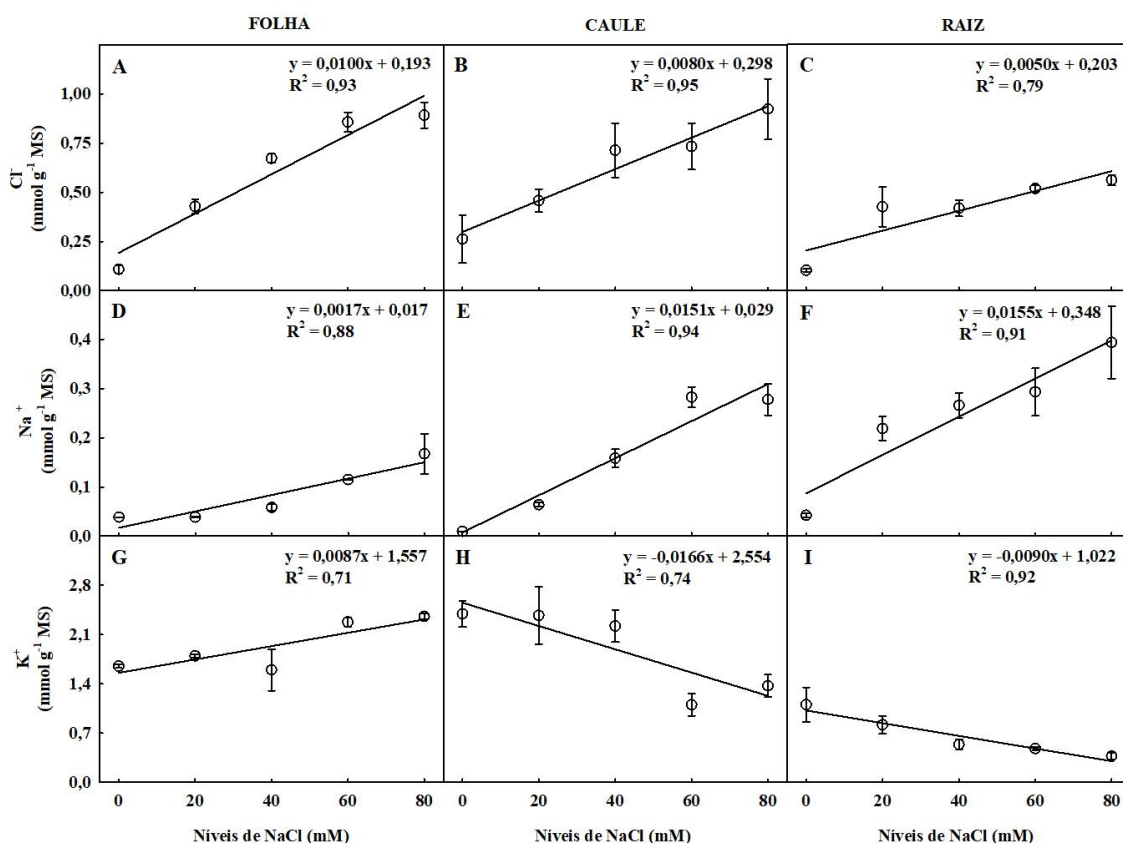


Figura 2.3. Teores de Cl⁻, Na⁺ e K⁺ nas folhas (A, D e G), caules (B, E e H) e raízes (C, F e I) em plantas de manjericão após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo níveis de NaCl. Os valores indicam médias de quatro repetições e respectivos desvios-padrões.

Dentre as variáveis de crescimento e as massas secas analisadas, a MS foi o indicador mais preciso do efeito da salinidade, corroborando com os dados de acúmulo de cloreto. Desta maneira, uma maior redução de MS ocorreu nos tecidos de maior acúmulo de Cl^- (folhas e caules) tal como a menor redução de MS foi na raiz, onde ocorreu menor acúmulo deste íon.

Os teores estimados do íon Na^+ nas concentrações de 0 e 80 mM NaCl variaram de 0,017 a 0,153 mmol g^{-1} na MS das folhas, de 0,029 a 1,237 mmol g^{-1} na MS do caule e de 0,348 a 1,588 mmol g^{-1} na MS das raízes (Figura 2.3D, 2.3E e 2.3F). Assim, houve uma maior retenção deste íon nas raízes, quando comparada às folhas e caule. A retenção de Na^+ na raiz ajuda a manter as relações de Na^+/K^+ requeridas para funções celular normal e previne o acúmulo tóxico deste íon nas folhas (SHABALA; MACKAY, 2011).

O incremento do NaCl na solução nutritiva aumentou linearmente o teor de K^+ nas folhas e diminuiu linearmente no caule e nas raízes (Figura 2.3G, 2.3H e 2.3I). Com o incremento da salinidade na solução nutritiva, o íon K^+ aumentou 45% nas folhas e diminuiu no caule e nas raízes 52% e 70%, respectivamente. Assim, podemos afirmar que, com o aumento da salinidade houve uma translocação de K^+ para as folhas em detrimento das demais partes.

As maiores reduções dos teores de K^+ foram observadas nos tecidos onde houve maior acúmulo de Na^+ . Estes íons competem pelos mesmos sítios de entrada nas células, tendo uma relação antagônica na absorção pela membrana plasmática (MARSCHNER, 2012). Estes resultados sugerem uma maior seletividade de transporte do íon K^+ em relação ao Na^+ para as folhas, bem como um mecanismo de retenção de Na^+ nos tecidos do caule e das raízes, evitando danos por toxidez nas folhas.

O ajustamento osmótico, ou seja, o acúmulo de solutos é um importante mecanismo, sob condições de estresse salino, para obter um gradiente de potencial hídrico favorável e manutenção do turgor celular. O acúmulo dos solutos inorgânicos (K^+ , Na^+ e Cl^-) tem um menor custo energético para as células em relação ao acúmulo de solutos orgânicos compatíveis. Contudo, deve haver um equilíbrio entre estes íons, pois o Cl^- e Na^+ tornam-se tóxicos,

quando em excesso nos tecidos vegetais. Desta maneira, o acúmulo do K^+ , favorece a homeostase iônica, reduzindo os efeitos tóxicos do Na^+ (MUNNS; TESTER, 2008).

Dentre todas as variáveis estudadas no Experimento I, a variável MS foi o indicador mais preciso do efeito da salinidade, associado aos dados de acúmulo de Cl^- . Desta maneira, uma maior redução de MS ocorreu nos tecidos de maior acúmulo de Cl^- (folhas e caules) e tal como a menor redução de MS foi na raiz, onde ocorreu menor acúmulo deste. O Cl^- é um ânion predominante sob condições salinas (TAVAKKOLI et al., 2010), quando absorvido pelas raízes se acumula nas folhas das plantas, porém, possui baixa redistribuição entre os tecidos vegetais.

Neste trabalho, considera-se que 80 mM NaCl diminuiu significativamente (50 a 60%) a produção de massa seca dos órgãos de manjerição no Experimento I, esta concentração foi utilizada para os experimentos posteriores de estresse salino.

2.4.2. Experimento II

A salinidade reduziu significativamente a produção de massas secas da folha (MSF), caule (MSC), raízes (MSR) e total (MST) dos genótipos de manjerição, com exceção do Toscano folha de alface (Figura 2.4). As maiores reduções de MSF (54%), MSC (71%), MSR (55%) e MST (61%) foram observadas no genótipo Gennaro de menta. A percentagem de redução da produção de biomassa tem sido considerada como um indicador eficaz da tolerância ao estresse salino nas plantas (MUNNS, 2002). Estes dados indicam que o genótipo Toscano folha de alface foi mais tolerante e o Gennaro de menta o mais sensível ao estresse salino, quando comparados entre si (Figura 2.4).

Os resultados deste trabalho corroboram com os estudos de Barbieri et al. (2012) e Prasad et al. (2007), que reportaram variabilidade genotípica do manjerição quanto à tolerância ao estresse salino. Barbieri et al. (2012) constataram que a tolerância diferenciada entre os genótipos desta espécie

estava relacionada às características adaptativas morfológicas, fisiológicas e metabólicas de adaptação ao estresse.

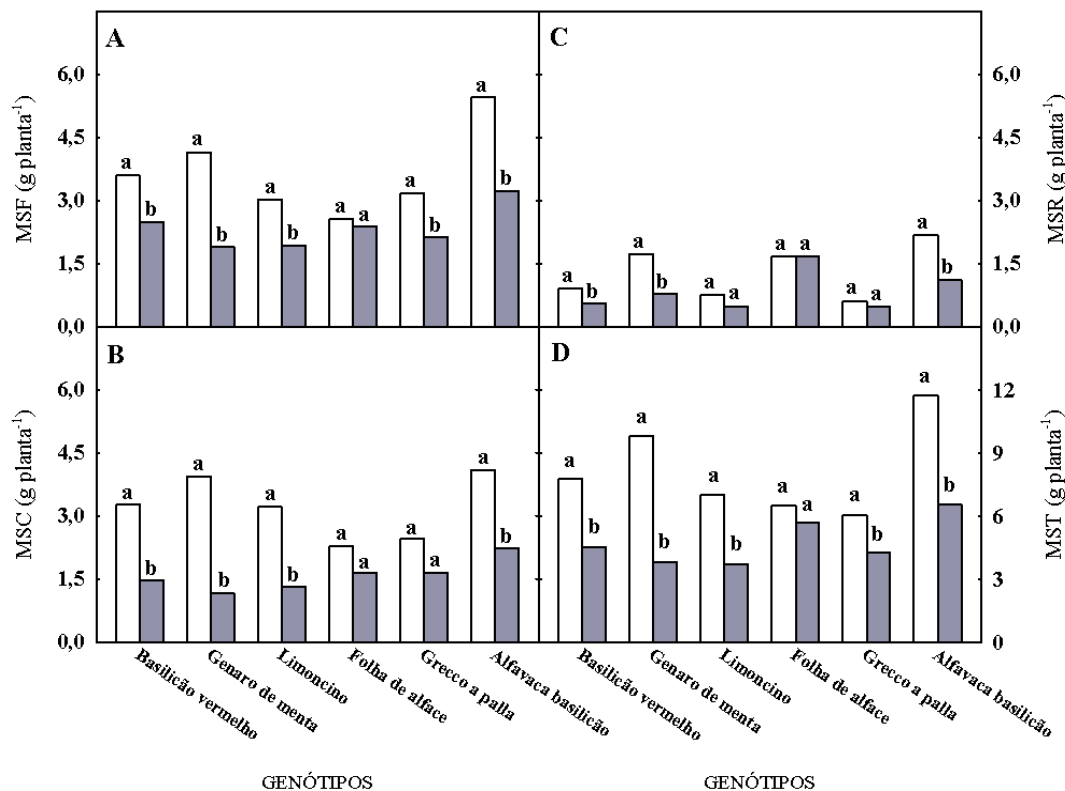


Figura 2.4. Massa seca das folhas (A), dos caules (B), das raízes (C) e total (D) de seis diferentes genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (□) ou de 80 mM NaCl (■). Para cada genótipo, médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.

Os teores de Na^+ nas folhas (Figura 2.5A) de todos os genótipos de manjeriço foram menores que no caule (Figura 2.5B) e nas raízes (Figura 2.5C). Pode ser observada uma grande variação entre os valores médios nos genótipos quanto aos teores de Na^+ nas folhas (0,126 a 0,397 mmol g^{-1} MS), caule (1,814 a 3,414 mmol g^{-1} MS) e raízes (2,338 a 3,720 mmol g^{-1} MS). É interessante notar que o teor de Na^+ nas folhas do genótipo Toscano folha de alface (0,126 mmol g^{-1} MS) foi 64% menor que o teor médio nas folhas dos demais genótipos (0,348 mmol g^{-1} MS). Desta forma, pode-se inferir que houve

uma restrição no transporte de Na^+ para as folhas, havendo uma retenção deste íons nas raízes do genótipo. Isso pode ao menos em parte explicar a maior tolerância deste genótipo ao estresse salino uma vez que, tal restrição inibe o acúmulo de íons tóxicos nas folhas (MUNNS; TESTER, 2008).

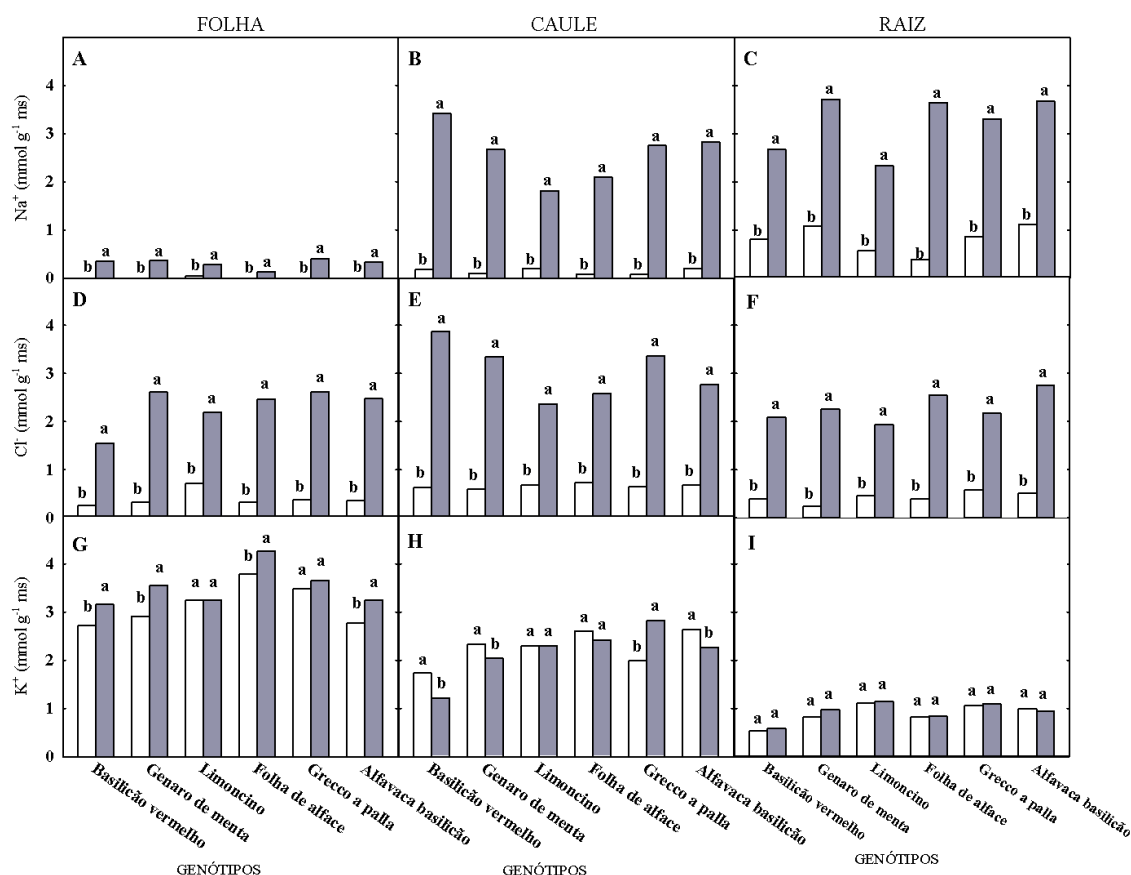


Figura 2.5. Teor de Na^+ (A, B e C), Cl^- (D, E e F) e K^+ (G, H e I) em mmol g^{-1} de ms das folhas (MSF), caules (MSC) e raízes (MSR) de seis genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (□) ou de 80 mM NaCl (■). Médias seguida de mesmas letras entre níveis salino não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.

A salinidade aumentou significativamente os teores de Na^+ e Cl^- independentemente do órgão da planta ou do genótipo (Figura 2.5). Os maiores incrementos nos teores de Cl^- por dS m^{-1} de NaCl na solução nutritiva foram observados no genótipo Gennaro de menta, tanto nas folhas (7 vezes) como no caule (5 vezes) e nas raízes (9 vezes). Para o mesmo íon os menores

incrementos foram observados no genótipo Limoncino, os quais representaram 2,09, 2,46 e 3,23 vezes, nas folhas, caule e raízes, respectivamente (Figura 2.5D, 2.5E e 2.5F).

O maior incremento nos teores de Cl^- nos órgãos do genótipo Gennaro de menta, pode em parte, explicar a sensibilidade do genótipo ao estresse salino, associada a uma maior redução de MS deste genótipo. Estes dados corroboram com o experimento I onde houve maior redução de MS nos tecidos com maior acúmulo de Cl^- . Uma vez que concentrações acumuladas de Cl^- podem causar danos severos aos tecidos vegetais (MUNNS; TESTER, 2008).

O K^+ apresentou maior teor nas folhas, em relação aos demais órgãos da planta. O efeito do estresse salino sobre os teores de K^+ variou entre os genótipos e entre as partes das plantas. Nas folhas, a salinidade aumentou os teores de K^+ nos genótipos Basilicão vermelho (16%), Gennaro de menta (22%), Toscano folha de alface (13%) e Alfavaca basilicão (5%), mas não afetou os demais (Figura 2.5G). No caule, o teor K^+ aumentou no Grecco a palla (42%), diminuiu no Alfavaca basilicão vermelho (30%), Gennaro de menta (13%) e Alfavaca basilicão (14%) e não foi alterado no Limoncino e Toscano folha de alface (Figura 2.5H). Nas raízes, o estresse salino não alterou os teores de K^+ nos genótipos estudados (Figura 2.5I).

Em contraste com o observado para o íon Na^+ , também pode ser observado na Figura 2.5G que os teores foliares de K^+ no genótipo Toscano folha de alface ($4,266 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$) foram 26% mais elevados que a concentração foliar média dos demais genótipos ($3,374 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$). Azevedo Neto e Silva (2015) o mecanismo para a manutenção adequada do teor de K^+ nos tecidos vegetais, sob condição salina, é em parte, dependente da seletividade do K^+ para a parte aérea, bem como da compartimentação de Na^+ .

O K^+ é essencial para a homeostase iônica e proteção do mecanismo fisiológico e que favorecem a fotossíntese e outras funções das plantas (MUNNS, 2002). A homeostase iônica é primordial para a fisiologia de células vivas através da manutenção de baixas concentrações celulares de íons tóxicos e acúmulo de íons essenciais (ZHU, 2003). Tal equilíbrio resulta em manutenção da pressão de turgescência, da divisão celular, crescimento e

produção de biomassa, mesmo em condições salinas. Deste modo, estes dados sugerem que o aumento na concentração de K^+ nas folhas do genótipo Toscano folha de alface está diretamente relacionada com sua maior tolerância ao estresse salino. Ainda pode-se sugerir que, para todos os genótipos, não houve distúrbios induzido pela salinidade na absorção e translocação do K^+ , pois os teores deste íon nas raízes e nas folhas não foram alterados ou aumentaram com o estresse salino.

Os teores de clorofila a (Cla) e clorofila b (Clb) nos genótipos estudados não foram alterados pelo estresse salino, com exceção do teor de Clb no genótipo Basilicão vermelho que diminuiu 35% (Figura 2.6A e 2.6B).

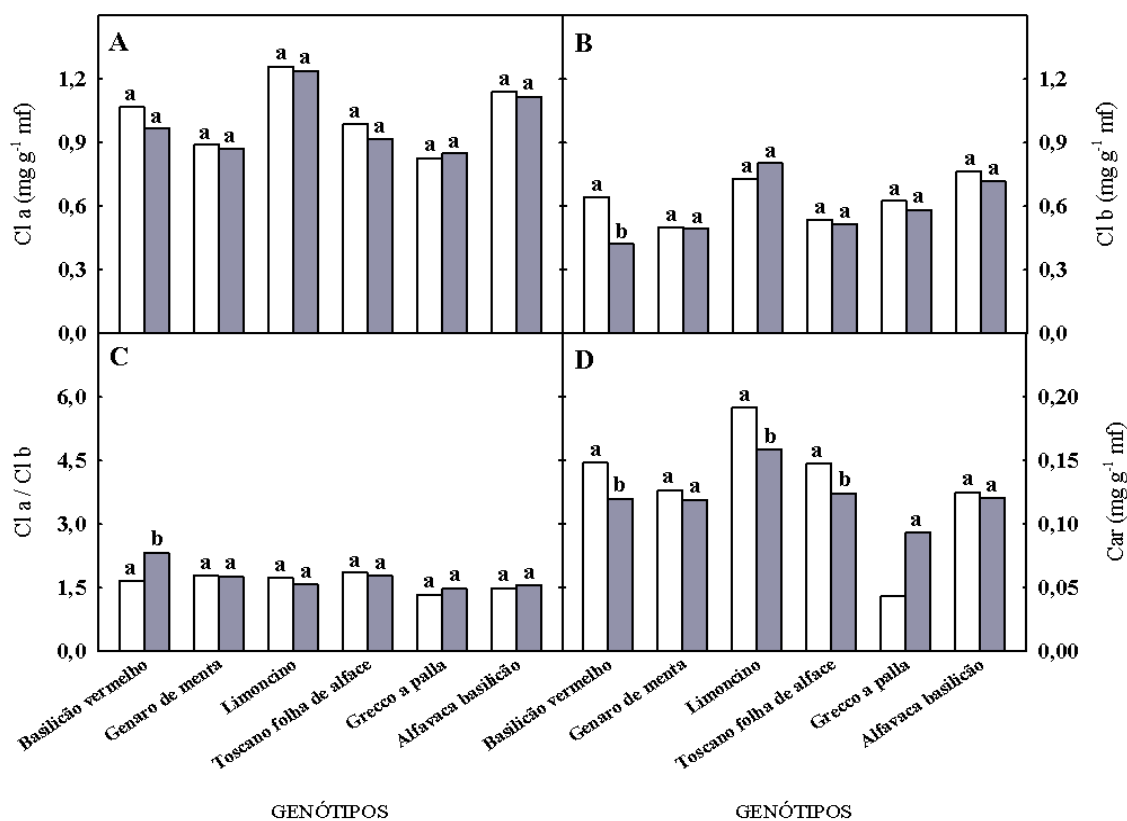


Figura 2.6. Concentração de Clorofila a (Cla), Clorofila b (Clb) e Carotenóides (Car) nas folhas e a relação Cla e Clb (Cla/Clb), de seis genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (□) ou de 80 mM NaCl (■). Para cada genótipo, médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.

Assim, a relação Cla/Clb apresentou um aumento significativo de 39% apenas neste genótipo (Figura 2.6C). Em relação aos carotenoides, os teores desses pigmentos diminuíram com a salinidade no Basilicão vermelho (19%), Limoncino (17%) e Toscano folha de alface (16%), aumentaram no Grecco a palla (114%) e não foram alterados no Gennaro de menta e Alfavaca basilicão (Figura 2.6D).

Segundo Heidari (2012), o estresse salino reduz o crescimento e o conteúdo de pigmentos fotossintetizantes em plantas sensíveis e aumentam em plantas tolerantes. Contudo, considerando que as alterações nos teores de clorofilas dos genótipos Toscano folha de alface (tolerante) e Gennaro de menta (sensível) foram semelhantes e que os de carotenoides aumentaram no Gennaro de menta, estes resultados indicam que os teores de pigmentos não apresentaram relação com a tolerância à salinidade e não devem ser considerados como bons marcadores bioquímicos para a tolerância ao estresse salino nestes genótipos de manjeriço.

Observam-se na Figura 2.7 as variações do teor relativo de água (TRA) e da percentagem de integridade da membrana (PIA).

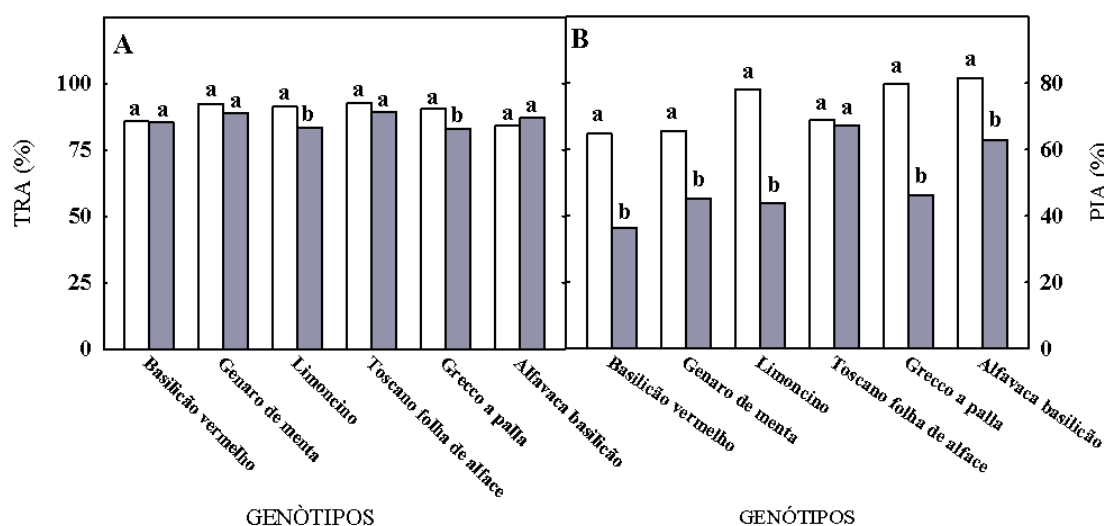


Figura 2.7. Teor relativo de água nas folhas (TRA) e porcentagem de integridade absoluta (PIA) de seis genótipos de manjeriço após 17 d de cultivo em solução nutritiva contendo 0 (□) ou de 80 mM NaCl (■). Para cada genótipo, médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott Knott até 0,05 de probabilidade.

A salinidade causou uma pequena redução no TRA dos genótipos Limocino (9%) e Grecco a palla (8%) (Figura 2.7A). A salinidade diminuiu, em média de 37% a PIA de todos os genótipos, com exceção do Toscano folha de alface, que não foi afetado pelo estresse (Figura 2.7B). Considerando que o genótipo Toscano folha de alface também foi o mais tolerante ao estresse salino, quando avaliado por sua produção de biomassa, os resultados desse trabalho sugerem que a estimativa da integridade das membranas expressa pela PIA pode ser utilizada como um indicador fisiológico na identificação de genótipos de manjeriço tolerantes ao estresse salino.

Segundo Grupta e Huang (2014), características de tolerância à salinidade envolve respostas complexas a níveis moleculares, celulares, metabólicos, fisiológicos em toda a planta. Desta forma, as avaliações das características morfológicas e fisiológicas associadas com rendimento fornecem uma maior sensibilidade na identificação de plantas tolerantes à salinidade (ASHRAF, 2004). Este autor ainda ressalta que a utilização de atributos fisiológicos como marcadores da tolerância à salinidade depende da força da relação desses marcadores com as respostas das plantas e provavelmente, é mais eficaz que seleções baseadas em marcadores individuais.

2.5. CONCLUSÕES

Os teores de pigmentos fotossintetizantes e o teor relativo de água não foram bons indicadores de tolerância à salinidade para o manjeriço. Por outro lado, a produção de massa seca, o acúmulo de solutos inorgânicos e a percentagem de integridade absoluta, destacam-se como bons indicadores da tolerância ao estresse salino entre os genótipos estudados. O maior acúmulo de K^+ e um menor acúmulo de Na^+ nas folhas do genótipo Toscano folha de alface desempenha um papel chave na manutenção da integridade das membranas celulares neste genótipo. O genótipo Toscano folha de alface é mais tolerante à salinidade e o Gennaro de menta mais sensível, quando comparados entre si.

2.6. REFERÊNCIAS

ASHRAF, M. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. **Flora**, Freiberg, v. 199, n. 4, p. 361-376, 2004.

ATKIN, O. K.; MACHEREL, D. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. **Annals of Botany**, London, v. 103, n. 4, p. 581-597, 2009.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. A qualidade de água na agricultura. 2.ed. Campina Grande: UFPB, FAO, 1999, 153p.

AZEVEDO NETO, A. D. et al. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girassol. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 4, p. 893-897, 2011.

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, 278p.

BAFEEL, S. O. Physiological parameters of salt tolerance during germination and seedling growth of *Sorghum bicolor* cultivars of the same subtropical origin. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Netherlands, v. 21, n. 4, p. 300-304, 2014.

BARBIERI, G. et al. Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Plant Physiology**, Germany, v. 169, n. 17, p. 1737-1746, 2012.

BARR, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. **Australian Journal of Biology Science**, Melbourne, v. 15, n. 3, p. 413-428, 1962.

BHARTI, N. et al. Co-inoculation of *Dietzia natronolimnaea* and *Glomus intraradices* with vermicompost positively influences *Ocimum basilicum* growth and resident microbial community structure in salt affected low fertility soils. **Applied Soil Ecology**, Firenze, v. 100, sn, p. 211-225, 2016.

BIONE, M. A. A. et al. 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.

BLANK, A. F. et al. A diallel study of yield components and essential oil constituents in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Industrial Crops and Products**, St Martin d'Herès, v. 38, p. 93-98, 2012.

COLOMBA, E. L. et al. Differential salt-stress response during germination and vegetative growth in in vitro selected somaclonal mutants of *Cenchrus ciliaris* L. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburg, v. 87, p. 157-163, 2013.

COVA, A. M. W. et al. 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.

FAROOQ, M et al. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, v. 29, n. 1, p. 185-212, 2009.

FAITHFULL, N. T. **Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook**. Wallingford: CABI Publishing, 2002, 206p.

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

FLOWERS, T. J.; MUNNS, R.; COLMER, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. **Annals of Botany**, Oxford, v.115, sn., p. 419-431, 2015.

FURLANI, P. R. **Instrução para o cultivo de hortaliça de folha pela técnica de hidroponia- NFT**. Campinas, Instituto Agrônômico, (Boletim Técnico, 168), 1998.

GRUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. **International Journal of Genomics**, v. 2014, sn, p. 18-37, 2014.

HARIADI, Y. C. et al. Screening six varieties of rice (*Oryza sativa*) for salinity tolerance. **Procedia Environmental Sciences**, Amsterdam, v. 28, p. 78-87, 2015.

HEIDARI, M. Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. **African Journal of Biotechnology**, Abraka, v. 11, n. 2, p. 379-384, 2012.

JONES JÚNIOR, J. B. **Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis**. Boca Raton: CRC Press, 2001. 363p.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, Hoboken, p. F4.3.1-F4.3.8, 2001.

MAAS, E. V.; HOFFMAN, G. J. Crop salt tolerance: current assessment. **Journal of the Irrigation and Drainage Division**. New York, v. 103, n. 2, p. 115-134, 1977.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed London: Elsevier, 2012. 643 p.

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

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto v. 50, p. 651-681, 2008.

MUNNS, R. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 15-24, 1993.

NIKNAM, S. R.; McCOMB, J. Salt tolerance screening of selected Australian woody species - a review. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 139, n. 1, p. 1-19, 2000.

ODJEGBA, J. V.; CHUKWUNWIKE, C. I. Physiological responses of *Amaranthus hybrids* L. under salinity stress. **Indian Journal Innovations and Developments**, Adyar, v. 1, n. 10, p. 742-748, 2012.

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

PIMENTEL, C. et al. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivadas em campo. **Revista de Ciências da Vida**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1 p. 07-14, 2002.

PRASAD, A. et al. Response of basil species to soil Sodicity stress. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Athens, v. 38, n. 19-20, p. 2705-2715, 2007.

SANTOS, A. N. et al. Cultivo hidropônico de alface com água salobra subterrânea e rejeito da dessalinização em Ibimirim, PE. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 961-969, 2010.

SGHERRI, C. et al. Levels of antioxidants and nutraceuticals in basil grown in hydroponics and soil. **Food Chemistry**, Reading, v. 123, n. 2, 416-422, 2010.

SHABALA, S.; MACKAY, A. Ion transport in halophytes. **Advances in Botanical Research**, United State, v. 57, p. 151-199, 2011.

SILVA, C. M. F. **Avaliação de diferentes substratos na produção de biomassa e teor de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2012. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias: Área de Concentração em Fitotecnia) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2012.

SILVEIRA, J. A. G. et al. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. 1. ed. Fortaleza: INCTSal, 2010.p. 161-18.

TAVAKKOLI, E.; RENGASAMY, P.; McDONALD, G. K. High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 15, p. 4449-4459, 2010.

ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 6, n. 5, p. 441-445, 2003.

CAPÍTULO III

**TEORES DE SOLUTOS, PIGMENTOS E ÓLEO ESSENCIAL EM DOIS
GENÓTIPOS DE MANJERICÃO COM TOLERÂNCIA DIFERENCIADA À
SALINIDADE**

TEORES DE SOLUTOS, PIGMENTOS E ÓLEO ESSENCIAL EM DOIS GENÓTIPOS DE MANJERICÃO COM TOLERÂNCIA DIFERENCIADA À SALINIDADE

RESUMO - Dentre as espécies medicinais, condimentares e aromáticas, o manjericão é uma espécie importante, pelo variado conteúdo de metabólitos secundários. Como muitas plantas cultivadas, seu crescimento e produção podem ser afetados por restrições ambientais, como o estresse salino. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da salinidade nos teores de solutos inorgânicos, orgânicos, pigmentos e óleo essencial em uma variedade de manjericão tolerante ('Toscano folha de alface' – TFA) e outra sensível ('Gennaro de menta' - GM) ao estresse salino. Os genótipos foram cultivados em sistema hidropônico tipo DFT na ausência ou presença (80 mM) de NaCl na solução nutritiva durante 32 dias. Foram avaliados os teores de Na⁺, Cl⁻, K⁺, carboidratos solúveis, aminoácidos livres, prolina livre, proteína solúvel, pigmentos fotossintetizantes e óleo essencial. O acúmulo dos íons Cl⁻, Na⁺ e K⁺ não diferiram entre os genótipos. Houve aumento no acúmulo de aminoácidos livres nas folhas do genótipo TFA. O teor de prolina aumentou nas raízes em ambos genótipos, contudo para o GM (3,12 mmol g⁻¹ MS) dobrou quando comparado ao TFA (1,48 mmol g⁻¹ MS). A salinidade aumentou os teores pigmentos apenas no genótipo GM. Os teores de solutos inorgânicos e de pigmentos não foram bons indicadores da tolerância à salinidade nos genótipos estudados. Houve um aumento relativo do teor de óleo para o genótipo GM e redução no TFA. Contudo, o TFA apresentou maior produtividade de óleo essencial comparado ao GM.

Palavras-chave: Clorofila; Íons inorgânicos; Estresse salino; Solutos compatíveis.

SOLUTES, PIGMENTS AND ESSENTIAL OIL CONTENT IN TWO BASIL GENOTYPES DIFFERING TO SALINITY TOLERANCE

ABSTRACT - Among the medicinal and aromatic species, basil is an important species, due to the varied secondary metabolite content. Like many cultivated plants, their growth and production can be affected by environmental constraints, such as saline stress. The objective of the study was to evaluate the effect of salinity on the content of inorganic, organic, pigment and essential oil solutes in a tolerant basil (Toscano folha de alface - TFA) and a sensitive (Gennaro de menta - GM) basil to salt stress. The genotypes were cultivated in a DFT type hydroponic system in the absence or presence (80 mM) of NaCl in the nutrient solution for 32 days. The contents of Na⁺, Cl⁻, K⁺, soluble carbohydrates, free amino acids, free proline, soluble protein, photosynthetic pigments and essential oil were evaluated. The accumulation of Cl⁻, Na⁺ and K⁺ ions did not differ between genotypes. There was an increase in the accumulation of free amino acids in the leaves of the TFA genotype. The proline content increased in the roots in both genotypes, however for GM (3.12 mmol g⁻¹ MS) it doubled compared to TFA (1.48 mmol g⁻¹ MS). The salinity increased the pigment contents only in the GM genotype. Inorganic solutes and pigment contents are not good indicators of salinity tolerance in the studied genotypes. There was an increase in oil content for GM genotype and reduction in TFA. However, TFA showed higher productivity compared to GM.

Key words: Chlorophyll; Inorganic ions; Salt stress; Compatible solutes.

3.2. INTRODUÇÃO

A salinidade é um dos principais estresses abióticos que limitam o crescimento e a produtividade das culturas e compromete quase 7% da área territorial do planeta e 20% das terras aráveis irrigadas (PARIHAR et al., 2015).

Os solos salinos são caracterizados por acumularem sais em excesso nas camadas superficiais, ocorrendo principalmente em regiões áridas e semiáridas devido às condições edafoclimáticas. A salinização dos solos pode causar o estresse salino nas plantas, promovendo a redução do crescimento tanto nas raízes quanto na parte aérea, gerando perdas na produtividade. De acordo com Munns (2002), a redução na produtividade em plantas sob estresse salino é decorrente de efeitos osmóticos e iônicos. O efeito osmótico afeta o status hídrico da planta, enquanto o efeito iônico resulta em toxidez e desordens nutricionais.

Para manter o desenvolvimento sob condições salinas sem maiores danos em suas funções fisiológicas, as plantas precisam adaptar-se a baixos potenciais de águas e às altas concentrações salinas. Esta adaptação ocorre por meio do ajuste osmótico, que se caracteriza pelo acúmulo de compostos inorgânicos no vacúolo e de compostos orgânicos compatíveis no citoplasma, evitando transtornos bioquímicos e fisiológicos (MELONI et al., 2004; STRANGE, 2004).

Os solutos orgânicos mais comumente acumulados são os carboidratos solúveis, os aminoácidos livres e as proteínas solúveis (ASHRAF; HARRIS, 2004), sendo os dois primeiros com maior contribuição para o potencial osmótico, portanto possuem destaque em pesquisas sobre estresse salino (AZEVEDO NETO et al., 2004). O acúmulo de solutos orgânicos induzidos pela salinidade possui algumas funções no citoplasma como: evitar danos aos sistemas enzimáticos, proteger as estruturas e funções celulares (MUNNS, 2002), constituir fonte de energia metabólica (SERRANO; GAXIOLA, 1994) e auxiliar na manutenção da absorção de água por meio da redução do potencial de água (STRANGE, 2004).

De acordo com Reyes-Pérez et al. (2013), espécies medicinais e aromáticas possuem importância econômica mundial, devido à demanda contínua e crescente deste setor nos mercados. Assim, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L) é apontado como uma alternativa viável para regiões semiáridas do Brasil (REYES-PEREZ et al., 2013), bem como para o cultivo hidropônico com águas de baixa qualidade para a agricultura. O manjeriço possui valor

agregado por seus múltiplos usos: propriedades medicinais, aromatizante e condimentar, e ainda nas indústrias cosmética e farmacêutica (LORENZI et al., 2008). O manjeriço possui diversidade de genótipos e é apontado como moderadamente tolerante ao estresse salino (BARBIERI et al., 2012; MANCARELLA et al., 2016).

Caracterizar repostas ao estresse salino ao longo dos estádios de desenvolvimento durante o cultivo, torna-se fundamental para avaliar o potencial de cultivo em meio salino (BERNSTEIN et al., 2010). Assim, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da salinidade nos teores de solutos inorgânicos e orgânicos e pigmentos fotossintetizantes, objetivando um melhor entendimento dos mecanismos de tolerância ao estresse salino em manjeriço. Também objetivou avaliar o efeito da salinidade sobre o teor, a produtividade e o rendimento de óleo essencial com vistas à produção em cultivo hidropônico.

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1. Material vegetal, condução e tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em sistema hidropônico tipo DFT (Deep Film Technique), neste sistema a solução nutritiva forma uma lâmina onde as raízes ficam submersas. Foram utilizados os genótipos 'Toscano Folha de Alface' (TFA) e 'Gennaro de Menta' (GM), classificados como tolerante e sensível à salinidade quando comparados entre si em experimento preliminar. Neste experimento, verificou-se que a salinidade não afetou a produção de biomassa das folhas do TFA, mas diminuiu 61% a do GM (dados não mostrados). As mudas foram preparadas a partir de sementes obtidas na empresa Isla Sementes Ltda[®]. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em arranjo fatorial 2 (genótipos) x 2 (níveis salinos), com seis repetições.

As sementes foram semeadas em copos plásticos (150 mL) contendo substrato fibra de coco lavada, irrigado diariamente com água da empresa local de abastecimento. Aos 19 dias após a emergência (DAE), com o segundo par

de folha totalmente expandidas, as mudas foram transferidas para o sistema de cultivo hidropônico DFT. O espaçamento entre plantas foi de 0,20 m.

Para o cultivo utilizou-se a solução nutritiva (SN) Furlani (1998), específica para folhosas. Após 2 dias de aclimação no sistema DFT, as mudas passaram a receber seus respectivos tratamentos salinos (0 ou 80 mmol L⁻¹ de NaCl). O NaCl comercial sem iodato foi adicionado gradualmente, 40 mmol L⁻¹ dia⁻¹, para evitar o choque osmótico. As condutividades elétricas das SN foram 2,0 dS m⁻¹ e 10 dS m⁻¹ para o tratamento não salino e salino, respectivamente. A renovação das SN foi realizada a cada 10 dias para evitar alterações nas condutividades elétricas e nas concentrações de NaCl. O pH foi monitorado diariamente e mantido em 6,0 ± 0,5 com a adição de NaOH ou HCl. A aeração da SN foi realizada pela recirculação da SN, a cada três horas, por 30 min, acionado por temporizador digital.

As plantas foram cultivadas no sistema DFT durante um período de 32 dias (54 DAE). O início da floração para o tratamento com estresse salino, considerado fim do período experimental. Foram realizadas quatro coletas durante o período experimental, aos 8, 16, 24 e 32 dias após início do estresse. Em cada coleta, foram utilizadas doze plantas por tratamento. Plantas colhidas foram separadas por repetição em folhas, caule e raízes, e levadas para secagem, conforme descrito para determinação de massa seca. Posteriormente foram trituradas para análise de solutos inorgânicos. As demais plantas foram utilizadas para as análises solutos orgânicos e pigmentos fotossintetizantes.

Também foram coletadas separadamente quatro plantas por repetição para extração e quantificação de óleo essencial. Estas repetições foram compostas por uma amostra de 16 g de plantas secas à 45 °C.

3.3.2. Solutos inorgânicos

As análises dos solutos inorgânicos foram realizadas nas folhas, caules e raízes em ambos genótipos. As partes foram separadas e em seguida levadas a estufa com circulação de ar a 65 °C por 72 h. Para a determinação dos teores de Na⁺, K⁺ e Cl⁻, os extratos foram preparados como descrito por Jones (2001),

com pequenas modificações. Em tubos de ensaio, foi adicionado 0,1 g do material seco em estufa, triturado e 10 mL de água deionizada. Os tubos foram aquecidos a 80 °C em banho-maria por 1 h, sendo agitado a cada 15 minutos, e em seguida centrifugados a 5.000 × g. O sobrenadante foi coletado e armazenado a -20 °C, para posterior análise.

3.3.2.1. Cloreto

Em tubos de ensaio, foram adicionados 3,0 mL do extrato bruto diluído, que correspondeu a 0,5 mL de extrato e 2,5 mL de água destilada. A este, foi adicionado 0,5 mL de reagente, formado por tiocianato de mercúrio a 13,2 mM, preparado em metanol 100% e nitrato férrico a 20,2% (p/v), em água destilada, na proporção respectiva de 4:1. Após agitação em vortex, os tubos permaneceram em repouso por 15 min, sendo os teores de Cl⁻ estimados por leituras de absorbância em 460 nm, utilizando-se como branco, 3 mL de água deionizada e 0,5 mL de reagente (GAINES et al., 1984).

3.3.2.2. Sódio e potássio

Para determinação dos teores de Na⁺ e K⁺, as amostras foram preparadas com mesmo extrato das análises de Cl⁻. A análise foi realizada com o extrato bruto diluído conforme necessidade e, em seguida foram determinados por leitura direta no espectrofotômetro de chama (SARRUGE e HAAG, 1974).

3.3.3. Solutos orgânicos

As análises de solutos orgânicos foram realizadas no segundo par de folhas completamente expandidas e no terço inferior das raízes, congeladas à -20 °C e posteriormente liofilizadas. O extrato bruto foi obtido macerando-se, em almofariz, 100 mg de tecidos liofilizados de folhas e raízes com 6 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,0, contendo EDTA 0,1 mM. O extrato foi filtrado em tecido de musselina e centrifugado a 12000 × g por 15 min. O sobrenadante foi armazenado em ultra freezer (-20 °C). Posteriormente, o extrato foi utilizado para determinações de carboidratos solúveis, prolina livre, aminoácidos livres e proteínas solúveis.

3.3.3.1. Carboidratos solúveis

A determinação de carboidratos solúveis foi realizada por colorimetria a 490 nm, com uma alíquota de 0,5 mL do extrato, pelo método do fenol-ácido sulfúrico, utilizando-se a D-(+)-glucose como padrão (DUBOIS et al., 1956).

3.3.3.2. Prolina livre

A prolina livre foi determinada por colorimetria a 520 nm, com uma alíquota de 1,0 mL do extrato, utilizando-se a ninhidrina como reagente específico e a prolina pura como padrão (BATES et al., 1973).

3.3.3.3. Aminoácidos livres totais

Os aminoácidos livres totais foram determinados por colorimetria a 570 nm, pelo método da ninhidrina, com uma alíquota de 0,5 mL do extrato, utilizando-se a L-leucina pura como padrão (YEMM e COCKING, 1955).

3.3.3.4. Proteínas solúveis

As proteínas solúveis foram determinadas por colorimetria a 595 nm, pelo método de ligação ao corante, com uma alíquota de 0,1 mL do extrato, utilizando-se a albumina de soro bovino pura como padrão (BRADFORD, 1976).

3.3.4. Pigmentos fotossintetizantes

Os teores de clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b* (Cl_b) e de carotenóides (Car) foram determinados conforme metodologia descrita por Lichtenthaler e Buschmann (2001). Foram utilizadas amostras frescas do terceiro par de folha apical, completamente expandido. Procedeu-se, em seguida, a coleta de dez discos foliares com diâmetros conhecidos, depositados em tubos rosqueados com 10 mL de álcool 95%, os quais foram agitados por 24 h. Os teores de Cl_a, Cl_b e Car foram determinados em espectrofotômetro a 649, 664 e 470 nm, respectivamente e foram calculados com as seguintes equações 1, 2 e 3:

$$\text{Cl}_a (\mu\text{g ml}^{-1}) = (13,36 \times A_{664} - 5,19 \times A_{649}) \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Cl}_b (\mu\text{g ml}^{-1}) = (27,43 \times A_{649} - 8,12 \times A_{664}) \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{Car } (\mu\text{g ml}^{-1}) = (1000 \times A_{470} - 2,13 \times \text{Cl}_a - 97,64 \times \text{Cl}_b) \div 209 \dots \dots \dots (3)$$

3.3.5. Extração e quantificação do óleo essencial

A extração do óleo essencial do manjeriço foi realizada utilizando 16 g de folhas secas à 45 °C, por hidrodestilação no aparelho de Clevenger. Não foi realizada a extração do caule, pois ensaios preliminares com as amostras, apresentaram que o caule não possui óleo essencial. 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. Com os dados de volume calculou-se o teor, o rendimento e a produtividade do óleo essencial. O cálculo do teor de óleo em porcentagem foi realizado segundo Zenebon et al. (2008), como a razão entre o volume de óleo essencial (mL) destilado pela massa seca (g) da amostra, multiplicada por cem. O rendimento é a multiplicação entre o teor de óleo essencial e a massa seca foliar total, dividido por cem. Para calcular a produtividade multiplica-se o rendimento pela densidade populacional.

3.3.6. Análise estatística

Para analisar as massas, os teores de solutos orgânicos e inorgânicos e os pigmentos, os resultados foram submetidos a análise de variância (teste F) e as médias foram comparadas através dos seus respectivos desvios padrões conforme Snedecor (1956).

Para o teor de óleo essencial, os resultados foram submetidos à análise de variância e suas médias comparadas pelo teste Tukey a 0,05 de probabilidade utilizando o software SISVAR 4.6 (FERREIRA, 2011).

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A salinidade aumentou os teores de sódio em todas as partes das plantas de ambos genótipos (Figura 3.1). Os teores médios obtidos nas folhas de ambos genótipos foi 0,12 mmol g⁻¹ MS. No caule, 1,15 mmol g⁻¹ MS para o TFA

e $1,32 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ para o GM. As raízes apresentaram teores médios de $1,32 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (TFA) e $1,37 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (GM). Assim, os dados mostram que, no tratamento de 80 mM NaCl , a concentração de sódio no caule e nas raízes foi cerca de 10 vezes mais elevada que nas folhas.

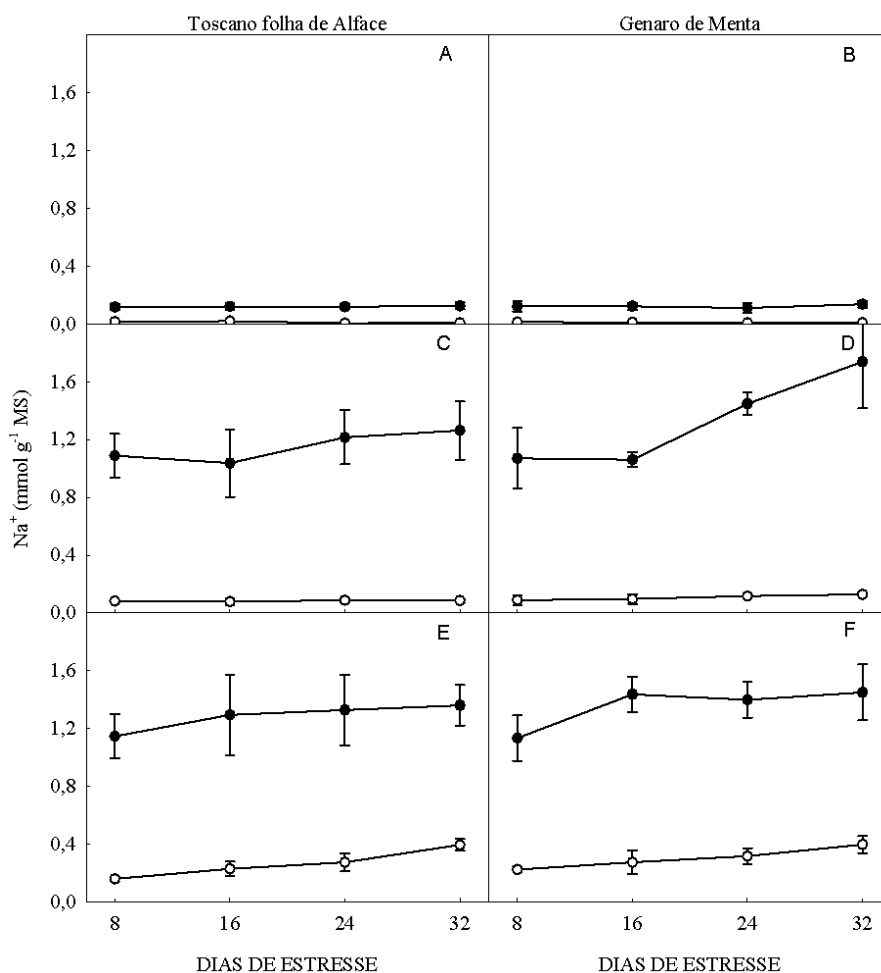


Figura 3.1. Teores de Na^+ em folhas (A, B), caules (C, D) e raízes (E, F) em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl , cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

O maior acúmulo de Na^+ nos tecidos do caule e raiz pode estar relacionado com a capacidade da planta restringir o transporte deste íons das raízes para as folhas e manter um baixo teor nos tecidos foliares, como

observado na Figura 3.1 (IMADA et al., 2009). Contudo, a partição de Na^+ entre os órgãos dos genótipos não mostrou relação com a tolerância ou sensibilidade ao estresse salino, uma vez que os teores de Na^+ em todas as partes das plantas foram semelhantes em ambos genótipos.

Analogamente ao verificado para o Na^+ , a salinidade aumentou os teores de Cl^- em todos os órgãos de ambos genótipos (Figura 3.2). Entretanto, embora o teor de Na^+ no tratamento salino tenha se mantido relativamente estável, o teor de Cl^- aumentou com o tempo de cultivo.

Para todas as partes das plantas os teores de Cl^- foram semelhantes entre os genótipos e tratamentos. Os teores médios obtidos nas folhas foram de $0,67 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (TFA) e $0,56 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (GM), no caule foram de $0,56 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (TFA) e $0,50 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (GM) e nas raízes foram de $0,53 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (TFA) e $0,47 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ (GM).

Pode-se observar que, quando comparado ao Na^+ , a absorção e o transporte de Cl^- para a parte aérea parece ser menos controlado, pois o Cl^- se distribuiu de forma análoga entre os órgãos das plantas. Ning et al. (2015) também encontraram resultados semelhantes para o manjeriço e relatam que a não restrição de Cl^- para a parte aérea pode estar ligada aos mecanismos relacionados com a toxicidade do NaCl . A mesma observação foi relatada em pepino (COLLA et al., 2012) e em beterraba açucareira (GHOULAM et al., 2002). Em comparação com o Na^+ , o acúmulo mais acentuado de Cl^- nas folhas sugere uma maior participação deste íon para o ajustamento osmótico neste órgão.

Nota-se que com o acréscimo da salinidade, os teores de K^+ em ambos genótipos aumentaram nas folhas e diminuíram no caule e nas raízes (Figura 3.3). Nas raízes, a diminuição dos teores de K^+ induzida pela salinidade foi mais pronunciada aos 8 e 16 dias, tanto no TFA (65%) quanto no GM (77%). Também pôde-se observar que no tratamento de estresse, os teores médios de K^+ nas folhas não variam até os 24 dias de cultivo, tanto para o TFA quanto para o GM, contudo, aos 32 dias de cultivo, o K^+ aumentou 37% no TFA e diminuiu 17% no GM. Dessa forma, o teor de K^+ no TFA aos 32 dias ($2,65 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$) foi 47% mais elevado que o do GM ($1,80 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$).

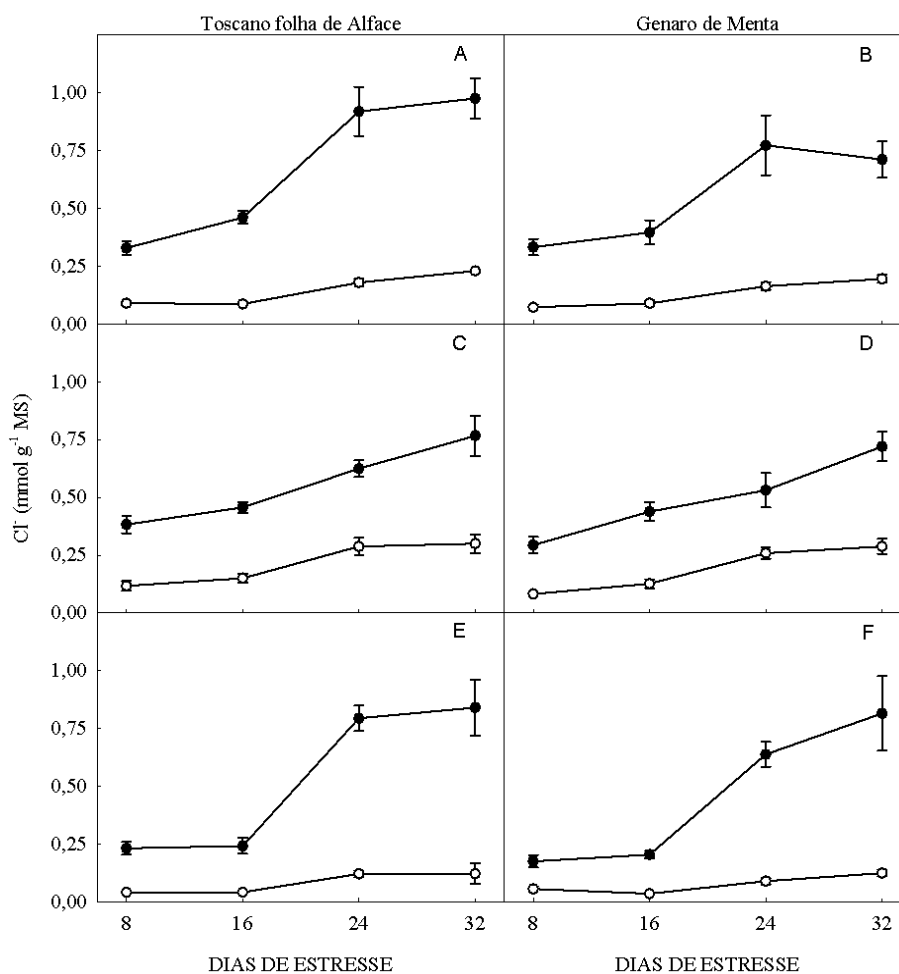


Figura. 3.2. Teores de Cl^- em folhas (A, B), caules (C, D) e raízes (E, F) em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

A redução dos teores de K^+ causada pela salinidade somente ocorreu no caule e nas raízes, corroborando com os resultados de Ferreira-Silva et al. (2008) e contrapondo-se aos resultados deste trabalho para ao maior acúmulo de Na^+ nestes órgãos. Apesar dos teores de K^+ nas folhas de ambos genótipos se manterem acima dos teores normais (plantas controle), ao fim do período experimental o aumento no teor de K^+ no TFA sugere uma melhor manutenção

na regulação osmótica e fisiológica do TFA, em relação ao GM na fase final do ciclo de cultivo.

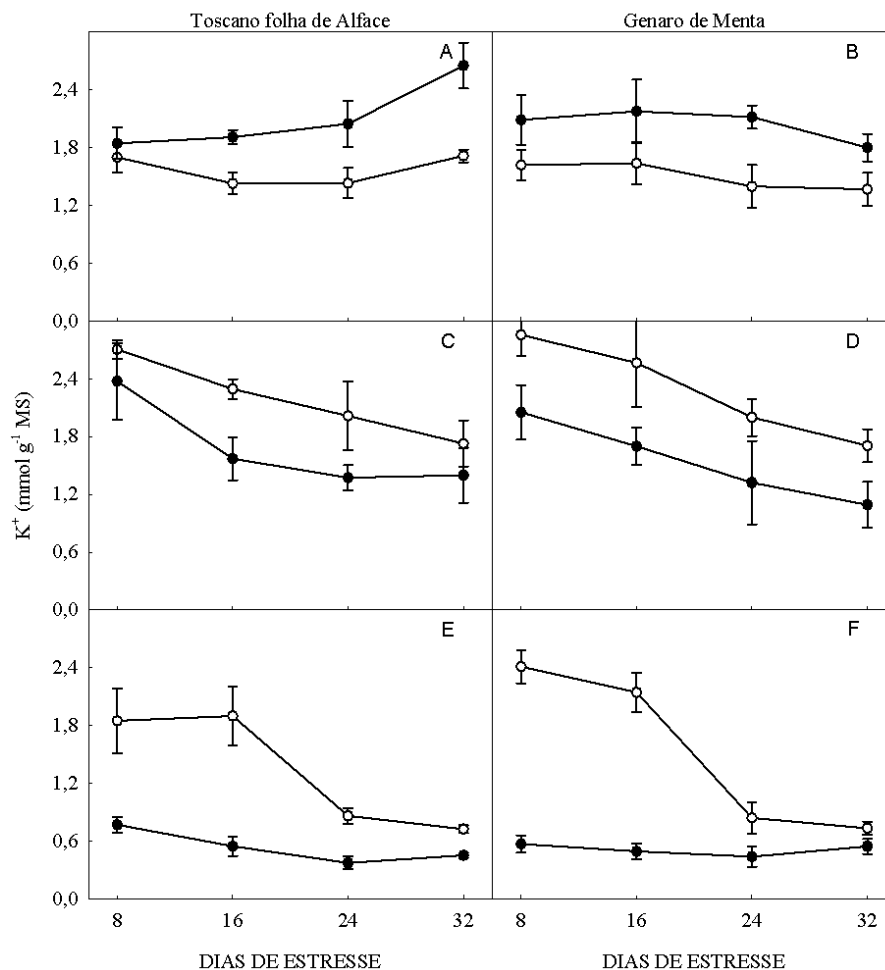


Figura 3.3. Teores de K^+ em folhas (A, B), caules (C, D) e raízes (E, F) em dois genótipos de manjerição submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

Pode-se considerar que dentre os íons inorgânicos acumulados nas folhas, o Cl^- e o K^+ apresentaram maior quantitativo para favorecer o ajustamento osmótico no manjerição. Contudo, de modo geral, o acúmulo dos solutos inorgânicos não apresentou relação com tolerância ou sensibilidade à

salinidade nestes genótipos, uma vez que as variações foram semelhantes para ambos. Greenway e Munns (1980, afirmam que espécies glicófitas com tolerância moderada à salinidade retêm grandes quantidades de sais nos caules e nas raízes, havendo assim uma dependência do acúmulo de solutos orgânicos para realização do ajustamento osmótico nas folhas, como se pode observar para o manjericão neste estudo.

A salinidade não afetou a produção de carboidratos solúveis, tanto nas folhas quanto nas raízes nos dois genótipos (Figura 3.4), com exceção de um aumento de 72% nas folhas do GM aos 32 dias de cultivo (Figura 3.4B).

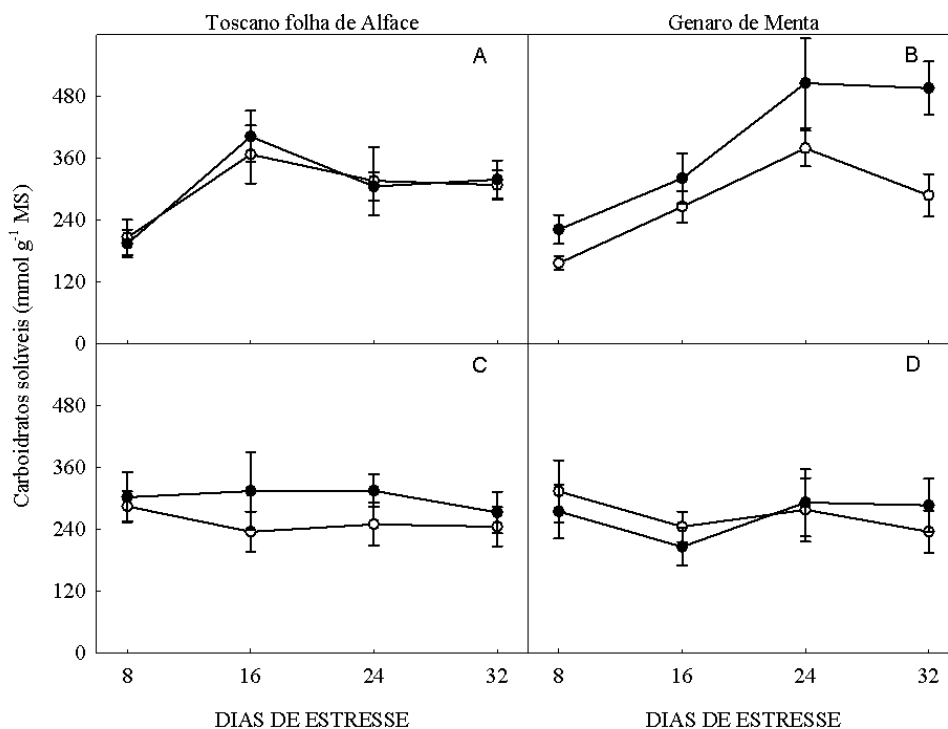


Figura 3. 4. Teores de carboidratos solúveis em folhas (A e B) e raízes (B e C), em dois genótipos de manjericão submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

Os teores de aminoácidos livres no genótipo GM não foram alterados pelo estresse salino (Figura 3.5). Entretanto, no TFA os aminoácidos livres no

tratamento de estresse nas folhas e raízes foram cerca de 57 e 29%, respectivamente, mais elevados que no controle. Os solutos orgânicos têm sido importantes moléculas relacionadas para a sobrevivência das espécies glicófitas sob condições salinas, sendo considerados importantes marcadores fisiológicos (AZEVEDO NETO et al., 2004, 2009).

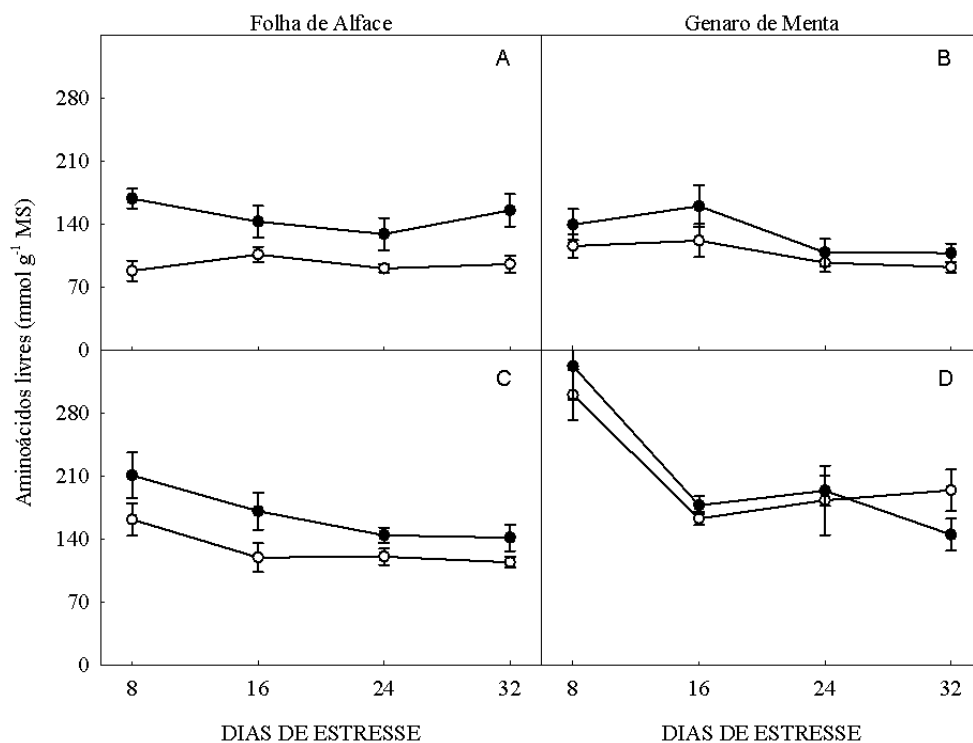


Figura 3.5. Teores de aminoácidos livres em folhas (A e B) e raízes (C e D), em dois genótipos de manjerição submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

O acúmulo de aminoácidos e de carboidratos solúveis apresenta, frequentemente, uma maior contribuição para o potencial osmótico, quando comparado com os demais solutos orgânicos compatíveis (SILVA et al., 2009). Entretanto, para este estudo uma maior concentração nos teores de aminoácidos livres sugere uma maior importância relativa deste soluto. Observou-se que os teores de carboidratos solúveis foram inalterados em

ambos genótipos. Entretanto, os teores de aminoácidos livres nas folhas e raízes do genótipo TFA aumentaram significativamente, o que pode ter contribuído para a maior tolerância deste genótipo em relação ao GM.

Com relação às proteínas solúveis, não foram observadas alterações substanciais nos teores destes compostos, quando comparados os tratamentos controle e de estresse salino (Figura 3.6). Desta maneira o acúmulo de proteínas solúveis não mostrou relação com a tolerância ou sensibilidade do manjericão ao estresse salino.

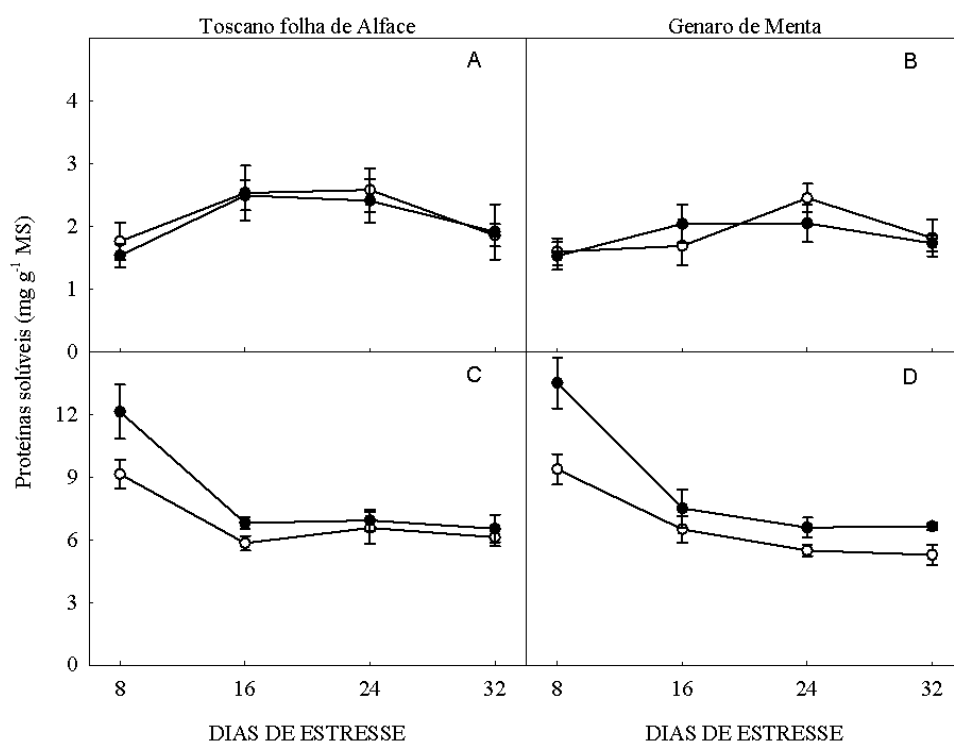


Figura 3.6. Teores de proteínas solúveis em folhas (A e B) e raízes (C e D), em dois genótipos de manjericão submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

A salinidade aumentou o teor de prolina livre para ambos genótipos, em ambas as partes das plantas (Figura 3.7). Nas folhas, os teores médios de prolina livre no tratamento salino foram semelhantes, 1,63 mmol g⁻¹ MS (TFA) e

1,35 mmol g⁻¹ MS (GM). Contudo, nas raízes nota-se que no tratamento com estresse, o genótipo GM (3,12 mmol g⁻¹ MS) teve em média o dobro de prolina, quando comparado ao genótipo TFA (1,48 mmol g⁻¹ MS).

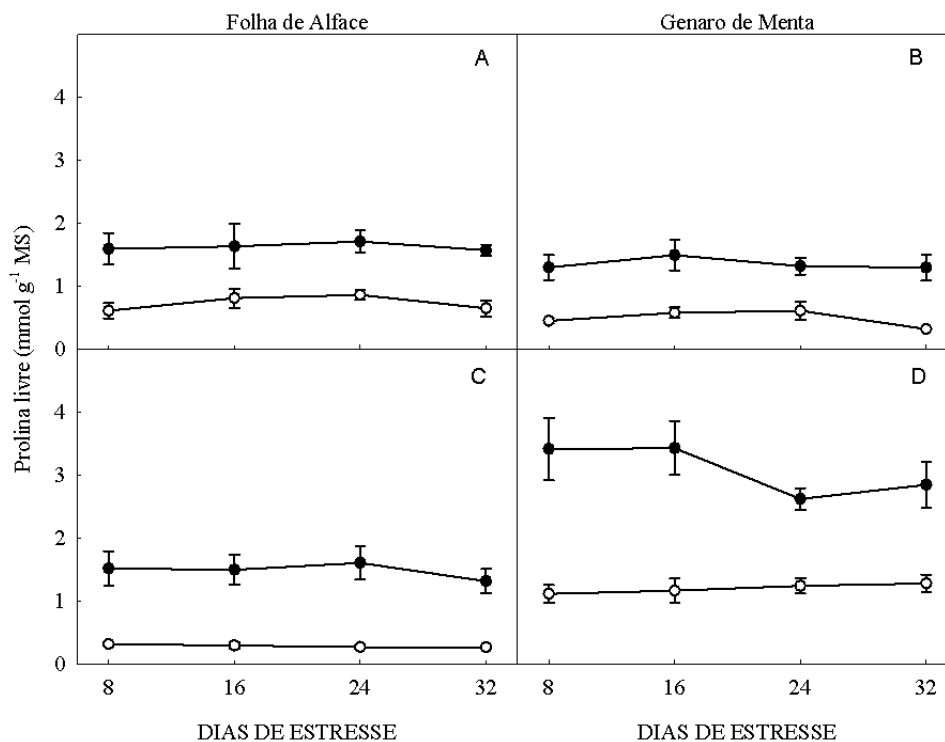


Figura 3.7. Teores de prolina livre em folhas (A e B) e raízes (C e D), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

Segundo Iqbal et al. (2014), o acúmulo de prolina livre é um dos mecanismos adaptativos utilizados pelas plantas para amenizar o efeito do estresse salino. Diversas funções estão relacionadas à prolina, como a estabilização de estruturas subcelulares (por exemplo, membranas e proteínas), eliminação de radicais livres e tamponamento do potencial redox celular sob condições de estresse (ASHRAF; FOOLAD, 2007). Contudo, outros autores defendem que o acúmulo de prolina é insuficiente para a manutenção do ajuste osmótico. De acordo com Cova et al. (2016), em estudos com

tolerância a salinidade em noni (*Morinda citrifolia* L.) a prolina não contribui quantitativamente de forma relevante para o ajustamento osmótico da espécie, mas sugere que o aumento induzido pela salinidade nas concentrações deste soluto desempenha um papel na aclimação ao estresse salino ou é um indicador dos distúrbios metabólicos induzidos pela salinidade.

Neste trabalho, apesar do maior teor de prolina nas raízes do GM, o seu aumento significativo nas folhas e raízes de ambos os genótipos parece estar relacionado ao seu papel como molécula sinalizadora dos danos pelo estresse salino, como relatado por Cova et al., (2016). Do ponto de vista do ajustamento osmótico, os teores de carboidratos solúveis e de aminoácidos livres foram, quantitativamente, muito maiores que os de prolina, corroborando com Oliveira et al. (2013) os quais consideram que os teores de prolina não são suficientes para uma contribuição significativa no ajustamento osmótico e tendo em vista o alto custo energético para a síntese de prolina.

Sob condições salinas, os teores de pigmentos não foram alterados no genótipo TFA, quando comparados ao tratamento controle, entretanto o genótipo GM apresentou aumento médio nos teores de Cla (64%), Clb (58%) e Car (34%), quando submetido ao estresse salino (Figura 3.8).

De acordo com Qiu e Lu (2003), plantas tolerantes à salinidade não apresentam alterações nas concentrações de clorofila. Considerando que os teores de pigmentos não foram alterados no genótipo TFA (tolerante) e aumentaram no GM (sensível), os resultados sugerem que a variação dos teores de clorofilas não foi um bom indicador da tolerância à salinidade em manjeriço. Bernstein et al. (2010) observaram que as concentrações de Cla e Clb em manjeriço não foram significativamente alteradas pela salinidade.

Conforme observado no genótipo GM o aumento dos teores de clorofilas induzido pela salinidade também foi reportado em *Ananas porteanus* (MENDES et al., 2011), arroz (MISRA et al., 1997) e beterraba açucareira (JAMIL et al., 2007). Os autores associaram este aumento à ativação do mecanismo de proteção do maquinário fotossintético por meio do aumento do tamanho ou do número de cloroplastos.

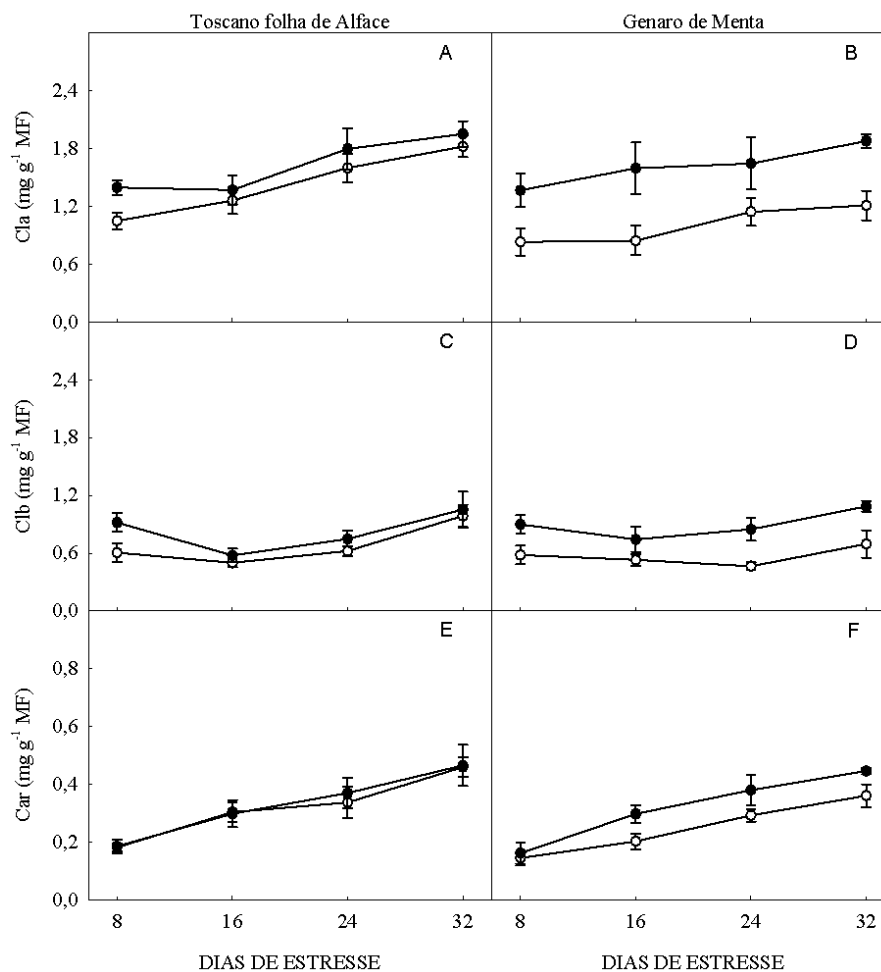


Figura 3.8. Teores de Cla (A, B), Clb (C, D) e Car (E, F), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (○) ou presença de 80 mM NaCl (●) na solução nutritiva. Os pontos indicam a média de seis repetições e as barras os desvios padrões.

As plantas sob estresse salino apresentam respostas diferenciadas ao acúmulo de carotenoides (MANE et al., 2010), que são pigmentos fotoprotetores integrados nas membranas (TAIBI et al., 2016). Além disso, os carotenóides também estão envolvidos nos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo (BERNSTEIN et al., 2010; GILL; TUTEJA, 2010; TAIBI et al., 2016). Dessa forma, o aumento destes pigmentos nas plantas estressadas do genótipo sensível (GM) sugere uma maior necessidade de dissipação do excesso de energia luminosa e de remoção das espécies reativas do oxigênio.

Como o aumento dos teores de clorofilas e carotenoides só foi observado no genótipo que apresentou maior redução de biomassa, os dados sugerem que esta redução pode, ao menos em parte, ser explicada pelo efeito de concentração ou ainda pelo maior gasto energético na biossíntese de pigmentos para manutenção da fotossíntese e proteção do maquinário fotossintético.

Neste trabalho, o estresse salino reduziu em 30% o teor de óleo essencial no genótipo TFA, enquanto aumentou 244% no GM (Figura 3.9A). Consequentemente, o rendimento e a produtividade diminuíram, respectivamente, 68 e 35% no TFA e aumentaram 70 e 240% no GM (Figuras 3.9B e 3.9C). Em plantas aromáticas a produção e a biossíntese de metabólitos secundários, é fortemente influenciada pelos estresses bióticos e abióticos (ÇOBAN; BAYDAR, 2016). Quando submetidas à salinidade o teor de óleo essencial nas plantas pode diminuir (KHORASANINEJAD, et al., 2010), aumentar (BERNSTEIN et al., 2010; NERFATTI; MARZOUK, 2008; GOBBONETO; LOPES, 2007) ou não sofrer alteração (RAGAGNIN et al., 2014), dependendo da espécie estudada.

Tem sido comumente relatado na literatura o aumento no teor de óleo seguido por restrição na produção de biomassa (REBEY et al., 2016; VALIFARD et al., 2014; PARIDA; DAS 2005). Bernstein et al., (2010) relacionam o aumento da produção de óleo com reduções consideráveis da biomassa, ou seja, para estes autores o aumento do teor de óleo não resulta necessariamente de um estímulo da biossíntese e sim de um efeito de concentração. Contudo, para o GM pode-se inferir que o aumento do teor de óleo está relacionado com o estímulo da biossíntese sob condição salina, pois o aumento no teor de óleo (244%) foi muito superior à redução de massa seca (61%), o que não pode ser explicado apenas pelo efeito de concentração. Em contraste com o GM, a redução no teor de óleo no TFA associada à não alteração da biomassa foliar indica que o estresse salino reduziu a biossíntese de óleo neste genótipo.

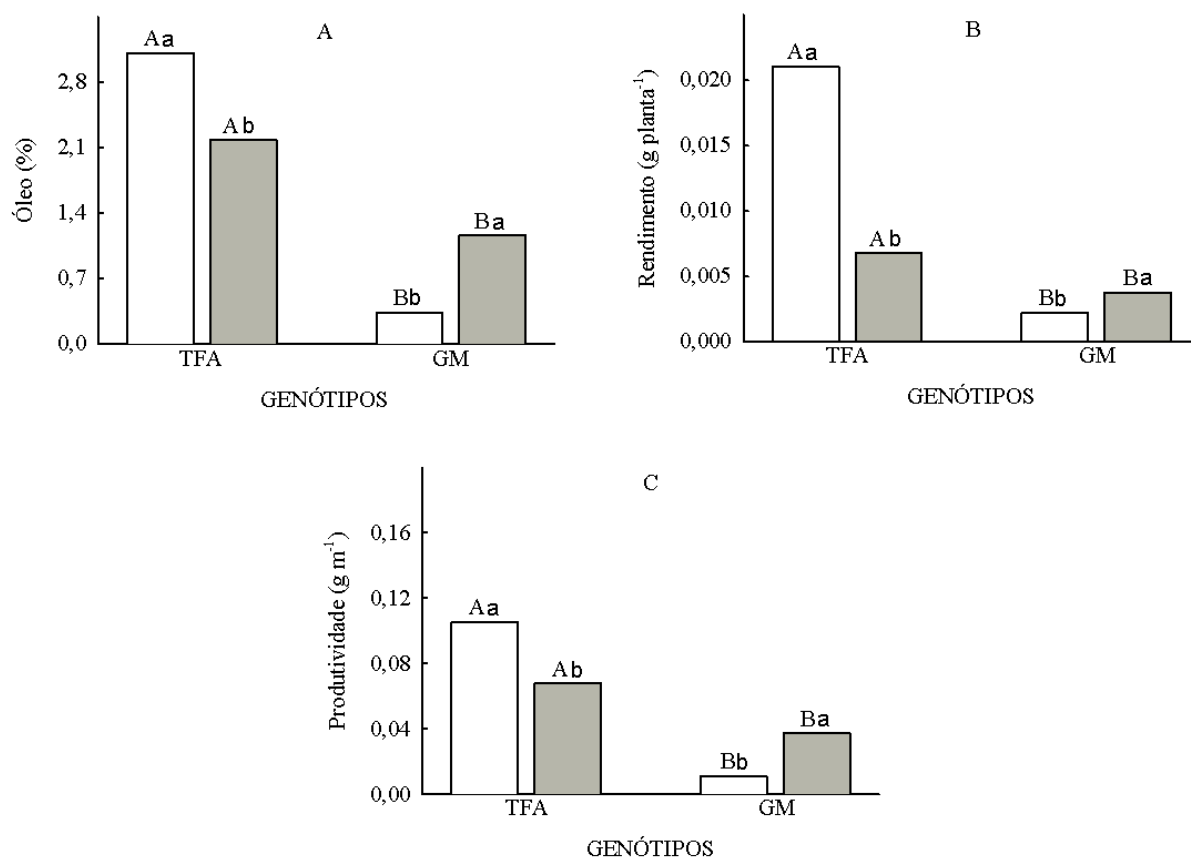


Figura 3.9. Teor de óleo (A), rendimento (B) e produtividade (C), em dois genótipos de manjeriço submetidos ao estresse salino por NaCl, cultivados durante 32 dias em sistema hidropônico em condições controle (□) ou 80 mM de NaCl (■) na solução nutritiva. Dentro de cada tratamento médias seguidas de letras maiúsculas, e dentro de cada genótipo, médias seguidas de letras minúsculas, diferem estatisticamente e entre pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Mesmo com esta redução do teor de óleo a produtividade do genótipo TFA (0,0679 cm³ m⁻¹ de perfil) foi 82% maior que a do GM (0,0374 cm³ m⁻¹ de perfil). O teor de óleo essencial é uma variável que pode afetar o valor econômico desta cultura, pois interfere diretamente no rendimento e na produtividade. Neste trabalho, apesar da salinidade aumentar a produtividade do genótipo GM e diminuir a do TFA, do ponto de vista econômico, o TFA mostrou ser o mais indicado que o GM para produção hidropônica com águas salobras com vistas à produção de óleo.

Outro aspecto importante a ser considerado é o da intensidade do estresse sobre a produção de óleo. Em algumas espécies o teor de óleo aumenta até um determinado nível salino, diminuindo em níveis salinos mais altos, como observado em *Salvia officinalis* (TAARIT et al., 2009), *Mentha suaveolens* (KASRATI et al. 2014) e *Salvia mirzayanii* (VALIFARD et al., 2014). Como neste trabalho o teor de óleo somente foi avaliado em duas concentrações de NaCl (0 e 80 mM), são necessários estudos posteriores com níveis salinos mais baixos para identificação do nível de salinidade capaz de induzir a máxima produtividade de óleo, principalmente no genótipo TFA.

3.5. CONCLUSÕES

Os teores de solutos inorgânicos (Na^+ , Cl^- e K^+) não são bons indicadores da tolerância à salinidade nos genótipos estudados. Entre os solutos orgânicos, o aumento dos teores de aminoácidos livres nas folhas e raízes apresenta relação com a tolerância ao estresse salino em manjeriço.

A variação dos pigmentos fotossintetizantes não apresentou relação com tolerância ou sensibilidade dos genótipos estudados.

A salinidade de 80 mM NaCl induz a biossíntese de óleo essencial no genótipo GM e inibe no TFA, entretanto o TFA apresenta maior produtividade e é o mais indicado para cultivo hidropônico neste nível salino com vistas à produção de óleo.

3.6. REFERÊNCIAS

ASHRAF, M.; FOOLAD, M. A. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine betaine and proline. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 206-216, 2007.

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

AZEVEDO NETO, A. D.; PRISCO, J. T.; ENÉAS FILHO, J.; LACERDA, C. F.; SILVA, J. V.; COSTA, P. H. A.; GOMES FILHO, E. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 16, p. 31-38, 2004.

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

BARBIERI, G.; VALLONE, S.; ORSINI, F.; PARADISO, R.; PASCALE, S.; NEGRE-ZAKHAROV, F.; MAGGIO, A. Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.1 69, p. 1737-1746, 2012.

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.

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**, v. 156, p. 167-77, 2010.

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**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

ÇOBAN, O.; BAYDAR, N. G. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 251-258, 2016.

COLLAA, G.; ROUPHAEL, Y.; REAC, E.; CARDARELL, M. Grafting cucumber plants enhance tolerance to sodium chloride and sulfate salinization. **Scientia Horticulturae**, v. 135, p. 177–185, 2012.

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**, v. 11, n. 35, p. 3347-3354, 2016.

DIAS, N. D.; BLANCO, F. F. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade. p. 129-140, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, A. K.; HAMILTN, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

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

FERREIRA-SILVA, S. L.; SILVEIRA, J. A. G.; VOIGT, E. L.; SOARES, L. S. P.; VIÉGAS, R. A. Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p. 51-59, 2008.

FURLANI, P. R. **Instrução para o cultivo de hortaliça de folha pela técnica de hidroponia- NFT**. Campinas, Instituto Agrônômico, (Boletim Técnico, 168), 1998.

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

GHOULAM, C.; FOURSY, A.; FARES, K. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, n. 1, p. 39-50, 2002.

GILL, S. S. TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

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

IMADA, S.; YAMANAKA, N.; TAMAI, S. Effects of salinity on the growth, Na partitioning, and Na dynamics of a salt-tolerant tree, *Populus alba* L. **Journal of Arid Environments**, v. 73, p. 245-251, 2009.

IQBAL, N.; UMAR, S.; KHAN, N. A.; KHAN, M. I. R. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 100, p. 34-42, 2014.

JAMIL, M.; REHMAN, S.; RHA, E. S.; Salinity effect on plant growth, photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 3, p. 753-760, 2007.

JONES, J. B. **Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis**. Boca Raton: CRC Press, 2001, 384 p.

KASRATI, A.; JAMALI, C. A.; BEKKOUCHE; WOHLMUTH, H.; LEACH D.; ABBAD, A. Plant growth, mineral nutrition and volatile oil composition of *Mentha suaveolens* subsp. *timija* (Briq.) Harley cultivated under salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 80-84, 2014.

KHORASANINEJAD, S.; MOUSAVI, A.; SOLTANLOO, H.; HEMMATI, K.; KHALIGHI, A. THE Effect of Salinity Stress on Growth Parameters, Essential oil Yield and Constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.) **World Applied Sciences Journal**, v. 11, n.11, p. 1403-1407, 2010.

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

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

MANCARELLA, S.; ORSINI, F.; VAN OOSTEN, M. J.; SANOUBAR, R.; STANGHELLINI, C.; KONDO, S.; GIANQUINTO, G.; MAGGIO, A. Leaf sodium accumulation facilitates salt stress adaptation and preserves photosystem functionality in salt stressed *Ocimum basilicum*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 130, p. 162-173, 2016.

MANE, A. V.; KARADGE, B. A.; SAMANT, J. S. Salinity induced changes in photosynthetic pigments and polyphenols of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 2, p. 338-347, 2010.

MELONI, D. A.; GULOTTA, M. R.; MARTÍNEZ, C. A.; OLIVA, M. A. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycine betaine

accumulation in *Prosopis alba*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 16, p. 39-46, 2004.

MENDES, B. S. S.; WILLADINO, L.; CUNHA, P. C.; OLIVEIRA FILHO, R. A.; CAMARA, T. R. Mecanismo fisiológicos e bioquímicos do abacaxi ornamental sob estresse salino. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 3, p. 71-77, 2011.

MISRA, A.; SAHU, A. N.; MISRA, M.; SINGH, P.; MEERA, I.; DAS, N.; KAR, M.; SAHU, P. Sodium chloride induced changes in leaf growth, and pigment and protein contents in two rice cultivars. **Biologia Plantarum**, v. 39, n. 2, p. 257-262, 1997.

MUNNS, R. Physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239-250, 2002.

NEFFATI, M.; MARZOUK, B. Changes in essential oil and fatty acid composition in coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under saline conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 28, p. 137-142, 2008.

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 & Plant Sciences**, v. 25, n. 1, p. 131-138, 2015.

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

PARIHAR, P.; SINGH, S.; SINGH, R.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 4056-4075, 2015.

QIU N.; LU, C. Enhanced tolerance of photosynthesis against high temperature damage in salt-adapted halophyte *Atriplex centralasiatica* plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 1137-1145, 2003.

RAGAGNIN, R. C. G.; ALBUQUERQUE, C. C.; OLIVEIRA, F. F. M.; SANTOS, R. G.; GURGEL, E. P.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A. S.; VIANA, F. A. Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 28, n. 3, p. 346-351, 2014.

REBEY, I. B.; BOURGOU, S.; RAHALI, F. Z.; MSAADA, K.; KSOURI, R.; MARZOUK, B. Relation between salt tolerance and biochemical changes in cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 3, p. 1-12, 2016.

REYES-PEREZ, F.; SALAZAR-GARCIA, M. G.; ROMERO-BARANZINI, A. L.; ISLAS-RUBIO, A. R.; RAMIREZ-WONG, B. Estimated glycemic index and dietary fibre content of cookies elaborated with extruded wheat bran. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, p. 52-56, 2013.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises Químicas em Plantas**. E.S.A . "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Brasil. 1974, 56 p.

SERRANO, R.; GAXIOLA, R. Microbial models and salt stress tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 13, p. 121-138, 1994.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; LIMA, C. S.; VIÉGAS, R. A. Contribuição de solutos orgânicos e inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 437-445, 2009.

SNEDECOR, G. W. **Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology**. 5. ed. Ames: Iowa State College Press, 1956. 534 p.

STRANGE, K. Cellular volume homeostasis. **Advances in Physiology Education**, v. 28, p. 155-159, 2004.

TAARIT, M. B.; MSSADA, K.; HOSNI, K; HAMMAMI, M.; KCHOUK, M. E.; MARZOUK, B. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 3, p. 333-337, 2009.

TAIBI, K.; TAIBI, F.; ABDERRAHIM, L. A; ENNAJAH, A.; BELKHODJA, M.; MULET, J. M. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 306-312, 2016.

VALIFARD, M.; MOHSENZADEH, S.; KHOLDEBARIN, B.; ROWSHAN, V. Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 92-97, 2014.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 209-213, 1955.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed.; versão digital. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2008, 1020 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de águas de salobras para agricultura é recorrente em regiões com escassez hídrica, como as regiões áridas e semiáridas, onde a agricultura irrigada é fundamental para o desenvolvimento agrícola. Contudo, o uso destas águas causa severos problemas ambientais a exemplo da salinização, desertificação e o abandono de terras. Portanto, faz-se necessário a utilização de tecnologias que viabilizem a demanda produtiva destas regiões com responsabilidade socioambiental.

A irrigação é uma importante via de impactos ambientais negativos de origem antrópica. Em área onde a salinização é realidade, o cultivo hidropônico e a utilização de espécies tolerante à salinidade se destacam como tecnologias viáveis para o desenvolvimento agrícola. Ressalta-se que, o cultivo hidropônico não se restringe apenas a regiões semiáridas e pode ser desenvolvido com aproveitamento de água salobras e residuárias.

A maioria das espécies cultivadas são glicófitas, ou seja, são pouco tolerantes ao estresse salino, com diminuição do crescimento e produtividade. Assim, pesquisas sobre tolerância à salinidade em espécies cultivadas são necessárias para entender os mecanismos de tolerância destas espécies. As espécies desenvolvem mecanismos de aclimação sob condições salinas, um dos mais estudados é o ajustamento osmótico.

O manjerição é uma espécie medicinal, condimentar e aromática, de importância para as indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos. Esta relevância deve-se em parte, a produção de óleo essencial e constituição na composição química do óleo, que de modo geral é influenciada tanto por estresses bióticos quanto abióticos, como por exemplo o estresse salino. Assim, é possível utilizar a salinidade como técnica de manejo produtivo para aumentar o teor do óleo ou alterar sua composição.

Apesar de ser uma espécie glicófita, o manjerição é relatado na literatura como moderadamente tolerante à salinidade. Neste estudo foi observada variação genotípica na tolerância ao estresse salino entre seis genótipos (Toscano folha de alface, Limocino, Alfavaca basilicão, Alfavaca basilicão

vermelho, Gennaro de menta e Grecco a palla), sendo o Toscano folha de alface o mais tolerante e o Gennaro de menta o mais sensível, quando comparados entre si. Esta diversidade genética no manjeriço é uma característica vantajosa à seleção de espécies para programas de melhoramento genéticos.

A salinidade afetou as variáveis de crescimento. Houve diminuição no diâmetro do caule, altura, número de folhas e produção de massa seca das folhas, caules e raízes, com exceção para o genótipo Toscano folha de alface. A redução da produção de biomassa foi evidenciada como uma variável capaz de discriminar tolerância salina na espécie. Esta variável é descrita por muitos autores como a principal característica de seleção de plantas tolerantes, haja vista que o turgor da planta é afetado primariamente em situação de estresse, por consequência há a redução do crescimento.

Os teores de pigmentos e o teor relativo de água, não foram bons indicadores de tolerância à salinidade para o manjeriço. Em contraste, a produção de biomassa, o acúmulo de solutos inorgânicos e a PIA, destacam-se como bons indicadores da tolerância ao estresse. No genótipo Toscano Folha de alface foi observado maior acúmulo de K^+ e um menor acúmulo de Na^+ nas folhas o que pode ter desempenhado um papel chave na manutenção da integridade das membranas celulares neste genótipo, resultando em maior uma tolerância ao estresse salino e, conseqüentemente, maior produção de massa seca. O aumento dos aminoácidos livres sugere uma relação deste soluto com a tolerância salina no genótipo Toscano Folha de Alface. Embora os teores de solutos orgânicos quantificados não contribuam substancialmente para o potencial osmótico, deve desempenhar outro papel na aclimação ao estresse salino, ou como indicadores de distúrbios metabólicos induzidos pela salinidade.

A salinidade induz a biossíntese de óleo essencial no genótipo Gennaro de menta e inibe no Toscano folha de alface. Apesar desta indução de biossíntese, a produtividade foi 82% maior Toscano folha de alface, haja vista que este genótipo manteve a produção de biomassa. O teor de óleo essencial é uma variável que pode afetar o valor econômico da cultura, pois afeta

diretamente o rendimento e a produtividade. Deste modo, comparando as duas variedades, o Toscano Folha de alface é o mais indicado para produção hidropônica com águas de salobras com vistas à produção de óleo, devido ao seu alto teor mesmo sob redução na biossíntese induzida pelo sal.

O estudo em solução nutritiva e em ambientes controlados (ex: casa de vegetação ou estufas) tem por vantagem isolar fatores climáticos para melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos nas espécies vegetais. Tendo em vista que a produção de óleo essencial é afetada por fatores ambientais como a salinidade, são necessários estudos com manjericão em condições de campo, visando definir o efeito de outros fatores ambientais sobre a biossíntese do óleo.

Outras abordagens possíveis, são a viabilidade da irrigação com águas salobras como técnicas de manejo de produção de óleo essencial e a utilização destes genótipos em programas de melhoramento genético para tolerância a salinidade no manjericão.