

**ASPECTOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES
E INFLUÊNCIA DA LUZ NO DESENVOLVIMENTO,
ANATOMIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL EM *Ocimum gratissimum* L.**

JOEFERSON REIS MARTINS

2006

JOEFERSON REIS MARTINS

**ASPECTOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E
INFLUÊNCIA DA LUZ NO DESENVOLVIMENTO,
ANATOMIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL EM *Ocimum gratissimum* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2006

**Ficha Catalográfica Preparada Pela Divisão De Processos Técnicos Da
Biblioteca Central Da UFLA**

Martins, Joeferson Reis

Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L. / Joeferson Reis Martins. – Lavras : UFLA, 2006.

176 p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Alfavaca. 2. Sementes. 3. Armazenamento. 4. óleo essencial. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-583.87044

JOEFERSON REIS MARTINS

**ASPECTOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E
INFLUÊNCIA DA LUZ NO DESENVOLVIMENTO,
ANATOMIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
ESSENCIAL EM *Ocimum gratissimum* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 08 de novembro de 2006.

Prof. Dr. Marcelo Polo

UNIFAL

Prof^ª Dr^ª. Ana Hortência Fonseca Castro

UNILAVRAS

**Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga
UFLA
(Orientador)**

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2006

A Deus e aos meus familiares,
OFEREÇO

À minha esposa Ana Paula e ao meu
filho Matheus Oliveira Reis,
meu maior orgulho,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, grande amigo, a quem sirvo com uma consciência pura. Ele sempre esteve comigo e isso foi fundamental para eu alcançar este momento que marca uma trajetória.

Ao meu querido pai, João da Silva Reis, e minha querida mãe, Efigênia Andrade Reis, presentes de Deus, que me ensinaram o caminho da salvação e sempre demonstraram admirável amor e carinho, sem medidas. O que me conforta e me dá forças é a certeza absoluta de que vocês estão muito bem. Fico com um vazio imenso, uma saudade infinita e lembranças que de forma alguma consigo adjetivar. Até um dia, meus amigos!

À minha esposa Ana Paula pelo carinho, incentivo e companheirismo em todos os momentos. Valeu! Estamos juntos, sempre!

À minha irmã Joelma pela amizade e apoio incondicional. Você é mais que importante para mim.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização da Pós-graduação.

A FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Amauri Alves de Alvarenga pela orientação, amizade, apoio irrestrito e por sempre acreditar que as coisas dariam certo. Deus continue te iluminando. Obrigado, sempre!

Ao professor Evaristo Mauro de Castro, uma pessoa formidável e muito competente. É um grande prazer tê-lo como co-orientador.

Ao grande amigo Luiz Antônio pelo magnífico auxílio na execução deste trabalho e pelas construtivas trocas de idéias. Você é especial, um presente de Deus.

A Cyntia e ao Walter da Anatomia, e a Larissa e Louise da Fitotecnia pela paciência, dedicação e auxílio. Vocês foram fundamentais na realização deste trabalho.

Aos professores Luiz Edson Mota de Oliveira e Ângela Maria Soares por todos os conhecimentos transmitidos e exemplos de vida.

Aos funcionários técnico-administrativos, Odorêncio, Joel, Lena, D'Artagnan e Izonel, por todo auxílio e pela simpatia. Valeu!

Aos professores do Setor de Sementes, em especial ao super competente Renato Mendes Guimarães e a Luciana, pela amizade, dedicação e conhecimentos transmitidos.

Ao professor Eduardo Alves e a Eloísa pela atenção e valioso auxílio na microscopia eletrônica.

Ao Departamento de Química da UFMG, em especial à Doutora Vany Verraz, pela dedicação e grande auxílio.

Ao Professor Marcelo Polo e à professora Ana Hortência pela disponibilidade na avaliação deste trabalho.

Aos amados irmãos da Primeira Igreja Batista de Lavras, em especial a Tia Rô, Flávio, Robson, Raquel, Gabriel, Manú e ao extraordinário pastor Erlandi pela amizade e por sempre estar presente. Vocês são demais!

Aos amigos e colegas da Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, em especial ao Gustavo, que é gente fina demais, João Paulo, Marcos Vilhena, Thales, Cristina F. Justo, Carlos Vinícios (Espeto), Sara, Vanessa e Fernanda Carlota. Obrigado a todos vocês!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL.....	01
1 INTRODUÇÃO.....	02
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	04
2.1 Descrição botânica e propriedades terapêuticas de <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	04
2.2 Composição química das sementes.....	07
2.3 Avaliação da qualidade das sementes pelo teste de raios-X.....	08
2.4 Armazenamento de sementes.....	10
2.5 Aspectos fisiológicos da germinação.....	13
2.6 Influência da luz na fisiologia das plantas.....	17
2.7 Influência da luz na anatomia foliar.....	20
2.8 Influência da luz na síntese e acúmulo de óleo essencial.....	23
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO II: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. PELO TESTE DE RAIOS-X.....	40
1 RESUMO.....	41
2 ABSTRACT.....	42
3 INTRODUÇÃO.....	43
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1 Material vegetal.....	45
4.2 Composição química das sementes.....	45
4.2.1 Determinação do grau de umidade e peso de mil sementes.....	45

4.2.2 Determinação da fração de lipídeos ou extrato etéreo.....	45
4.2.3 Determinação da fração protéica.....	46
4.2.4 Determinação da fração de resíduo mineral fixo.....	46
4.2.5 Determinação da fração de fibra bruta.....	47
4.2.6 Determinação da fração de amido.....	47
4.2.7 Determinação da fração de açúcares redutores e não redutores.....	47
4.3 Teste de raios-X.....	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Composição centesimal das sementes de <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	49
5.2 Teste de raios-X.....	50
6 CONCLUSÕES.....	52
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CAPÍTULO III: ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. EM DIFERENTES EMBALAGENS E AMBIENTES.....	57
1 RESUMO.....	58
2 ABSTRACT.....	59
3 INTRODUÇÃO.....	60
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
4.1 Instalação e condução do experimento.....	62
4.2 Análise estatística.....	65
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
6 CONCLUSÕES.....	71
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
CAPÍTULO IV: INFLUÊNCIA DA LUZ, TEMPERATURA E GIBERELINA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	74
1 RESUMO.....	75

2 ABSTRACT.....	76
3 INTRODUÇÃO.....	77
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	79
4.1 Procedimento experimental.....	80
4.2 Análise estatística.....	82
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
5.1 Efeito da temperatura e da luz na germinação e formação de plântulas de <i>O. gratissimum</i> L.	82
5.2. Efeito de diferentes concentrações de GA ₃ na germinação e formação de plântulas de <i>Ocimum gratissimum</i> quando estas são submetidas à temperatura de incubação de 20-30°C, na presença e ausência de luz.....	87
6 CONCLUSÕES.....	90
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

CAPÍTULO V: EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO NO CRESCIMENTO, TEOR DE CLOROFILAS E CAROTENÓIDES E ANATOMIA FOLIAR EM <i>Ocimum gratissimum</i> L...	96
1 RESUMO.....	97
2 ABSTRACT.....	98
3 INTRODUÇÃO.....	99
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	103
4.1 Ambiente de cultivo.....	106
4.2 Avaliação do crescimento.....	106
4.3 Anatomia foliar.....	108
4.3.1 Microscopia de luz (ML).....	108
4.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	109
4.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	110
4.4 Análises estatísticas.....	111
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	112

5.1 Análise de crescimento.....	112
5.1.1 Área foliar específica, razão de área foliar, razão de peso foliar.....	119
5.2 Conteúdo de clorofilas e carotenóides.....	120
5.3 Anatomia foliar.....	123
5.3.1 Microscopia de Luz.....	123
5.3.1.1 Avaliações das seções transversais.....	123
5.3.1.2 Avaliações das seções paradérmicas.....	126
5.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão: Cloroplastos.....	129
5.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura: Tricomas.....	132
6 CONCLUSÕES.....	137
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	138

CAPÍTULO VI: EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO NO ACÚMULO E NA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	149
1 RESUMO.....	150
2 ABSTRACT.....	151
3 INTRODUÇÃO.....	152
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	154
4.1 Procedimento de coleta do material vegetal, extração do óleo essencial e seu teor percentual.....	157
4.2 Análise qualitativa do óleo essencial.....	158
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	160
6 CONCLUSÕES.....	166
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	166
ANEXOS.....	171

RESUMO GERAL

MARTINS, Joeferson Reis. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** 2006. 176 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Diante da necessidade de aprofundar os conhecimentos sobre a flora medicinal, selecionou-se a espécie *Ocimum gratissimum* L., uma importante produtora de óleo essencial bastante utilizada como fitoterápico. Os principais objetivos neste trabalho foram avaliar aspectos fisiológicos da germinação e armazenamento das sementes, assim como analisar o crescimento, a anatomia foliar e o acúmulo de óleos essenciais de plantas jovens desta espécie quando submetidas a diferentes condições de luz (sob pleno sol, sob malhas preta, vermelha e azul de 50% de sombreamento). As sementes dessa espécie apresentam uma equivalência nas classes de reservas, havendo predominância de proteínas. O teste de raios-X foi um método eficiente e não destrutivo numa avaliação complementar de qualidade das sementes, pois permitiu a nítida visualização de sementes cheias e vazias, podendo ser útil na complementação de testes de germinação. As sementes armazenadas durante doze meses, tanto em ambiente de balcão de laboratório (condições climáticas de Lavras, MG), geladeira (10°C e 50%) ou câmara fria (10°C e 45% UR), utilizando as embalagens saco de papel, saco de papel aluminizado ou frasco de vidro, não perderam a qualidade fisiológica. Os melhores resultados de germinabilidade, velocidade de germinação, tempo médio e plântulas normais ocorreram na presença de luz, à temperatura alternada de 20-30°C e à temperatura constante de 30°C; porém, a germinabilidade não excedeu a 55%. As sementes de *O. gratissimum* L. podem ser consideradas fotoblásticas positivas preferenciais, uma vez que sob temperaturas alternadas (15-25°C e 20-30°C), na ausência de luz, ocorre uma discreta germinação. Na presença de luz, as concentrações de GA₃ não alteraram a germinabilidade; porém, na ausência de luz e sob temperatura alternada de 20-30°C, o GA₃ atuou de forma efetiva, promovendo os melhores valores de germinabilidade, IVG e tempo médio. As plantas de *Ocimum gratissimum* L. apresentam uma plasticidade fisiológica e anatômica para os diferentes tratamentos com relação à radiação. As plantas crescidas sob pleno sol tiveram o maior acúmulo de matéria

* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

seca, a menor área foliar, a maior espessura foliar, o maior conteúdo de carotenóides e a maior densidade de estômatos, tricomas tectores e glandulares na superfície adaxial das folhas. A radiação transmitida pela malha azul proporcionou o maior crescimento em altura, maior área foliar e maior funcionalidade estomática. As plantas de *O. gratissimum* L. crescidas em condições de sombreamento parcial acumularam maior quantidade de óleo essencial que aquelas a pleno sol. A qualidade espectral da radiação no ambiente sob malha azul permitiu à espécie *O. gratissimum* L. produzir 142% a mais de óleo essencial por unidade de massa seca. A análise qualitativa do óleo essencial permitiu classificar as plantas de *Ocimum gratissimum* L. utilizadas neste experimento como pertencentes ao quimiotipo eugenol, pois este é o composto majoritário, representando de 83 a 88% do óleo essencial entre os tratamentos.

GENERAL ABSTRACT

MARTINS, Joeferson Reis. **Aspects of seeds germination and influence of light on the development, leaf anatomy and chemical composition of essential oil in *Ocimum gratissimum* L.** Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

Before the need to deepen the knowledge about medicinal flora, the species *Ocimum gratissimum* L., an important producer of essential oil much utilized as a phytotherapeutic, was selected. The main objectives in this work were to evaluate physiologic aspects of germination and storage of seeds as well as to investigate growth leaf anatomy and accumulation of essential oils of young plants of this species when submitted to different light conditions (under full sunshine, under black and blue meshes of 50% of shading). The seeds of this species showed an equivalence in the reserve classes, there being the predominance of proteins. The X ray test was an effective and non-destructive method in a complementary evaluation of quality of the seeds, since it enabled the sharp viewing of full and empty seeds, its being able to be useful in the complementation of germination tests. The seeds stored for twelve months both in the laboratory bench setting (climatic conditions of Lavras, MG) and in refrigerator (10°C and 50%) or cold chamber (10°C and 45% RH, utilizing the packages paper bag alminized paper bag or glass flask did not loss physiological quality. The best results of germinability, germination velocity, average time and normal seedlings took place in the presence of light, at the alternate temperature of 20-30°C and at constant temperature of 30°C, but, germinability did not exceed 55%. The seeds of *O. gratissimum* L. can be regarded as preferential positive photoblastic, since they alternate temperatures (15-25°C and 20-30°C), in the absence of light, a distinct germination occurs in the presence of light, the concentrations of GA₃ did not change germinability, but in the absence of light and under alternate temperature of 20-30°C, GA₃ acted in an effective way promoting the best values of germinability, IVG and average time. The plants of *Ocimum gratissimum* L. show a physiological and anatomical plasticity for the different treatments relating to radiation. The plants grown under full sunshine had the highest accumulation of dry matter, the smallest leaf area, the greatest leaf thickness, the highest caratenoid content and

* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

the greatest thickness of stomas, tector and glandular trichomes on the adaxial surface of leaves. The radiation transmitted by the blue mesh provided the greatest height growth, largest leaf area and stomatal functionality. The plants of *O. gratissimum* L. grown under conditions of partial shading accumulated greater amount of essential oil than those in the full sunshine. The spectral quality of radiation in the environment under the blue mesh allowed to the species *O. gratissimum* L. to yield 142% more of essential oil per unit of dry matter. The quantitative analysis of the essential oil enable to classify the plants of *Ocimum gratissimum* L. utilized in this experiment as belonging to the chemiotype eugenol, for this is the most widespread compound, representing from 83 to 88% of the essential oil among the treatments.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas pelo homem como recurso terapêutico natural é uma prática milenar que permitiu às civilizações o acúmulo de conhecimento através dos tempos. No Brasil, o emprego de plantas medicinais era prática indígena, que somado a outras práticas trazidas pelos europeus e, posteriormente, por escravos africanos, geraram uma rica cultura popular. Ainda hoje, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais. Elas são usadas intensamente no meio urbano como forma alternativa ou complementar aos medicamentos da medicina industrializada, os quais são economicamente inacessíveis à maioria da população.

De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como, por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a flora brasileira. Muitas plantas possuem compostos economicamente importantes, tais como óleos essenciais, alcalóides, resinas, taninos, ceras e outros. No entanto, muitas delas nunca foram observadas quanto aos seus compostos químicos e os diversos fatores que podem alterar sua concentração no vegetal. A carência de informações científicas, em contraste com a rica diversidade biológica do Brasil, país de ecossistemas tão ameaçados, deve incentivar pesquisas sobre plantas medicinais não somente nos âmbitos farmacológico e químico, mas também fisiológicos do crescimento, desenvolvimento e fitotécnicos da produção. Afinal, estudos desse gênero poderiam levar à reorganização das estruturas de uso dos recursos naturais por meio de planos de extração e manejo sustentável e, conseqüentemente, à

elevação do PIB, visto que há grande tendência mundial de aumento na utilização de fitoterápicos.

A qualidade da matéria-prima utilizada como fitoterápico é de extrema importância, pois afeta diretamente a eficácia e a segurança desses medicamentos. Para melhorar a qualidade da matéria-prima, as indústrias investem mais em cultivo em larga escala, o que permite a seleção de linhagens com alto teor de princípios ativos. O teor desses compostos, acumulados em diferentes partes do vegetal, está sob controle genético, porém pode ser alterado frente à influência de fatores externos ao organismo como fertilidade do solo, umidade, intensidade de luz, temperatura, herbivoria, poluição atmosférica e do solo. Além disso, a fenofase em que se encontra a planta por ocasião da coleta e outros fatores ainda mais sutis podem influenciar a composição química do vegetal. Portanto, para que se possa maximizar a produção de um determinado princípio ativo, é de fundamental importância que se conheça o comportamento da espécie em diferentes condições ambientais.

Diante da necessidade de aprofundar os conhecimentos dos recursos naturais brasileiros, e seguindo a orientação da Organização Mundial de Saúde (OMS) aos seus países membros de desenvolver pesquisas da flora medicinal, selecionou-se para estudo a espécie *Ocimum gratissimum* L., vulgarmente conhecida como alfavaca-cravo, por apresentar cheiro forte e agradável semelhante ao do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thumb.). *O. gratissimum* é um subarbusto ereto, pertencente à família Lamiaceae, cujas folhas são utilizadas na medicina tradicional no combate à febre, males estomacais, como analgésico e, ainda, como condimento na culinária. A espécie é considerada importante produtora de óleo essencial, tendo como componente de destaque o eugenol, que lhe confere atividade antisséptica local contra alguns fungos e bactérias.

Neste contexto, os principais objetivos deste trabalho foram avaliar aspectos fisiológicos da germinação e armazenamento das sementes de *O. gratissimum*, assim como analisar o desenvolvimento, a anatomia foliar, o rendimento e composição química de óleo essencial em plantas jovens desta espécie, quando submetidas a diferentes condições de luz.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição botânica e propriedades terapêuticas de *Ocimum gratissimum* L.

O gênero *Ocimum*, da Família Lamiaceae, compreende plantas ricas em óleos essenciais destinados às indústrias para produção de fármacos, perfumes e cosméticos. Segundo Paton (1999), geograficamente, 30 espécies de *Ocimum* estão distribuídas pelo mundo, sendo o gênero bem representado nas regiões quentes de ambos os hemisférios, ocorrendo do nível do mar até 1800m de altitude. A África, a Ásia e a América do Sul são os principais centros de diversidade do gênero.

Dentre a diversidade de espécies do gênero *Ocimum* destaca-se *Ocimum gratissimum* L., um subarbusto lenhoso, ereto, com até 1,0 m de altura, originário da Ásia e África e subespontânea em todo território brasileiro. Existem diversos quimiotipos, inclusive o designado como eugenolífero, conhecido popularmente como alfavaca-cravo, pois tem aroma forte e agradável que lembra o cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thumb.). Suas folhas são ovalado-lanceoladas, de bordos duplamente dentados, membranáceas, de 4-8 cm de comprimento (Figura 1). As flores são pequenas, roxo-pálidas, dispostas em racemos paniculados eretos e geralmente em grupos de três. O fruto é do tipo

cápsula, pequeno, possuindo quatro sementes esféricas (Lorenzi & Matos, 2000).



FIGURA 1. Aspecto geral de uma planta adulta de *Ocimum gratissimum* L.

A alfavaca-cravo pode ser uma planta anual ou perene, dependendo do local em que é cultivada. Apresenta-se como perene em regiões quentes e anual em regiões frias. A espécie é alógama e hibrida-se facilmente, apresentando grande número de subespécies e variedades (Correia Júnior, 1991).

Guenter (1943) reportou que os óleos essenciais destilados de *O. gratissimum* podiam ser divididos em dois grupos: o primeiro com alto teor de eugenol e o segundo com alto teor de timol. Desde então, a divisão de Guenter foi confirmada por trabalhos subsequentes. Foram estudadas plantas ricas em timol (Ekundayo, 1986; Jirovetz et al., 1998; Ndounga & Ouamba, 1997; Ntezurubanza et al., 1987; Pino et al., 1996; Sanda et al., 2001), e plantas ricas em eugenol (Colson et al., 1991; Cortez et al., 1998; Fun et al., 1990; Jankovsky et al., 1990; Zamureenko et al., 1986). Um terceiro quimiotipo, rico em geraniol, também foi descrito (Charles & Simon, 1992).

Segundo Vieira et al. (2001), duas variedades morfológicas de *O. gratissimum* (var. *gratissimum* e var. *macrophyllum*) foram encontradas com base em seis grupos de componentes de óleo essencial, e estes autores distinguiram-nas em três quimiotipos - eugenol, timol, e geraniol - de acordo com marcadores genéticos e componentes de seu óleo essencial.

O grande interesse em *O. gratissimum* se deve aos constituintes de seu óleo essencial, presente em tricomas glandulares superficiais (Gang et al., 2001), cujos componentes principais podem ser eugenol, metil-eugenol, linalol, 1,8-cineol e α -terpineol, entre outros, que variam de acordo com as condições de crescimento, estágio de desenvolvimento da planta e quimiotipo (Silva et al., 2005).

De acordo com Souza (1991), em estudos sobre a composição química da variedade de *O. gratissimum*, conhecida como quimiotipo eugenol, o óleo essencial das folhas contém 77,3 % de eugenol, 12,1% de 1,8-cineol, 2,3% de β -cariofoleno e 2,1% de (*Z*)-ocimeno. A presença desses compostos químicos justifica seu uso na confecção de licores e sucedâneo do óleo de cravo-da-índia.

Quimicamente, o eugenol é o 2-metoxi-4-(2-propenil)-fenol, com fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$ e massa molecular de 164 u.m.a. É um líquido incolor, com odor de cravo e sabor picante. O ponto de ebulição é de -9,2 a -9,1°C, com a densidade (d_{4}^{20}) de 1,0664 e índice de refração (n_D^{20}) de 1,5410. É praticamente insolúvel em água, mas miscível em álcool, clorofórmio, éter e óleos. A dose oral letal (LD_{50}) em ratos é de 2680-3000 mg/Kg. O eugenol é usado em perfumaria e como atrativo para insetos. Para humanos, o eugenol está na categoria terapêutica de analgésico dental (Guenter, 1943; The Index Merck, 1989).

Nas práticas usuais da medicina caseira as folhas da alfavaca-cravo são usadas na preparação de banhos antigripais, no tratamento de casos de nervosismo e paralisia (Lorenzi & Matos, 2000); em chás, as folhas são

utilizadas como carminativas, sudoríficas e diuréticas, febrífugas, antiblenorrágicas, para tratar tosse, vômitos e tuberculose (Pio Correa, 1984; Rodrigues, 1989). Segundo Matos (1998), o fato de a alfavaca possuir o óleo essencial rico em eugenol lhe confere ação antisséptica local contra alguns fungos e bactérias. Além disso, as folhas, flores e frutos secos ou pulverizados são utilizados como condimentos na culinária.

Estudos recentes têm verificado a bioatividade do óleo essencial de *O. gratissimum* sobre organismos de elevada patogenicidade, como *Leishmania amazonensis* (Ueda-Nakamura et al., 2006), *Cryptococcus neoformans* (Lemos et al., 2005), *Candida ssp.* (Nakamura, 2004), *Herpetomonas samuelpessoai* (Holetz et al., 2003), *Staphylococcus aureus* (Nakamura et al., 1999), *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella ssp*, *Klebsiela pneumoniae*, *Proteus vulgare*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytus* (Gulati & Sinha, 1990; Ndounga & Ouamba, 1997), além de ação analgésica (Okiemy-Andissa et al., 2004) e ação anestésica local em medicação odontológica (Craveiro, 1981).

2.2 Composição química das sementes

A composição química das sementes é definida geneticamente e pode ser influenciada pelas condições ambientais (Bewley & Black, 1994) como radiação, temperatura, disponibilidade de água e por práticas agrícolas interpostas às culturas, tais como adubação e época de plantio. As variações na composição química podem ocorrer em termos quantitativos devido a suprimentos diferenciais de assimilados, uma vez que a especificidade do acúmulo de reservas em sementes resulta de uma série complexa de processos bioquímicos, iniciados com a captação de energia luminosa e fixação do carbono durante a fotossíntese. Segundo Marcos Filho (2005), a planta-mãe produz

açúcares, especialmente a sacarose, e aminoácidos essenciais para a biossíntese de substâncias mais elaboradas de reserva nas sementes.

As sementes são constituídas de substâncias estruturais, como oligo e polissacarídeos das paredes celulares, e de substâncias de reserva como proteínas, lipídeos e carboidratos (Begnami, 1998). Dependendo do composto de reserva predominante, as sementes podem ser classificadas como amiláceas, oleaginosas ou protéicas. Estas reservas têm como funções básicas a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula que apresente a capacidade de se manter de forma autotrófica (Ferreira & Borghetti, 2004).

Os carboidratos e os lipídeos servem como fonte de energia e carbono, enquanto as proteínas têm como principal função o suprimento de aminoácidos, nitrogênio e enxofre para a formação de novas proteínas e ácidos nucleicos (Pernollet & Mossé, 1983).

Egli (1998) afirma que para diversas plantas há um suprimento mínimo de assimilados necessários para a germinação das sementes e que um suprimento crescente de assimilados totais permite que um maior número de sementes germinadas continue a se desenvolver. Portanto, conhecimentos sobre a composição química das sementes são de interesse prático em tecnologia de sementes, pois tanto o desempenho na germinação como o potencial de armazenamento são influenciados pelo conteúdo dos compostos presentes nas mesmas (Nakagawa et al., 1990).

2.3 Avaliação da qualidade das sementes pelo teste de raios-X

A análise de sementes tem como principal finalidade determinar a qualidade de um lote de sementes através do exame pormenorizado e crítico de uma amostra. Em trabalhos de pesquisa, a análise de sementes é utilizada na identificação de problemas de qualidade e suas causas.

A Associação Internacional de Análise de Sementes –ISTA (1999) recomenda o uso da radiografia por meio de raios-X de baixa energia para determinar a qualidade física das sementes por considerá-lo um método rápido e não destrutivo, prescrevendo-o com a finalidade básica de detectar sementes cheias, vazias, com danos mecânicos ou ataque de insetos. A informação sobre a ocorrência de sementes defeituosas e vazias é altamente desejável, já que essas sementes influenciam os resultados de germinação de um lote (Craviotto et al., 2002).

O teste de raios-X foi desenvolvido por Simak & Gustafsson na década de 50 com a finalidade de avaliar a qualidade das sementes de *Pinus sylvestris* L. (Simak, 1991). Atualmente, este método é utilizado com diversas finalidades no âmbito da tecnologia de sementes, inclusive na detecção de anormalidades em embriões e na determinação do estágio de desenvolvimento das sementes (Battisti et al., 2000; Machado & Cícero, 2003).

Carvalho et al. (1999) e Escasinas & Hill (1988) aplicaram o teste de raios-X para a avaliação de danos mecânicos em trabalhos com *Zea mays* L. Essa metodologia também pode ser útil na avaliação do dimensionamento interno de sementes, como descrito por Liu et al. (1993) em estudos com *Lycopersicon esculentum* L. Bino et al. (1993) e Oliveira et al. (2003) utilizaram o teste de raios-X para complementar o teste de germinação através da análise de imagens em *Arabidopsis* e *Peltophorum dubium*, respectivamente.

Quando a semente é exposta aos raios-X, a radiação é absorvida em vários graus, dependendo da espessura, densidade e composição da semente e do comprimento de onda da radiação, criando, assim, uma imagem permanente no filme radiográfico (Bino et al., 1993). As áreas mais escuras da radiografia correspondem àquelas partes que são facilmente penetradas pelos raios X; enquanto áreas mais claras da radiografia representam partes mais densas da semente (Simak, 1991).

Em busca da melhor imagem, diferentes interações entre voltagem e tempo de exposição têm sido utilizadas, variando em função da espécie, do aparelho de raios-X e da sensibilidade do filme radiográfico utilizado (ISTA, 1999; Simak, 1980). Para sementes de tomate, Liu et al. (1997) observaram que a melhor visualização do conteúdo interno das sementes foi a intensidade de 10 KVp por 3-5 minutos; já em sementes de *Pinus sylvestris* a melhor visualização foi obtida quando expostas à mesma intensidade por 25 segundos (Simak et al., 1989); na avaliação de defeitos internos em sementes de *Tabebuia serratifolia* e *T. impetiginosa*, foi determinada a intensidade de 55 kVp por 25 segundos (Oliveira, 2004).

2.4 Armazenamento de sementes

A longevidade natural das sementes varia grandemente entre as espécies, sendo um fator de bastante importância a ser considerado na tecnologia de sementes. A longevidade é definida como o período em que a semente se mantém viva, isto é, capaz de germinar quando colocada em condições favoráveis, quando não houver dormência (Toledo & Marcos-Filho, 1977).

Uma grande parte das espécies apresenta sementes com baixa longevidade, o que restringe seu aproveitamento em plantações, já que perdem rapidamente sua viabilidade, requerendo utilização imediata na semeadura.

Segundo Marcos Filho (2005), a longevidade das sementes é variável de acordo com o genótipo, mas o período de conservação do potencial fisiológico depende, em grande parte, do grau de umidade, da temperatura e das condições do ambiente de armazenamento.

As sementes, por serem constituídas de material altamente higroscópico, apresentam o seu conteúdo de água sempre em equilíbrio com a umidade relativa do ar, e sob umidade elevada a respiração das sementes é aumentada e, por conseguinte, a velocidade de deterioração.

Altas temperaturas aceleram os processos de degeneração dos sistemas biológicos, em que ocorre respiração intensa, consumindo seu material de reserva, de maneira que, sob essas condições, as sementes perdem o vigor e a capacidade de germinar (Delouche & Potts, 1974).

Para Novembre & Marcos Filho (1991), o armazenamento das sementes constitui numa etapa praticamente obrigatória de um programa de melhoramento devido à deterioração natural entre a colheita e a semeadura. A principal preocupação durante este período é a preservação da qualidade das sementes, procurando-se reduzir ao máximo a velocidade e a intensidade do processo de deterioração.

A busca pelo conhecimento sobre o comportamento de lotes de sementes durante o armazenamento tem sido meta constante entre os pesquisadores, tecnologistas e produtores de sementes, visando subsidiar o manejo racional dessas sementes em bancos de germoplasma na comercialização e para o estabelecimento de uma nova cultura.

De acordo com Ferreira & Borghetti (2004), o armazenamento das sementes deve ser iniciado na maturidade fisiológica e o maior desafio é conseguir que as sementes, após certo período, ainda apresentem elevada qualidade fisiológica. Dessa forma, o objetivo é manter a qualidade das sementes durante o período em que ficam armazenadas, visto seu melhoramento não ser possível, mesmo sob condições ideais.

As sementes, de modo geral, são separadas em dois grupos, de acordo com a classificação proposta por Roberts (1973): as sementes ortodoxas, que podem ser secas a baixos níveis de umidade (em torno de 5%) e armazenadas a temperaturas baixas, o que possibilita a manutenção da viabilidade por um longo período; as sementes recalcitrantes, que não toleram estas condições e, portanto, apresentam dificuldades de armazenamento.

Um comportamento de armazenamento intermediário entre ortodoxo e recalcitrante foi verificado por Ellis et al. (1990). Neste caso, as sementes toleram a desidratação somente até o teor de água entre 7% e 10% e não toleram temperaturas baixas por tempo prolongado (Hong & Ellis, 1996).

As sementes ortodoxas são facilmente armazenadas em regiões de clima frio, necessitam de alguns cuidados no armazenamento em regiões de clima temperado e exigem intenso controle das condições de armazenamento em regiões tropicais (Ferreira & Borghetti, 2004). Uma regra prática, conhecida por “Regra de Harrington”, afirma que o período para o armazenamento seguro duplica para cada redução de 1,0% no grau de umidade da semente (base úmida) ou decréscimo de 5,5°C na temperatura ambiente; ambas as reduções, quando efetuadas simultaneamente, teriam efeitos aditivos (Harrington, 1963). Para Hilhorst (1997), deveria ser considerada uma queda de 2,0% no grau de umidade para que o período de conservação duplicasse.

Além dos cuidados com o teor de água e a temperatura ambiental, Crochemore (1993) afirma que o tipo de embalagem utilizada no acondicionamento das sementes durante o armazenamento também assume relevante importância na preservação da sua viabilidade e vigor. Sementes conservadas em embalagens que permitem trocas de vapor d’água com o ar atmosférico podem absorver água sob alta umidade relativa do ar, deteriorando-se com certa facilidade.

A preservação da qualidade fisiológica de sementes sob determinadas condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar é influenciada pelo tipo de embalagem utilizada (Ferreira & Borghetti, 2004). A escolha da embalagem depende da espécie, do grau de umidade das sementes, das condições e do período de armazenamento (Marcos Filho, 2005). Para Carvalho & Nakagawa (2000), na tomada de decisão para a escolha da embalagem devem ser consideradas também as condições climáticas sob as quais as sementes serão

armazenadas até o próximo plantio, a modalidade de comercialização, a disponibilidade e as características mecânicas das embalagens.

Quanto à permeabilidade ao vapor d'água, as embalagens podem ser classificadas em permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis (Ferreira & Borghetti, 2004).

As embalagens permeáveis permitem a troca de vapor entre as sementes e o ambiente externo circundante. Por isso, o teor de água das sementes sofre flutuações com as variações de umidade relativa do ar. Os principais materiais empregados comercialmente na confecção de embalagens permeáveis de sementes são papel, algodão, juta e polipropileno trançado (Ferreira & Borghetti, 2004).

As embalagens semipermeáveis mostram-se resistentes à troca de vapor d'água entre as sementes e o ambiente externo circundante. Os materiais utilizados nesse tipo de embalagem são polietileno de baixa espessura e combinações de lâminas de papel e outro material, como é o caso dos papéis alumizados, plastificados e com película de asfalto (Ferreira & Borghetti, 2004).

As embalagens impermeáveis impedem o intercâmbio de vapor d'água entre as sementes e o meio externo. Geralmente são empregados sacos de polietileno espesso, de média e alta densidade, envelopes de alumínio, embalagens metálicas de alumínio e recipientes de vidro com vedação na tampa.

De um modo geral, poucos trabalhos têm envolvido comparações entre tipos de embalagens e armazenamento de sementes.

2.5 Aspectos fisiológicos da germinação

Bacchi (1996) afirmou que no Brasil os estudos botânicos, fisiológicos e agrônômicos da biologia reprodutiva de plantas medicinais são incipientes, mas nos últimos anos tem-se observado um crescente interesse da comunidade científica nesses aspectos. Apesar de *O. gratissimum* ser um subarbusto

aromático bem utilizado na medicina popular e de ampla distribuição geográfica, pesquisas sobre a germinação de suas sementes são escassas.

A germinação é considerada um dos mais importantes estádios do biociclo vegetal, caracterizada por processos físicos e metabólicos de naturezas complexas que levam à retomada do crescimento do eixo embrionário, culminando com a protusão da radícula através do tegumento da semente (Bewley & Black, 1994).

O processo germinativo tem início com a embebição de água pelos tecidos da semente, seguida da retomada das atividades metabólicas, sobretudo da síntese de novas enzimas e do aumento das atividades das hidrolases preexistentes; estes eventos visam à mobilização dos compostos de reserva para a retomada de crescimento do eixo embrionário (Sales, 2002).

Ao considerar o processo germinativo de uma semente, alguns fatores extrínsecos e intrínsecos devem ser considerados, entre eles a temperatura, a luz, a água, a composição de gases na atmosfera e a dormência (Carvalho & Nakagawa, 1988; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1979; Popinigis, 1985). Dentre esses principais fatores que afetam a germinação das sementes merecem destaque a temperatura e a luz (Labouriau, 1983).

A luz atua no processo germinativo através de moléculas denominadas fitocromos, capazes de absorver luz mais fortemente nas regiões do vermelho e do vermelho distante. Desta forma, a qualidade da luz também interfere na regulação da germinação de algumas sementes, possivelmente através de seus efeitos na biossíntese de giberelina (Taiz & Zeiger, 2004). Tem sido ainda demonstrado um aumento da atividade da galactomanose durante a germinação, a qual pode ser inibida pela luz vermelha distante e restabelecida pela luz vermelha, indicando a participação do fitocromo (Nomaguchi et al., 1995).

Sementes de um grande número de espécies apresentam comportamento fotoblástico, de modo que a germinação pode ser promovida ou inibida por

exposição à luz branca. As sementes que germinam na presença da luz são chamadas fotoblásticas positivas, enquanto aquelas na qual a germinação é inibida pela luz são denominadas fotoblásticas negativas (Bewley & Black 1994).

A luz é necessária para a indução da germinação de várias espécies, através do enfraquecimento do endosperma pela hidrólise dos polissacarídeos (Sánchez & Miguel, 1997). A dependência de presença da luz para o desempenho germinativo de algumas espécies também pode estar relacionada com a temperatura de incubação das sementes, o ano de colheita ou a qualidade fisiológica do lote. Oliveira (2004), trabalhando com lotes de sementes de anos subseqüentes de *Tabebuia impetiginosa* em diferentes temperaturas, sob regimes de luz variados, verificou que em relação ao regime de luz e à temperatura a germinabilidade variou conforme o ano de colheita.

Bewley & Black (1994) afirmam que a temperatura também pode regular a germinação, especialmente por alterar a velocidade de absorção de água e modificar a velocidade das reações químicas que irão acionar o desdobramento e transporte das reservas e a ressíntese de substâncias para a plântula.

Existem espécies em que a germinação de suas sementes é favorecida quando submetidas à temperatura constante e espécies que germinam indiferentemente em temperaturas constantes ou alternadas (Lima et al., 1997).

Em estudos com *Salvia splendens* Sellow (Lamiaceae), Menezes et al. (2004) observaram que temperaturas de 15, 20 e 25°C não afetaram a porcentagem final de germinação; no entanto, a velocidade do processo germinativo das sementes foi retardada a 15 °C.

Ferreira et al. (2001) verificaram que para várias espécies de Asteraceae o percentual de germinação foi maior a 20°C do que 25 ou 30°C. Em duas

espécies de *Albizia*, temperaturas de 20°C e 25°C proporcionaram as maiores porcentagens e velocidades de germinação (Tigabu & Oden, 2001).

Por outro lado, determinadas espécies apresentam melhor comportamento germinativo quando submetidas à alternância de temperatura (Copeland & McDonald, 1995). A compreensão desse fenômeno está na adaptação evolutiva de algumas espécies às flutuações naturais encontradas no ambiente de clareira.

Um outro fator de considerável importância na germinação de sementes é a participação de compostos químicos de naturezas diversas, com destaque para alguns fitormônios, os quais podem ter ação estimuladora ou inibitória. As giberelinas estão envolvidas tanto na superação da dormência como no controle de hidrólise das reservas, pela indução da *síntese de novo* da α -amilase, enzima responsável pela hidrólise do amido e da qual depende o eixo embrionário em crescimento, sendo, portanto, considerado um ativador enzimático endógeno, promotor da germinação (Levitt, 1974).

Vários trabalhos têm mostrado o papel das giberelinas na quebra de dormência (Grappin et al., 2000; Kamiya & Garcia-Martinez, 1999; Toyomasu et al., 1998), na mobilização de reservas durante o processo germinativo e o posterior estabelecimento da plântula (Shen et al., 2001; Skadsen, 1998; Walker-Simmons, 2000).

Outros estudos têm demonstrado ainda que a temperatura interage com hormônios vegetais, de modo a alterar seus níveis endógenos e, por conseguinte, influenciar a regulação do processo germinativo (Brown & Van Staden, 1973; Paul et al., 1973). Dessa forma, alguns reguladores de crescimento, como as giberelinas, têm a propriedade de modificar as exigências de temperatura e induzir a germinação de algumas espécies (Reynolds & Thompson, 1973).

2.6 Influência da luz na fisiologia das plantas

A luz é um fator ambiental de fundamental importância para as plantas, pela ação direta ou indireta na regulação de seu crescimento e desenvolvimento. As respostas morfofisiológicas das plantas não dependem apenas da presença, atenuação ou ausência da luz, mas também da variação em qualidade luminosa.

Toda a vida na Terra é mantida por um fluxo de energia proveniente da luz do sol, que por meio do processo fotossintético é fixada em energia química e utilizada para realizar processos vitais em todos os componentes da cadeia alimentar (Larcher, 2004).

De acordo com Taiz & Zeiger (2004), a luz é um recurso crítico para as plantas, que pode limitar seu crescimento e reprodução. A radiação não é para as plantas somente uma fonte de energia (efeito fotoenergético), mas também um estímulo que governa o condicionamento do desenvolvimento (efeito fotocibernético) e, às vezes, funciona como um fator estressante (efeito fotodestrutivo). Todos esses efeitos ocorrem por meio da absorção dos quanta de luz, a qual é mediada por fotorreceptores específicos (Larcher, 2004).

A luz, fração visível da energia solar, que contém a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) compreendida na faixa espectral de 400-700 nm, tem importância fundamental em vários processos fisiológicos que ocorrem nas plantas e, segundo Larcher (2004), 45% da radiação proveniente do sol se encontram dentro dessa faixa espectral.

Para otimizar a captação da energia luminosa para a fotossíntese, as plantas desenvolveram uma série de fotorreceptores que regulam seu crescimento e desenvolvimento em relação a presença, quantidade, qualidade, direção e duração da radiação luminosa incidente (Morini & Muleo, 2003).

A adaptação das plantas à luminosidade ambiental depende do ajuste do seu aparelho fotossintético, de modo que a energia radiante disponível seja utilizada de maneira mais eficiente possível. As respostas destas adaptações são

refletidas no crescimento global da planta (Engel & Poggiani, 1991). Para inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos para o crescimento vegetal, a análise de crescimento ainda é o meio mais simples e preciso, sendo útil no estudo de variações entre plantas sob diferentes condições de luminosidade.

Segundo Benincasa (1988), através da análise de crescimento é possível conhecer a cinética de produção de biomassa das plantas, sua distribuição e eficiência ao longo da ontogenia. Diversas variáveis de crescimento têm sido utilizadas para avaliar o comportamento das espécies vegetais em relação à luz, sendo a altura, a produção de matéria seca, a área foliar e as relações entre a biomassa da parte aérea e radicular as variáveis mais freqüentemente utilizadas.

Diversos estudos de crescimento de plantas têm sido realizados na busca pelo conhecimento da ecofisiologia de diferentes espécies submetidas a diferentes condições de luminosidade, seja pelo controle da radiação incidente, por meio do emprego de lâmpadas de diferentes comprimentos de ondas ou câmaras de crescimento (Cooley et al., 2000; Cooper, 1967; Jeangros & Nosberger, 1992; Musil et al., 2002), ou pelo uso de telados ou plásticos redutores da radiação (Dale & Causton, 1992; Farias et al., 1997; Muroya et al., 1997; Pushpakumari & Sasidhar, 1992; Sharma, 1994; Vlahos et al., 1991).

Em estudos sobre o efeito de diferentes níveis de luz sobre aspectos fisiológicos do crescimento inicial de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana* Mez., Almeida et al. (2004) verificaram que os maiores valores médios de biomassa total ocorreram em plantas cultivadas sob 30% de sombreamento; o maior acúmulo de matéria seca foliar foi observado nas plantas cultivadas sob 30% e 50% de sombreamento.

Um índice fisiológico marcadamente influenciado pelas condições luminosas a que a planta está submetida é a área foliar específica (AFE) (Benincasa, 1988). O incremento da superfície foliar conduz a melhores intercepções de luz e, conseqüentemente, a uma maior taxa de crescimento.

Desse modo, há um favorecimento do potencial fotossintético total, com a produção de maior quantidade de fotoassimilados, facilitando o particionamento de matéria seca para os outros órgãos da planta (Globig et al., 1997).

As respostas apresentadas pelas plantas à variação na disponibilidade de luz costumam envolver, ainda, alterações nas características das folhas relacionadas ao teor de clorofila. Diversos fatores externos e internos afetam a biossíntese de clorofilas; por isso, os seus conteúdos foliares podem variar de maneira significativa. Entre estes fatores, a luz é essencial a sua síntese (Whatley & Whatley, 1982).

A clorofila está sendo constantemente sintetizada e destruída (fotooxidação) em presença de luz, porém sob intensidades luminosas mais elevadas ocorre maior degradação, e o equilíbrio é estabelecido a uma concentração mais baixa. Portanto, folhas de sombra possuem concentração maior de clorofila (mg/g) do que as folhas de sol (Kramer & Kozlowski, 1979). Porém, se o conteúdo for expresso por unidade de área foliar a concentração é menor nas folhas de sombra.

As alterações na disponibilidade de radiação solar em um ambiente podem alterar não somente a quantidade de clorofila total, como também a fração de clorofila *a* em relação à clorofila *b*. Uma maior proporção relativa de clorofila *b* em plantas sombreadas é uma característica importante, pois possibilita a captação de energia de outros comprimentos de onda e transferência para uma molécula específica de clorofila *a*, que efetivamente toma parte das reações fotoquímicas da fotossíntese (Whatley & Whatley, 1982). Este aumento relativo pode estar ligado a um aumento da proporção do complexo coletor clorofila *a/b* proteína, associado ao fotossistema I nos “grana”, em relação ao complexo P700 do fotossistema II nos tilacóides e que é facilmente fotooxidado (Thornber, 1975). Um outro fator pode ser a maior proporção de “grana” em cloroplastos de folhas de sombra (Mitchell, 1979).

De acordo com Larcher (2004), a absorção na faixa do visível para todas as plantas depende dos pigmentos presentes no cloroplasto. Desta forma, a curva do espectro de absorção da folha para a banda do visível tem seu valor máximo coincidente com o valor da clorofila e dos carotenóides. Isto evidencia a importância da qualidade da luz na eficiência do processo fotossintético.

Segundo alguns autores, como Ferraz & Silva (2001) e Fontes & Silva (2001), geralmente a clorofila e os carotenóides tendem a aumentar com a redução da intensidade luminosa. Entretanto, Engel & Poggiani (1991) encontraram diferenças para algumas espécies.

Os carotenóides são tetraterpenos de cores vermelha, amarela e laranja que agem como pigmentos acessórios na fotossíntese e protegem os tecidos fotossintéticos contra a fotoxidação. Além de sua função como pigmento acessório, pela capacidade em absorver radiação a comprimentos de onda diferentes dos captados pela clorofila, os carotenóides desempenham um papel essencial na fotoproteção (Taiz & Zeiger, 2004). Estresse devido à alta luminosidade é freqüente sob condições tropicais e as variações nas concentrações de clorofila e carotenóides nas plantas são indicativas da ação deste fator sobre as mesmas (Strauss-DeBenedetti & Bazzaz, 1991).

2.7 Influência da luz na anatomia foliar

A radiação solar é a principal fonte de energia para todos os processos biológicos nas plantas; tanto a qualidade quanto a intensidade espectral da radiação desempenham papel fundamental no desenvolvimento morfológico das plantas, sobretudo as que visam a melhor eficiência do aparato fotossintético na captação e utilização da energia radiante.

A anatomia foliar pode ser grandemente influenciada pela radiação recebida durante o crescimento, uma vez que a folha é um órgão muito plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições externas do ambiente. Esta

plasticidade adaptativa é típica das espécies que apresentam amplo potencial de aclimatação (Hanba et al., 2002; Schluter et al., 2003).

De acordo com Schluter et al. (2003) e Sims et al. (1998), folhas de árvores crescendo num ambiente de sombra apresentam modificações nas características fotossintéticas, bioquímicas, organização de células do mesofilo e frequência estomática quando comparadas com folhas crescendo num ambiente de maior irradiância.

Características contrastantes também podem ser encontradas em folhas da mesma planta expostas a regimes luminosos diferentes (Taiz & Zeiger, 2004). Gonçalves (2001) observou que plantas de *Ocimum selloi* Benth. cultivadas em radiação solar plena apresentaram maiores espessuras nos parênquimas foliares que as plantas cultivadas a 50% da radiação solar incidente; no entanto, o número total de estômatos e tricomas por folha foi maior nas plantas crescidas no sombreamento parcial. Resultados semelhantes foram obtidos por Atroch (1999), que em seus estudos com *Bauhinia forticata* Link. verificou um maior espessamento do tecido paliádico em plantas submetidas às maiores intensidades de luz.

Em estudos de Voltan et al. (1992), o aumento do sombreamento provocou redução no número de estômatos e na espessura do mesofilo e incremento dos espaços intercelulares; segundo os autores, essas características estão relacionadas ao processo fotossintético. Lima Junior et al. (2006) verificaram diferenças no número de estômatos nas plantas de *Cupania vernalis* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento e observaram, ainda, que o aumento no número de estômatos refletiu diretamente na condutância estomática.

Halva et al. (1992) utilizaram quatro níveis de luminosidade no cultivo de *Anethum graveolens*: 100% (pleno sol), 70%, 50%, 30%. Verificaram que níveis decrescentes de luminosidade resultaram em decréscimo no número de

folhas, na área foliar específica, na altura da planta e no acúmulo de óleo essencial. Os resultados deste experimento sugerem uma relação direta entre a biomassa foliar e a produção de óleo essencial com a atividade fotossintética da planta, mas não necessariamente com a constituição do óleo.

Buisson & Lee (1993) estudaram o efeito da qualidade espectral da luz no desenvolvimento de folhas de *Carica papaya* L. Neste estudo os autores variaram as condições de sombreamento, simulando a diminuição da intensidade luminosa com ou sem a diminuição da relação do comprimento de onda vermelho: vermelho distante. Quando as plantas desenvolveram-se sob sombreamento acompanhado da diminuição da relação vermelho: vermelho distante houve, em relação aos demais tratamentos, diminuição significativa da espessura foliar, do peso específico da folha, do comprimento das células do parênquima paliçádico, no número de células desse parênquima e na espessura do mesofilo e aumento no teor de clorofila e na largura das células do parênquima paliçádico na parte adaxial. Segundo os autores, o formato cônico das células do parênquima paliçádico favoreceria a disposição mais adequada dos cloroplastos e a absorção mais eficiente da luz em condições de sombreamento intenso.

Os efeitos da qualidade da luz sobre o crescimento e desenvolvimento se manifestam precocemente sobre as plantas, antes de qualquer redução na radiação fotossinteticamente ativa (Ballaré et al., 1987). Isso porque os sinais de luz percebidos pelo fitocromo desempenham função na detecção do nível de competição que as plantas irão encontrar, principalmente quando a competição tende a ser intensa (Schmitt & Wulff, 1993).

As modificações decorrentes da qualidade da luz são devidas à absorção da luz vermelha e à não absorção da luz vermelha extrema. Isso proporciona condições variáveis de disponibilidade de radiação nos diferentes extratos de uma comunidade e, dessa forma, é modificada a razão V:Ve. Essa razão,

percebida pelo caule das plantas, indica a proximidade entre as plantas e induz alterações na morfologia e na alocação de assimilados (Ballaré et al., 1992). A modulação fotomorfogênica pela razão V:Ve foi observada em plantas de cevada por Davis & Simmons (1994), demonstrando que as plantas têm a capacidade de detectar e responder morfológicamente à alteração da qualidade da luz.

2.8 Influência da luz na síntese e acúmulo de óleo essencial

Os vegetais apresentam numa grande flexibilidade quimiossintética para produzir micromoléculas como as que compõem as misturas químicas complexas que são os óleos essenciais. Estes, por sua vez, podem conter 100 ou mais constituintes orgânicos individuais, pertencentes às mais diversas classes de compostos; entretanto, os terpenos e os fenilpropanóides, derivados da rota metabólica do ácido mevalônico e do ácido chiquímico, respectivamente são as classes mais comumente encontradas (Waterman, 1993). Independentemente de sua composição química, os óleos essenciais são sintetizados e armazenados pelas plantas em estruturas anatômicas especializadas como idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares (Fahn, 1975).

Segundo Jorge et al. (1992), no gênero *Ocimum* as características químicas são mais distintivas que as características anatômicas e, portanto, de maior importância diagnóstica dos quimiotipos. Nesse gênero, os tricomas glandulares peltados são os locais de biossíntese e armazenamento de fenilpropanóides voláteis encontrados na superfície de suas folhas (Gang et al., 2001). A radiação solar pode atuar como estimulante na formação desses tricomas (Yamaura et al., 1989) e, conseqüentemente, alterar os níveis e a composição do óleo essencial (Letchamo et al., 1994; Letchamo & Gosselin, 1996).

A biossíntese de metabólitos secundários é determinada geneticamente, porém a quantidade e a concentração desses compostos variam acentuadamente em função das condições ambientais. Apresentam-se como importantes fatores ambientais a luz (intensidade, qualidade e fotoperíodo), a latitude, a temperatura (mínima, máxima e média), o solo (propriedades químicas e físicas), os ventos, os macro e micro nutrientes e a disponibilidade hídrica. Estes fatores proporcionam respostas diferenciadas nas diversas espécies estudadas, portanto é necessário considerar as condições ambientais ótimas para a máxima produção de cada espécie.

A luz atua de forma significativa e complexa e influencia no acúmulo e na variedade dos componentes dos óleos essenciais, uma vez que afeta direta ou indiretamente a produção de fitomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas destes metabólitos secundários.

Yamaura et al. (1989), em estudos com *Thymus vulgaris* L., observaram que a radiação estimulou a formação de tricomas, que é um pré-requisito para o acúmulo de óleo essencial nessa espécie. Observou-se, ainda, aumento na produção de óleo essencial em *Mentha piperita* em condições de alta intensidade luminosa (Clark & Menary, 1980). Em plantas de *Salvia officinalis* crescidas em condição de 45% da luz solar, Li & Craker (1996) verificaram alta concentração e diferenças na composição do óleo essencial em comparação com óleo essencial de sálvia crescida em outras intensidades luminosas. Ventrella & Ming (2000) observaram que os teores do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. foram maiores quando esta espécie foi cultivada sob maior nível de radiação.

Diversos estudos têm relatado a influência da luz sob a atividade da enzima fenilalanina amonialiase (PAL), a qual atua no controle do metabolismo dos fenilpropanóides (Castañeda & Quintero, 1991; Loschke & Hadwiger, 1981). Segundo Taiz & Zeiger (2004), a atividade da PAL é alterada pela luz pelo seu efeito no fitocromo. Esta enzima atua de forma a eliminar uma

molécula de amônia da fenilalanina e formar o ácido cinâmico. Esta é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos. Os fenilpropanóides são compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três átomos de carbono ligada ao anel aromático que pode ser reduzida, conduzindo à formação de compostos importantes presentes em óleos essenciais, como, por exemplo, o eugenol (Figura 2) (Falkenberg, 2003).

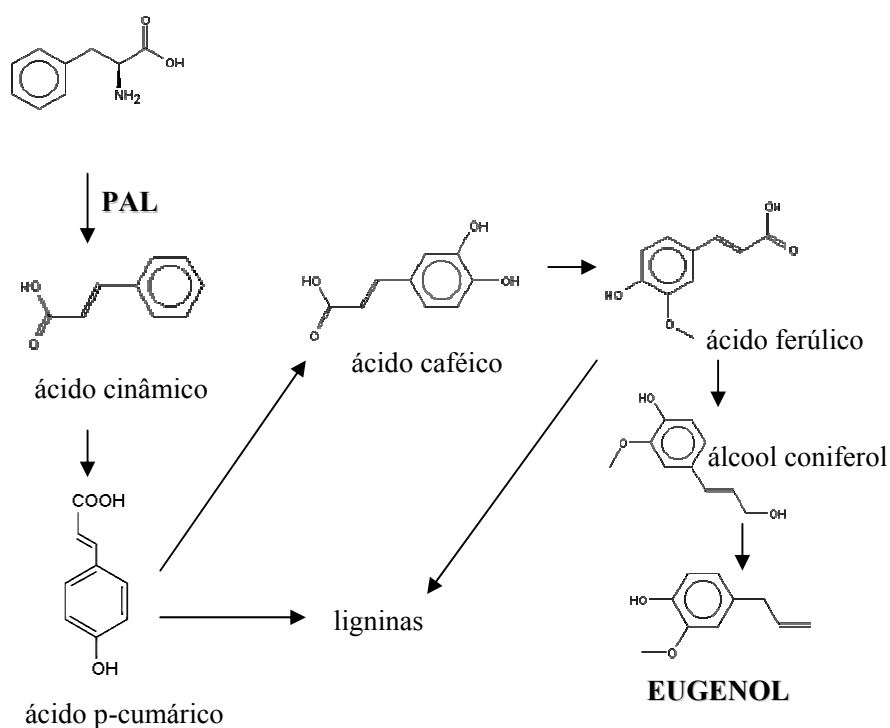


FIGURA 2. Biossíntese de alguns fenilpropanóides.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. P.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; ZANELA, S. M.; VIEIRA, C. V. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 83-88, jan./fev. 2004.

ATROCH, E. A. C. **Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forticata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância.** 1999. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BACCHI, E. M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciência**, um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996. p. 169-185.

BALLARÉ, C. L.; SÁNCHEZ, R. A.; SCOPEL, A. L. Early detection of neighbour plants by phytochrome perception of spectral changes in reflected sunlight. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 10, n. 7, p. 551-557, Sept. 1987.

BALLARÉ, C. L.; SCOPEL, A. L.; SÁNCHEZ, R. A. Photomorphogenic processes in the agricultural environment. **Photochemistry and Photobiology**, Augusta, v. 56, n. 5, p. 777-788, Nov. 1992.

BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.

BEGNAMI, C. N. **Alterações estruturais, ultraestruturais e bioquímicas durante a perda da viabilidade de sementes de *Coffea arabica* cv. Catuai vermelho.** 1998. 93 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas** (noções básicas). Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1988. 41 p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of Development and Germination.** 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BINO, R. J.; AARTSE, J. W.; VAN DER BURG, W. J. Nondestructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 167-170, June 1993.

BROWN, N. A. C.; VAN STADEN, J. The effect of stratification on the endogenous cytokinin levels of seed of *Protea compacta* and *Leucadendron daphnoids*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 28, n. 3, p. 388-392, Mar. 1973.

BUISSON, D.; LEE, D. W. The developmental responses of papaya leaves to simulated canopy shade. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 80, n. 8, p. 947-952, Aug. 1993.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.

CARVALHO, M. L. M.; AELST, A. C. van; ECK, J. W. van; HOEKSTRA, F. A. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 227-236, Sept. 1999.

CASTAÑEDA, J. L.; QUINTERO, A. Regulation of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (E. C. 4. 3. 1. 5) Activity by light in *Gomphrena globosa* tissue culture. **Phyton International Journal of Experimental Botany**, Vicente Lopez, v. 52, n. 2, p. 151-154, 1991.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. A new geraniol chemotype of *Ocimum gratissimum* L. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Streams, v. 4, p. 231-234, 1992.

CLARK, R. J.; MENARY, R. C. Environmental effects on Peppermint (*Mentha piperia* L.) I. Effects of daylength, photon flux density, night temperature and day temperature on the yield and composition of peppermint oil. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 7, n. 6, p. 685-692, 1980.

COLSON, M.; TETENY, P.; PERRIN, A. Characterization of foliar appendages and essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Herba Hungarica**, Budapest, v. 30, n. 1, p. 5-14, 1991.

COOLEY, N. M.; HOLMES, M. G.; ATTRIDGE, T. H. Outdoor ultraviolet polychromatic action spectra for growth responses of *Bellis perennis* and *Cynosurus cristatus*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology**, Lausanne, v. 59, n. 1-3, p. 64-71, Dec. 2000.

COOPER, C. S. Relative growth of alfafa and birdsfoot trefoil seedlings under low light intensity. **Crop Science**., Madison, v. 7, n. 3, p. 176-178, May/June 1967.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principle of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 1995. 409 p.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 62 p.

CORTEZ, D. A. G.; CORTEZ, L. E. R.; PESSINI, G. L.; DORO, D. L.; NAKAMURA, C. V. Analysis of essential oil of alfavaca *Ocimum gratissimum* L (Labiatae). **Arquivos de Ciência Saúde, Unipar**, Umuarama, v. 2, n. 2, p. 125-127, maio/ago. 1998.

CRAVEIRO, A. A. **Óleos de plantas do Nordeste**. Fortaleza: Edições UFC, 1981. 210 p.

CRAVIOTTO, R. M.; YOLDJIAN, A. M.; SALINAS, A. R.; ARANGO, M. R.; BISARO, V.; MATURO, H. Description of pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1183-1188, ago. 2002.

CROCHEMORE, M. L. Conservação de sementes de tremço azul (*Lupinus angustifolius* L.) em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 227-231, 1993.

DALE, M. P.; CAUSTON, D. R. The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, v. montana and *V. officinalis*. II. The interaction of irradiance and water regime. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 493-504, 1992.

DAVIS, M. H.; SIMMONS, S. R. Far-red light reflected from neighbouring vegetation promotes shoot elongation and accelerates flowering in spring barley plant. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 17, n. 7, p. 829-836, July 1994.

DELOUCHE, J. C.; POTTS, H. C. **Programa de sementes: Planejamento e implantação**. 2. ed. Brasília: Agiplan, 1974. 118 p.

EGLI, D. B. **Seed biology and the yield of grain crops**. New York: CAB International. 1998. 178 p.

EKUNDAYO, O. Volatile constituents of the leaves of *Ocimum viride*. **Planta Médica**, n. 3, p. 200-202, June 1986.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-117, Sept. 1990.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, p. 39-45, 1991.

ESCASINAS, A. B.; HILL, M. J. Stress cracking in maize (*Zea mays* L.) seeds. **Annals of Tropical Research**, Bay Bay-Leyte, v. 10, n. 3/4, p. 182-192, 1988.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Toronto: Pergamon Press, 1975. 611 p.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2003. p. 229-245.

FARIAS, V. C. C. Análise de crescimento de mudas de cedrorana (*Cedrelinga catenaeformis* Ducke) cultivadas em condições de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 193-200, 1997.

FERRAZ, K. K. F.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de espécies florestais usadas na recuperação de áreas degradadas - II. *Calliandra calothyrsus* Meisn. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus-BA. **Anais...** Ilhéus-BA, 2001. 1CD-ROM. 6-087.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FERREIRA, J. N.; RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da. Crescimento inicial de *Piptadenia gonoacantha* (Leguminosae, Mimosoidae) sob inundação em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 561-566, dez. 2001. Suplemento.

FONTES, R. V.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de *Piptadenia adiantoides* (Spreng.) Macbr., espécie florestal usada na recuperação de áreas degradadas. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus-BA. **Anais... ilhéus**, 2001. 1CD-ROM. 6-089.

FUN, C. E.; SVENDSEN, A. B.; BAERHEIM-SVENDSEN, A. Composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* var. *canum* and *O. gratissimum* L. grown on Ariba. **Flavor Fragrance**, Chichester, v. 5, n. 3, p. 173-177, 1990.

GANG, D. R.; WANG, J.; DUDAREVA, N.; NAM, K. H.; SIMON, J. E.; LEWINSON, E.; PICHERSKY, E. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 2, p. 539-555, Feb. 2001.

GLOBIG, S.; ROSEN, I.; JANES, H. W. Continuous light effects on photosynthesis and carbon metabolism in tomato. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 418, p. 141-151, 1997.

GODOI, S.; TAKAKI, M. Germinação de sementes de *Cecropia holoceuca* Miq (Cecropiaceae), efeitos da luz e temperaturas. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 6., 1996, São Carlos-SP. **Anais... São Carlos-SP: SBSP**, 1996. p. 1-50

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae)**. 2001. 95 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GRAPPIN, P.; BOUINOT, D.; SOTTA, B.; MIGINIAC, E.; JULLIEN, M. Control of seed dormancy in *Nicotiana plumbaginifolia*: post-imbibition abscisic acid synthesis imposes dormancy maintenance. **Planta**, Berlin, v. 210, n. 2, p. 279-285, Jan. 2000.

GUENTER, E. **The essential oil**: individual essential oils of the plants family Labiatae. New York: D. Von Nostrand, 1943, v. 3, 777 p.

GULATI, B.; SINHÁ, G. K. Studies on some important species of *Ocimum*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ESSENCIAL OILS, 11., 1989, New Delhi. **Anais...** New Delhi: Aspect Publishing, 1990. p. 49.

HALVA, S.; CRAKER, L. E.; SIMON, I. E.; CHARLES, D. J. Light levels, growth, and essential oil in dill (*Anethum graveolens* L.). **Journal Herbs, Spices, & Medicinal Plants**, Birmingham, v. 1, n. 1-2, p. 47-58, 1992.

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in Acer species differing in light demand. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.

HARRINGTON, J. F. Practical advice and instructions on seed storage. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Wallingford, v. 28, p. 989-994, 1963.

HILHORST, H. W. M. Seed dormancy. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, June 1997.

HOLETZ, F. B.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G.; MORGADO-DÍAZ, J. A.; NAKAMURA, C. V. Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the trypanosomatid *Herpetomonas samuelpeessoai*. **Acta Protozoologica**, Warsaw, v. 42, n. 4, p. 269-276, Nov. 2003.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. A protocol to determine seed storage behaviour. **Technical Bulletin International Plant Genetic Resources Institute**, Rome, 1996. 55 p.

INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING. **Seed Science and Technology**. Zürich: ISTA, 1999. 333 p. Supplement.

JANKOVSKY, M.; TABORSKY, J.; HUBACEK, J.; HLAVA, B. Volatile substances in basil (*Ocimum gratissimum* L.). **Sbornik UVTIZ - Zahradnictvi**, Prague, v. 17, n. 1, p. 59-68, 1990.

JEANGROS, B.; NOSBERGER, J. Comparison of the growth response of *Rumex obtusifolius* L. and *Lolium perenne* L. to photon flux density. **Weed Research**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 311-316, Aug. 1992.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; NGASSOUM, M. B. Aroma compounds of leaf and flower essential oils of the spice plant *Ocimum gratissimum* L. from Cameroon. **Ernahrung**, Viena, v. 22, n. 9, p. 395-397, 1998.

JORGE, L. I. F.; ROQUE, M. F.; FERRO, V. O. L. *Ocimum micranthum* - manjeriço do Brasil: caracterização histológica e química. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 47-50, jan./jun. 1992.

KAMIYA, Y.; GARCIA-MARTINEZ, J. L. Regulation of gibberellin biosynthesis by light. **Current Opinion Plant Biology**, London, v. 2, n. 5, p. 398-403, Oct. 1999.

KRAMER, T.; KOSLOWSKI, T. T. **Physiology of woody plants**. New York: Academic Press, 1979. 811 p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da OEA, 1983. 179 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.

LEMOS, J. A.; PASSOS, X. S.; Fernandes, O. F. L.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H.; HASIMOTO e SOUZA, L. K.; LEMOS, A. A.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, São Paulo, v. 100, n. 1, p. 55-58, 2005.

LETCHAMO, W.; GROSSELIN, A. Transpiration, essential oil gland, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. **Journal Horticultural Science**, Ashford, v. 71, n. 1, p. 123-134, Jan. 1996.

LETCHAMO, W.; MARQUARD, R. et al. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. **Angewandte Botanik**, Berlin, v. 68, n. 3/4, p. 83-88, Oct. 1994.

LEVITT, J. **Introduction to plant physiology**. 2. ed. Saint Louis: The C. V. Mosby Company, 1974. 447 p.

LI, Y.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturiae**, Amsterdam, v. 426, p. 419-426, 1996.

LIMA, C. M. R.; BORGHETTI, F.; SOUSA, M. V. Temperature and germination of the Leguminosae *Enterolobium contortisiliquum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 97-102, ago. 1997.

LIMA JR., E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. Physioanatomy traits of leaves in young plants of *Cupania vernalis* camb. subjected to different shading levels. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 33-41, jan./fev. 2006.

LIU, Y.; HILHORST, H. W. M.; GROOT, S. P.; BINO, R. J. Amounts of nuclear DNA and internal morphology of gibberellin and abscisic acid-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds during maturation, imbibition and germination. **Annals of Botany Company**, London, v. 79, n. 2, p. 161-168, 1997.

LIU, Y.; BURG, W. J. van der; AARTSE, J. W.; ZWOL, R. A. van; JALINK, H.; BINO, R. J. X-ray studies on changes in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 171- 178, June 1993.

LOSCHKE, D. C.; HADWIGER, L. A.; SCHRÖDER, J.; HAHLBROCK, K. Effects of light and of *Fusarium solani* on synthesis and activity of Phenylalanine Ammonia-Lyase in peas. **Plant Physiology**, Rockville, v. 68, n. 3, p. 680-685, Mar. 1981.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.

MACHADO, C. F.; CICERO, S. M. Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* Vell. Engl. - Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 393-397, abr./jun. 2003.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3. ed. Fortaleza: EUFC, 1998. 219 p.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1979.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.

MENEZES, N. L. de; FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T.; NUNES, E. P. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 32-37, 2004.

MITCHELL, R. L. **Crop growth and culture**. Ames: The Iowa State University Press, 1979. 349 p.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 3-35.

MUROYA, K.; VARELA, V. P.; CAMPOS, M. A. A. Análise de crescimento de mudas de jacareúba (*Calophyllum angulare* A. C. Smith - Guttiferae) cultivadas em condições de viveiro. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 27, n. 3, p. 197-212, set. 1997.

MUSIL, C. F.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D. Effects of elevated ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of southern Africa. **Annals of Botany**, London, v. 90, n. 1, p. 127-137, July 2002.

NAKAGAWA, J.; IMAIZUMI, J.; ROSSETO, C. A. V. Efeitos de algumas fontes de fósforo e da calagem na qualidade de sementes de amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 505-512, abr. 1990.

NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A. F. N.; CORTEZ, D. A. G.; FILHO, B. P. D. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, São Paulo, v. 94, n. 5, p. 675-678, 1999.

NAKAMURA, C. V.; ISHIDA, K.; FACCIN, L. C.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ROZENTAL, S.; SOUZA, W. de; UEDA-NAKAMURA, T. In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 155, n. 7, p. 579-586, Sept. 2004.

NDOUNGA, M.; OUAMBA, J. M. Antibacterial and antifungal activities of essential oils of *Ocimum gratissimum* and *O. Basilicum* from Congo. **Fitoterapia**, Milano, v. 68, p. 190-191, 1997.

NOMAGUCHI, M.; NONOGAKI, H.; MOROHASHI, Y. Development of galactonanan-hydrolysing activity in the micropylar endosperm tip of tomato seed prior to germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 94, n. 1, p. 105- 109, May 1995.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; MARCOS FILHO, J. Tratamento fungicida e conservação de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 105-113, 1991.

NTEZURUBANZA, L.; SCHEFFER, J. J. C.; SVENDSEN, A. B.; BAERHEIN-SVENDSEN, A. Composition of the essential oil of *Ocimum gratissimum* grown in Ruanda. **Planta Medica**, n. 5, p. 421-423, Oct. 1987.

OKIEMY-ANDISSA, N.; MIGUEL, M. L.; ETOU, A. W.; OUAMBA, J. M.; GBEASSOR, M.; ABENA, A. A. Analgesic Effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of three congolese medicinal plants: *Hyptis suaveolens*, *Nauclea latifolia* and *Ocimum gratissimum*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Guizhou, v. 9, n. 7, p. 1613-1615, 2004.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafistula [*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert]. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

OLIVEIRA, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A. P. de Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente**. 2004. 160 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

PAUL, K. B.; PATEL, C. S.; BISWAS, P. E. Changes in endogenous growth regulators in loblolly pine seeds during the process of stratifications and germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 28, n. 3, p. 530-534, 1973.

PERNOLLET, J. C.; MOSSÉ, J. Structure and location of legume and cereal seed storage proteins. In: DUSSANT, J.; MOSSÉ, J.; VAUGHAN, J. **Seed proteins**. London: Academic, 1983. p. 155-191.

PINO, J. A.; ROSADO, A.; FUENTES, V. Composition of the essential oil from the leaves and flowers of *Ocimum gratissimum* L. grown in Cuba. **Journal Essential Oil Research**, Carol Streams, v. 8, n. 2, p. 139-131, 1996.

PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v. 6.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

PUSHPAKUMARI, R.; SASIDHAR, V. K. Influence of shade on the growth attributes of minor tuber crops. **Journal Roots Crops**, Kumar, v. 18, n. 1, p. 64-67, 1992.

REYNOLDS, T.; THOMPSON, P. A. Effects of kinetin gibberelins and (+-) abscisic acid on the germination of lettuce (*Lactuca sativa*). **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 28, n. 3, p. 516-522, 1973.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science & Technology**, London, v. 1, n. 1, p. 499-514, Jan. 1973.

RODRIGUES, R. M. **A flora da Amazônia**. Belém: CEJUP, 1989.

SALES, J. de F. **Atividade da celulase sobre o processo germinativo de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2002. 38 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SÁNCHEZ, R. A.; MIGUEL, L. de. Phytochrome promotion of mannan-degrading enzyme activities in the micropylar endosperm of *Datura ferox* seeds requires the presence of the embryo and gibberellin synthesis. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 1, p. 27-33, Mar. 1997.

SANDA, K.; KOBA, K.; AKPAGANA, K.; TCHEPAND, T. Content and chemical composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. at different harvesting dates after planting. **Rivista Italaliana Essenze, Profumi, Picante Offcinali Olii Vegetale Saponi**, Milano, n. 31, p. 3-7, 2001.

SCHLUTER, U. et al. Photosynthetic performance of an Arabidopsis mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 383, p. 867-874, Feb. 2003.

SCHMITT, J.; WULFF, R. D. Light spectral quality phytochrome and plant competition. **Tree Physiology**, Victoria, v. 8, n. 1, p. 47-51, Jan. 1993.

SHARMA, B. M. Ecophysiological studies on *Panicum maximum* Jacq. In south-west Nigeria. **Range Management Agroforestry**, v. 15, n. 1, p. 49-53, 1994.

SHEN, Q.; GOMEZ-CADENAS, A.; ZHANG, P.; WALKER-SIMMONS, M. K.; SHEEN, J.; HO, T. H. Dissection of abscisic acid signal transduction pathways in barley aleurone layers. **Plant Molecular Biology**, London, v. 47, p. 437-448, 2001.

SILVA, F. da; SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N. J. de; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R. de; PASSARINHO, R. V. M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 4, p. 323-328, abr. 2005.

SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A. G.; GOSLING, P.; WANG, B. S. P. (Ed.) **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991.

SIMAK, M. X-Radiography in research and testing of forest tree seeds. **Report SUAS - Department of Silviculture**, Umea-Sweden, n. 3, p. 1-34, 1980.

SIMAK, M.; BERGSTEN, U.; HENRIKSSON, G. Evaluation of ungerminated seeds at the end germination test by radiography. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 17, n. 2, p. 361-369, 1989.

SIMS, D. A.; SEEMANN, J. R.; LUO, Y. Elevated CO₂ concentration has independent effects on expansion rates thickness of soybean leaves across light and nitrogen gradients. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, n. 320, p. 583-591, Mar. 1998.

SKADSEN, R. W. Physiological and molecular genetic mechanisms regulating hydrolytic enzyme gene expression in cereal grains. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, n. 3, p. 486-502, Nov. 1998.

SOUZA, M. P. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Edições UFC, 1991. p. 416.

STRAUS-DEBENEDETTI, S.; BAZZAZ, F. A. Photosynthetic characteristics of tropical trees along successional gradients. In: MULKEY, S. S.; CHAZDON, R. L.; SMITH, A. P. (Eds.). **Tropical forest plant ecophysiology**. New York: Chapman Hall, 1996. p. 162-186.

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

THE MERCK INDEX: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 11. ed. New Jersey: Merck, 1989. p. 612.

THORNER, J. P. Chlorophyll-proteins: light-harvesting and reaction center components of plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 26, p. 127-158, 1975.

TIGABU, M.; ODEN, P. C. Effect of scarification, gibberellic acid and temperature on seed germination of two multipurpose *Albizia* species from Ethiopia. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 1, p. 11-20, 2001.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224 p.

TOYOMASU, T.; KAWAIDE, H.; MITSUHASHI, W.; INOUE, Y.; KAMIYA, Y. Phytochrome regulates gibberellin biosynthesis during germination of photoblastic lettuce seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 118, n. 4, p. 1517-1523, Dec. 1998.

UEDA-NAKAMURA, T.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; MORGADO-DIAZ, J. A.; KOREHISA MAZA, P.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ALVIANO, D. S.; ROSA, M. D. S. S.; LOPES, A. H. C. S.; ALVIANO, C. S.; NAKAMURA, C. V. Antileishmanial activity of Eugenil-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. **Parasitology International**, Clare, v. 55, n. 2, p. 99-105, June 2006.

VENTRELLA, M. C.; MING, L. C. Produção de matéria seca e óleo essencial em folhas de erva-cidreira sob diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 972-974, jul. 2000. Suplemento.

VIEIRA, R. F.; GRAYER, R. J.; PATON, A.; SIMON, J. E. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 287-304, Mar. 2001.

VLAHOS, J. C.; HEUVELINK, E.; MARTAKIS, G. F. P. A growth analysis study of three Achimenes cultivars grown under three light regimes. **Scientia Horticultural**, Amsterdam, v. 46, n. 3-4, p. 275-282, Apr. 1991.

VOLTAN, R. B. Q.; FAHL, J. L.; CARELLI, M. L. C. Variações na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. **Revista Brasileira de Fisiologia**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 99-105, 1992.

WALKER-SIMMONS, M. K. Recent advances in ABA regulated gene expression in cereal seeds: evidence for regulation by PKABA1 protein kinase. In: BLACK, M.; BRADFORD, K. J.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. (Ed.). **Seed Biology: Advances and Applications**. Wallingford, UK: CAB International, 2000. p. 271-276.

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. (Ed.). **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Harlow: Longman Scientific, Technical, 1993. p. 47-61.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas: temas de biologia**. São Paulo: EDUSP, 1982. v. 30, 101 p.

YAMAURA, T.; TANAKA, S.; TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 741-744, Mar. 1989.

ZAMUREENKO, V. A.; KLYUEV, N. A.; DMITRIEV, L. B.; POLYAKOVA, S. G.; GRANDBERG, I. I. Essential oil component composition in basil of the eugenol type. **Izvestiya Timiryazevskoi Selsko - khozyaistvennoi Akademii**, Mvovska, v. 2, p. 172-175, 1986.

CAPÍTULO II

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE *Ocimum gratissimum* L. PELO TESTE DE RAIOS-X

1 RESUMO

MARTINS, Joeferson Reis. Composição química e avaliação da qualidade de sementes de *Ocimum gratissimum* L. pelo teste de raios-x. In: _____. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Ocimum gratissimum L. (família Lamiaceae) pode ser considerada como planta anual ou perene, conforme o local de cultivo. Diversas finalidades são atribuídas à espécie, como na culinária, como planta ornamental, medicinal e aromática. Na busca por conhecimentos sobre sua biologia reprodutiva, caracterizou-se a composição química e verificou-se a possibilidade de utilização do teste de raios-X para a avaliação da qualidade de suas sementes. Na composição química das sementes foram observadas as seguintes características: grau de umidade, extrato etéreo, resíduo mineral fixo, proteína bruta, fibra bruta, amido e açúcares redutores e não redutores. Os resultados mostraram que *O. gratissimum* contém, aproximadamente, 8,2% de umidade, 10,1% de extrato etéreo, 3,5% de resíduo mineral fixo, 10,5% de proteína bruta, 26% de fibras brutas, 7% de amido, 0,05% de açúcares redutores e 3,5% de açúcares não redutores. Para estudar a eficiência do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes, foram testadas diferentes intensidades e tempos de exposição à radiação. Definida em testes preliminares a intensidade de 30 kV por 25 segundos, as sementes foram divididas em duas categorias: cheias e vazias. Do total de sementes observadas, 48% se encontravam cheias e, destas, 89,58% germinaram. Estes resultados indicam a possibilidade do uso desta metodologia para o beneficiamento das sementes de *O. gratissimum* no sentido de melhorar consideravelmente a qualidade tecnológica da espécie.

* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

2 ABSTRACT

MARTINS, Joeferson Reis. Chemical composition and evaluation of the quality of seeds of *Ocimum Gratissimum* L. by the x-ray test. In: _____. **Aspects of seeds germination and influence of light on the development, leaf anatomy and chemical composition of essential oil in *Ocimum gratissimum* L.** Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Ocimum gratissimum L. (family) can be regarded as either an annual or perennial plant according to the cultivation spot. A number of purposes are ascribed to the species, such as in culinary, as a ornamental, medicinal and aromatic plant. In the search for knowledge upon its reproductive biology, the chemical composition was characterized and the possibility of using the X ray test for evaluation of the quality of its seeds was verified. In the chemical composition of the seeds, the following characteristics were observed: degree of moisture, ether extract, fixed mineral residue, crude protein, crude fiber, starch and reducing and non-reducing sugars. The results showed that *O. gratissimum* contains about 8.2% of moisture, 10.1% of ether extract, 3.5% of fixed mineral residue, 10.5% of crude protein, 26% of crude fibers, 7% de starch, 0.05% of reducing sugars and 3.5% of non-reducing sugars. To study the efficiency of the X ray test in the evaluation of seed quality, different intensities and times of exposition to radiation were studied. Defined in previous tests the intensity of 30 kV for 25 seconds, the seeds were divided into two categories: full and empty. Out of the total of observed seeds, 48% were full and of these, 89.58% germinated. These results point to the possibility of the use of this methodology for the processing of *O. gratissimum* seeds in the sense of improving markedly the technological quality of the species.

* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A espécie *Ocimum gratissimum* L., conhecida popularmente como alfavacão, alfavaca e alfava-cravo, é descrita na literatura como um subarbusto aromático, ereto, com até 1 m de altura (Lorenzi & Matos, 2000). De acordo com Cerri (1995), a alfavaca-cravo é originária do Oriente e subespontânea em todo território brasileiro. Trata-se de uma espécie de interesse econômico, pois suas folhas são consideradas como importantes produtoras de óleos essenciais, são utilizadas na medicina caseira em preparações de banhos antigripais, no tratamento de casos de nervosismo e paralisia e, ainda, em chás como carminativos, sudoríficos, diuréticos e como condimento na culinária. Diversos estudos farmacognósticos têm verificado a bioatividade do óleo essencial de *O. gratissimum* sobre organismos de elevada patogenicidade (Gulati & Sinhá, 1990; Holetz et al., 2003; Lemos et al., 2005; Nakamura, 2004; Nakamura et al., 1999; Ndounga & Ouamba, 1997; Ueda-Nakamura et al., 2006).

Apesar da larga utilização de *O. gratissimum* na medicina popular, poucos estudos sobre a biologia reprodutiva dessa espécie têm sido realizados. O conhecimento sobre a biologia das sementes é de fundamental importância para o entendimento do estabelecimento de plântulas (Gomes & Fernandes, 2002; Vásques-Yanes & Orozco-Segovia, 1993).

Dentre os fatores que afetam o desempenho da germinação das sementes, merece destaque a composição química das mesmas (Nakagawa et al., 1990). Sob o ponto de vista fisiológico e considerando-se as práticas de manejo pré e pós-colheita, as reservas acumuladas são responsáveis pelo fornecimento de nutrientes e energia necessários à plena manifestação das funções vitais das sementes. O conhecimento da composição química da semente é de interesse prático em tecnologia de sementes, pois auxilia o direcionamento de

procedimentos adotados durante a secagem artificial pós-colheita e as condições de armazenamento das sementes (Marcos Filho, 2005).

Segundo Egli (1998), citado por Ferreira & Borghetti (2004), a qualidade máxima das sementes, ou maturidade fisiológica, está associada ao acúmulo de matéria seca máxima. Esse ponto marca a suspensão do transporte do floema à semente. Devido às características edafoclimáticas, idade da planta mãe e época de colheita, as sementes podem apresentar grande variabilidade na sua estrutura interna, como danos e anormalidades em embriões. Por isso, diversos métodos têm sido descritos para avaliar a qualidade das sementes.

O teste de raios-X desenvolvido por Simak & Gustafsson na década de 50 tem sido amplamente utilizado em análises de qualidade de sementes (Bino et al., 1993; Carvalho & Oliveira, 2006; Chavagnat, 1987; Liu et al., 1993; Oliveira et al., 2003; Simak & Gustafsson, 1953; Simak & Sahlen, 1981; Simak, 1989; Simak, 1991; Schmidt, 2000), uma vez que este teste é simples, rápido e não destrutivo. A ISTA - International Seed Testing Association, desde os anos 80, recomenda o teste de raios-X para a detecção de sementes cheias, vazias e danificadas. Quando os raios-X passam através de uma semente, a radiação é absorvida em vários graus dependendo da espessura, densidade e composição da semente e do comprimento de onda da radiação, criando, assim, uma imagem permanente no filme radiográfico (Bino et al., 1993). Assim, é possível diagnosticar a qualidade das sementes e inferir possíveis causas de anormalidades presentes. Segundo Simak (1991), a umidade das sementes influencia a densidade ótica de forma que, quanto menor a umidade das sementes, maior a densidade ótica, o que possibilita uma maior diferenciação das estruturas das sementes visualizadas nas radiografias.

Os objetivos neste estudo foram caracterizar a composição química e verificar a utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade das sementes de *O. gratissimum* L.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal

O experimento foi conduzido no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes de *O. gratissimum* coletadas em maio de 2005, de plantas adultas localizadas nas proximidades do campus da UFLA, no município de Lavras, na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. As plantas foram previamente identificadas taxonomicamente e as exsicatas foram depositadas no herbário ESAL, do Departamento Biologia da UFLA; o número de registro das exsicatas é 20.0037.

4.2 Composição química das sementes

4.2.1 Determinação do grau de umidade e peso de mil sementes

Estas análises foram realizadas empregando-se estufa a 105±3 °C, durante 24 horas, segundo as instruções das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), utilizando-se seis repetições, com 2,0 g de sementes cada. Os resultados foram expressos em porcentagem de umidade.

O peso médio de mil sementes foi determinado utilizando-se oito subamostras de 100 unidades (Brasil, 1992).

4.2.2 Determinação da fração de lipídeos em extrato etéreo

Para a determinação da fração lipídica das sementes, utilizaram-se quatro repetições de 2g de sementes frescas. A extração foi realizada com éter etílico, em extrator contínuo de Soxhlet, utilizando reboiler previamente

dessecado e tarado. Após a extração, o reboiler contendo o resíduo foi levado para a estufa a 65°C, por 24 horas, sendo posteriormente pesado, e os resultados foram expressos em porcentagem de lipídeos por matéria seca (AOAC, 1990).

4.2.3 Determinação da fração protéica

Na determinação da fração protéica, pesaram-se quatro repetições de 0,1g de material desengordurado, sendo a amostra transferida para tubo de digestão aos quais foram adicionados 1,5g de sulfato de potássio e 0,3g de sulfato de cobre, sendo, posteriormente, acrescentados 3,0mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram levados para o bloco digestor a 50°C, aumentando a temperatura lentamente até atingir 370°C. A mistura permaneceu no bloco digestor até a solução apresentar cor verde-clara. Depois de esfriada, foram adicionados 30mL de água destilada, seguida de agitação até dissolver o resíduo. Na determinação do teor de nitrogênio total, foi utilizado o método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1990), aplicando-se o fator 6,25 para o cálculo do teor de proteína bruta por matéria seca.

4.2.4 Determinação da fração de resíduo mineral fixo

Para a determinação de resíduo mineral fixo (cinzas totais) foram utilizadas quatro repetições de aproximadamente 2g de material desengordurado em cadinho de porcelana, o qual foi previamente incinerado, esfriado e tarado. O material foi carbonizado em fogão doméstico, com posterior calcinação em mufla a 550°C, por 4 horas. A quantidade de cinzas na amostras foi expressa pela diferença entre o peso do conjunto e o peso do cadinho vazio (AOAC, 1990).

4.2.5 Determinação da fração de fibra bruta

Na determinação da fibra bruta foram utilizadas quatro repetições de 0,5g de material desengordurado, ao qual adicionaram-se 17,5mL de ácido acético 70%, 0,5g de ácido tricloracético e 1,2mL de ácido nítrico. Essa solução foi mantida em repouso por 30 minutos a partir da ebulição (110°C). Após este tempo, os cadinhos foram levados para estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24 horas. A quantidade de fibra bruta na amostra foi expressa pela diferença entre o peso do conjunto e o peso do cadinho vazio (Van de Kamer & Van Ginkel, 1952).

4.2.6 Determinação da fração de amido

Para a determinação do teor de amido, quatro repetições de 2g de sementes frescas foram maceradas e, após lavagem em etanol, as amostras foram centrifugadas para a obtenção de extrato alcoólico. Com o resíduo da centrifugação, realizou-se a hidrólise ácida para a determinação do teor de amido segundo o método descrito por McCready et al. (1950).

4.2.7 Determinação da fração de açúcares redutores e não redutores

Os açúcares redutores e não redutores foram extraídos pelo método de Lane-Enyon (AOAC, 1990) e determinados pela técnica de Somogy, adaptada por Nelson (1944). Para a verificação da quantidade de açúcares redutores foram pesados 5g de amostra, aos quais adicionaram-se 50mL de etanol 70%, seguido de neutralização com ácido acético glacial e, finalmente, foi completado volume para 100mL. Em seguida, foi feita leitura de absorvância em espectrofotômetro a 510 nm. Para a determinação dos açúcares totais, foi realizada a hidrólise ácida da sacarose, acidificando o filtrado anterior com 0,5mL de ácido clorídrico concentrado. Em seguida, as amostras foram levadas para banho-maria fervente por 15 minutos e, posteriormente, neutralizadas em solução saturada de carbonato de sódio. Seguiu-se a desproteinização do extrato com água destilada,

solução de hidróxido de bário 0,3 N e solução de sulfato de zinco 5%. Os tubos foram agitados em vórtex e seu conteúdo, filtrado. A leitura de absorvância feita a 510 nm. A determinação dos açúcares não redutores foi realizada pela diferença entre valor apresentado para açúcares totais e açúcares redutores, convertida para o valor real multiplicado pelo fator 0,95.

4.3 Teste de raios-X

O teste de raios-X foi efetuado em equipamento Faxitron HP, modelo 43855AX, com utilização do filme radiográfico Kodak Min-R 2000, tamanho 18x24 cm. A revelação foi efetuada através de uma processadora de revelação de raios-X marca Kodak, modelo M35X OMAT. Foram testadas duas intensidades de radiação (25 e 30 KVp) em três tempos de exposição (20, 25, 30 segundos) para definir a condição ou resolução que permitisse uma visualização mais nítida das estruturas internas das sementes. Definidos o tempo e a intensidade, foram analisadas 300 sementes dispostas em folhas plásticas transparentes (tipo folha de transparência para retroprojeter). De acordo com a morfologia interna observada, as sementes foram divididas em duas categorias: sementes cheias e sementes vazias.

Posteriormente, as sementes de cada categoria foram submetidas ao teste de germinação, sem passar por nenhum processo de desinfecção de suas superfícies. A semeadura foi realizada em papel umedecido, com 2,5 vezes seu peso em água. Foram utilizadas caixas plásticas tipo Gerbox, acondicionadas em câmaras de germinação (BOD) reguladas a 30°C sob fotoperíodo de 12 horas de luz branca, durante quinze dias. Utilizaram-se quatro repetições com 25 sementes cada. O critério para considerar a semente como germinada foi a ocorrência de protrusão radicular.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal das sementes de *Ocimum gratissimum* L.

A composição química das sementes de *Ocimum gratissimum* L. analisadas encontra-se na Tabela 1. Observa-se que as sementes maduras de *O. gratissimum* na ocasião da colheita contêm um baixo conteúdo de água (aproximadamente 8,2%).

TABELA 1. Valores médios em base seca dos constituintes das sementes de *O. gratissimum*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Constituintes	Base seca
Peso de mil sementes	0,51 g
Massa seca	91,72%
Umidade	8,28%
Proteína	10,55%
Amido	6,94%
Açúcares Solúveis Totais	0,42%
Açúcares redutores	0,05%
Açúcares não redutores	0,35%
Resíduo Mineral Fixo	5,26%
Fibras Brutas	26,08%
Extrato etéreo	10,11%

O baixo teor de água pode estar associado à predominância de substâncias pouco higroscópicas nas sementes, como amido e lipídeos, principalmente em relação às proteínas, que são substâncias hidrofílicas. A higroscopicidade é referida à capacidade de retenção de água, característica de cada substância; sendo assim, a composição química afeta a capacidade de captação e liberação de água pelas sementes (Marcos Filho, 2005).

Pelos resultados encontrados, existem quantidades equivalentes das fontes de reserva: 6,9% de amido, 10,5% de proteína bruta e 10,1% lipídios (extrato etéreo). Este fato dificulta a classificação das sementes como amiláceas, protéicas ou oleaginosas. A maior concentração de proteínas, em comparação com as outras substâncias de reserva, indica que possivelmente as sementes apresentam um potencial matricial que favorece uma rápida embebição. No entanto, o maior teor de proteínas pode contribuir para a redução do potencial de armazenamento (Marcos Filho, 2005), uma vez que a elevada afinidade dessa substância com a água favorece a hidratação das sementes e, ao mesmo tempo, a ocorrência processos degradativos.

Os açúcares solúveis totais corresponderam a 0,418% e podem constituir os substratos iniciais para a respiração durante a embebição, fase inicial da germinação. A ausência de aproximadamente 24% de matéria seca não verificada pelas análises realizadas se devem, possivelmente, à presença de polissacarídeos de parede não extraídos pelos solventes.

5.2 Teste de raios-X

O tempo de exposição das sementes à radiação de 25 segundos e a intensidade de 30 KV possibilitaram a diferenciação mais nítida entre as imagens radiográficas de sementes cheias e vazias de *O. gratissimum* (Figura 1). A decisão sobre a regulagem do aparelho de raios-X depende da espessura, da densidade, da composição da semente e também do aparelho utilizado (ISTA, 1996).

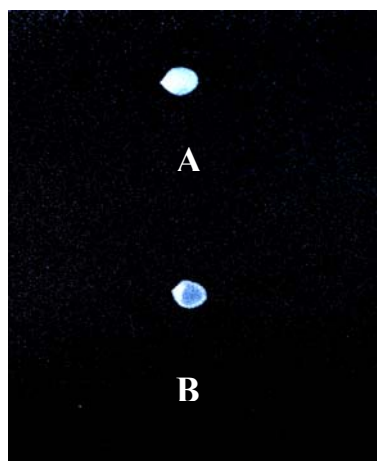


FIGURA 1. Radiografia de sementes de *O. gratissimum*.
Legenda: A - semente cheia, B - semente vazia.

Observou-se maior porcentagem de sementes da categoria vazia (52%) e que nenhuma das sementes dessa categoria germinou (Tabela 2).

TABELA 2. Valores em porcentagens de sementes de *O. gratissimum* cheias e vazias observadas pelo teste de raios-x e sua germinabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Categorias	% do total das sementes analisadas	% germinação
Sementes cheias	48,00	89,58
Sementes vazias	52,00	0,00

Esse resultado pode estar condicionado ao fenômeno da auto-incompatibilidade, em que o pólen de uma planta é incapaz de fertilizar as flores

da mesma planta e diferentes plantas podem ou não ser compatíveis entre si (Bruckner, 2002). A auto-incompatibilidade é um mecanismo que induz à alogamia e que mantém um alto grau de heterozigose (Duvick, 1967). De acordo com Sobti & Pushpangadan (1982), a espécie *O. gratissimum* é alógama e esta característica possibilita a manutenção ou o aumento do vigor híbrido das espécies pela ocorrência de novas combinações de genes codificadores de caracteres de interesse agrônomo (Parteniani, 1974), como, por exemplo, a produção de óleos essenciais que, por serem amplamente utilizados pelas indústrias farmacêuticas, têm alto valor no mercado nacional e internacional (Nation et al., 1992).

Do total de sementes radiografadas, 48% são da categoria cheia. Quando submetidas ao teste de germinação, 89,58% das sementes dessa categoria germinaram e as que não germinaram, possivelmente se encontravam dormentes ou com algum tipo de dano não evidente nas imagens radiográficas. Carvalho & Oliveira (2006) afirmam que o teste de raios-X traz informações que podem auxiliar na avaliação da viabilidade e qualidade de sementes, podendo, ainda, ser usado como um método complementar para o teste de germinação.

A informação de que sementes cheias apresentam alta porcentagem de germinação é de fundamental importância para a tecnologia de sementes, indicando a possibilidade de estudos futuros a fim de determinar metodologias eficazes de beneficiamento das sementes de *O. gratissimum*.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados de análises da composição química das sementes de *O. gratissimum* obtidos, é possível afirmar que existe uma

equivalência nas classes de reservas, havendo discreta predominância de proteínas.

O teste de raios-X é um método eficiente e não destrutivo numa avaliação complementar de qualidade das sementes de *O. gratissimum*, pois permite a nítida visualização de sementes cheias e vazias, podendo ser útil na complementação do teste de germinação.

O teste de raios-X em sementes de *Ocimum gratissimum* L. indica a possibilidade de estudos futuros a fim de determinar metodologias eficazes para beneficiamento das sementes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15. ed. Washington, 1990. v. 2.

BINO, R. J.; AARTSE, J. W.; VAN DER BURG, W. J. Nondestructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 167-170, June 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BRUCKNER, C. H.; MELETT, L. M. M.; OTONI, W. C. e JUNIOR, F. M. Z. Maracujazeiro. In: BRUCKNER, C. H. **Melhoramento de Fruteiras Tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. p. 373-409.

CARVALHO, M. M.; OLIVEIRA, L. M. Raios-X na avaliação da qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, v. 16, n. 1-3, p. 93-99, 2006.

CERRI, C. Ervas Companheiras de Viagem. **Globo Rural**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 121, p. 43-41, nov. 1995.

CHAVAGNAT, A. Use of soft X-ray radiography for studying seed quality in horticulture. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 215, p. 153-158, 1987.

DUVICK, D. N. Influence of morphology and sterility on breeding methodology. In: FREY, K. J. **Plant breeding**. Iowa, EUA: Iowa State University Press, 1967. p. 85-138.

EGLI, D. B. **Seed biology and the yield of grain crops**. New York: CAB International, 1998. 178 p.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

GOMES, V.; FERNANDES, G. W. Germinação de sementes de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 421-427, out./dez. 2002.

GULATI, B.; SINHÁ, G. K. Studies on some important species of *Ocimum*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ESSENCIAL OILS, 11., 1989, New Delhi. **Anais...** New Delhi: Aspect Publishing, 1990. p. 49.

HOLETZ, F. B.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G.; MORGADO-DÍAZ, J. A.; NAKAMURA, C. V. Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai*. **Acta Protozoologica**, Warsaw, v. 42, n. 4, p. 269-276, Nov. 2003.

ISTA. International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 24, 1996. 336 p. Supplement.

LEMOS, J. A.; PASSOS, X. S.; Fernandes, O. F. L.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H.; HASIMOTO e SOUZA, L. K.; LEMOS, A. A.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, São Paulo, v. 100, n. 1, p. 55-58, 2005.

LIU, Y.; BURG, W. J. van der; AARTSE, J. W.; ZWOL, R. A. van; JALINK, H.; BINO, R. J. X-ray studies on changes in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 171-178, June 1993.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.

- McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, A.; SILVEIRA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylase in vegetables; application to peas. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 22, n. 9, p. 1156-1158, 1950.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.
- NAKAGAWA, J.; IMAIZUMI, J.; ROSSETO, C. A. V. Efeitos de algumas fontes de fósforo e da calagem na qualidade de sementes de amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 505-512, abr. 1990.
- NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A. F. N.; CORTEZ, D. A. G.; FILHO, B. P. D. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, São Paulo, v. 94, n. 5, p. 675-678, 1999.
- NAKAMURA, C. V.; ISHIDA, K.; FACCIN, L. C.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ROZENTAL, S.; SOUZA, W. de; UEDA-NAKAMURA, T. In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 155, n. 7, p. 579-586, Sept. 2004.
- NATION, G. R. Estimation of outcrossing in basil. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 11, p. 1221-1222, Nov. 1992.
- NELSON, N. A. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 135, p. 136-175, 1944.
- NDOUNGA, M.; OUAMBA, J. M. Antibacterial and antifungal activities of essential oils of *Ocimum gratissimum* and *O. Basilicum* from Congo. **Fitoterapia**, Milano, v. 68, p. 190-191, 1997.
- OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula [*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert]. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.
- PATERNIANI, E. Evolução dos sistemas dos vegetais. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 476-481, maio 1974.

SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and sub-tropical forest seed.** Humlebaek, Denmark: Danida Forest Seed Centre, 2000.

SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A. G.; GOSLING, P.; WANG, B. S. P. **Tree and shrub seed handbook.** Zurich: ISTA, 1991.

SIMAK, M.; BERGSTEN, U.; HENRIKSSON, G. Evaluation of ungerminated seeds at the end germination test by radiography. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 17, n. 2, p. 361-369, 1989.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Landskrona, v. 39, n. 3-4, p. 458-468, 1953.

SIMAK, M.; SAHLEN, K. Comparison between the X-radiography and cutting tests used in seed quality analysis. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 9, n. 1, p. 205-227, 1981.

SOBTI, S.; PUSHPANGADAN, P. Studies in the genus *Ocimum*: cytogenetics, breeding and production of new strains of economic importance. In: **Cultivation and Utilization of Aromatic Plants.** Kapur: C. K. Atal and B. M., 1982. p. 457-472.

UEDA-NAKAMURA, T.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; MORGADO-DIAZ, J. A.; KOREHISA MAZA, P.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ALVIANO, D. S.; ROSA, M. D. S. S.; LOPES, A. H. C. S.; ALVIANO, C. S.; NAKAMURA, C. V. Antileishmanial activity of Eugenil-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. **Parasitology International**, Clare, v. 55, n. 2, p. 99-105, June 2006.

VAN DE KAMER, J. H.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, St Paul, v. 29, n. 4, p. 239-251, July/Aug. 1952.

VÁSQUES-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA, A. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rain forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 69-87, 1993.

CAPÍTULO III

ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Ocimum gratissimum* L. EM DIFERENTES EMBALAGENS E AMBIENTES.

1 RESUMO

MARTINS, Joeferson Reis. Armazenamento de sementes de *Ocimum gratissimum* L. em diferentes embalagens e ambientes. In: _____. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

A espécie *Ocimum gratissimum* L. é um subarbusto aromático, pertencente à família Lamiaceae, considerado como importante produtor de óleo essencial, largamente utilizado na medicina popular. Devido à escassez de informações sobre a conservação das sementes de *O. gratissimum*, no presente estudo objetivou-se avaliar três tipos de embalagens: sacos de papel (permeável), sacos de papel aluminizado (semipermeável) e frascos de vidro (impermeável), no armazenamento de sementes de *O. gratissimum* em ambientes de balcão de laboratório, geladeira e câmara fria, durante o período de 12 meses. Os testes de germinação foram realizados ao 6º, 8º, 10º e 12º mês, quando se avaliaram a germinabilidade, índice de velocidade de germinação e porcentagem de plântulas normais. Os resultados evidenciaram que, independentemente do tipo de embalagem, as sementes de *O. gratissimum* podem ser armazenadas durante doze meses, tanto em geladeira ou câmara fria quanto em ambiente de balcão de laboratório (condições climáticas de Lavras, MG), sem perda da qualidade fisiológica, uma vez que houve manutenção da germinabilidade e porcentagem de plântulas normais. Além disso, as sementes armazenadas apresentaram maiores valores de IVG quando comparadas com as recém-colhidas.

* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

2 ABSTRACT

MARTINS, Joeferson Reis. Storage of seeds of *Ocimum gratissimum* L. in different packages and **ambientes**. In: _____. **Aspects of seeds germination and influence of light on the development, leaf anatomy and chemical composition of essential oil in *Ocimum gratissimum* L.** Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

The species *Ocimum gratissimum* L., is an aromatic subarbusto, belonging to the family Lamiaceae, considered as an important producer of essential oil, widely used in folk medicine. Owing to the lack of information about the conservation of seeds of *O. gratissimum*, in the present study it was aimed to evaluate three sorts of packages: paper bags (permeable), aluminized paper bags (semipermeable) and glass flasks (impermeable), in the storage of seeds of *O. gratissimum* in settings of laboratory bench, refrigerator and cold chamber over the 12 month period. The germination tests were performed in the 6th, 8th, 10th and 12th month, when germinability, germination velocity and percentage of normal seedlings were evaluated. The results stressed that, regardless of the sort of package, the *O. gratissimum* seeds can be stored for twelve months, both in refrigerator or cold chamber and in laboratory bench setting (climatic conditions of Lavras, MG), without any loss of physiological quality, since there was maintenance of germinability and percentage of normal seedlings. In addition, the stored seedlings showed increased values of IVG, as compared with the newly-collected ones.

* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O genótipo das sementes determina, de forma variável entre as espécies, sua longevidade; no entanto, o período de conservação do potencial fisiológico depende, em grande parte, das condições do ambiente de armazenamento a que são submetidas (Marcos Filho, 2005).

Em geral, condições de baixa temperatura e umidade são as mais recomendadas para armazenar sementes (Vertucci & Roos, 1993), pois esses fatores influenciam as atividades respiratórias tanto das próprias sementes como dos microrganismos presentes, além da atividade e reprodução de insetos infestantes. De acordo com Delouche & Potts (1974), altas temperaturas aceleram os processos de deterioração dos sistemas biológicos em que ocorre respiração intensa que consome seu material de reserva, de maneira que, sob essas condições, as sementes perdem o vigor e a capacidade de germinar.

Ferreira & Borguetti (2004) afirmam que a deterioração das sementes envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que são progressivas e determinadas por fatores bióticos e abióticos. Portanto, procedimentos adequados de colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento são fundamentais para a conservação do potencial fisiológico das sementes.

Além do controle do ambiente de armazenamento (temperatura e umidade relativa do ar), o uso da embalagem adequada pode aumentar a longevidade das sementes armazenadas artificialmente (Carneiro & Aguiar, 1993).

Quanto à permeabilidade ao vapor d'água, as embalagens podem ser classificadas em permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis. De acordo com Ferreira & Borghetti (2004), as embalagens permeáveis mais utilizadas

comercialmente são confeccionadas de papel, algodão e polipropileno trançado.

Os materiais mais utilizados na produção de embalagens semipermeáveis são polietileno de baixa espessura e combinações de lâminas de papel e outro material (papel aluminizado e plastificado). As embalagens impermeáveis disponíveis comercialmente são geralmente constituídas de sacos de polietileno espesso, de média e alta densidade, embalagens metálicas de alumínio e recipientes de vidro.

A escolha de uma embalagem depende das características da espécie, do grau de umidade, das condições e do período de armazenamento (Marcos Filho, 2005). Deve-se considerar, ainda, a modalidade de comercialização, a disponibilidade e as características mecânicas das embalagens.

Vários trabalhos mostram a eficácia de determinados ambientes e embalagens no armazenamento de sementes. Segundo Andrade & Ferreira (2000), sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) armazenadas em câmara fria apresentaram porcentagem de emergência acima de 50% no período de 60 dias. Em condições de câmara seca, a umidade das sementes foi reduzida a níveis inferiores a 20% aos 30 dias de armazenamento, conduzindo a uma perda total da germinação aos 45 dias, quando o conteúdo de umidade atingiu valores em torno de 14%.

Em trabalho realizado por Torres et al. (2002), sementes de maxixe armazenadas durante doze meses, tanto em ambiente de câmara fria (10°C e 40-45% UR) quanto em ambiente de balcão de laboratório, preservaram sua qualidade fisiológica em diferentes tipos de embalagens, saco de papel (permeável), saco plástico (semipermeável) ou caixa plástica de média densidade (impermeável). Alves & Lin (2003) concluíram que o melhor tipo de embalagem para armazenar sementes de *Phaseolus vulgaris* L. em ambiente de balcão de laboratório foi o saco de polietileno (semipermeável), uma vez que proporcionou as maiores porcentagens de vigor e germinação.

Quanto ao armazenamento de sementes de espécies medicinais, de um modo geral, poucos trabalhos têm envolvido comparações entre diferentes tipos de embalagens e ambientes de armazenamento.

Entre as diversas espécies com propriedades terapêuticas destaca-se *Ocimum gratissimum* L., um subarbusto lenhoso, ereto, com até 1,0 m de altura, originário da Ásia e África e subespontâneo em todo território brasileiro, sendo popularmente conhecido como alfavacão, alfavaca e alfavaca-cravo. Nas práticas usuais da medicina caseira, as folhas de *O. gratissimum* são usadas na preparação de banhos antigripais, no tratamento de casos de nervosismo e paralisia (Lorenzi & Matos, 2000). Segundo Matos (1998), o fato de a alfavaca possuir o óleo essencial rico em eugenol lhe confere ação antisséptica local contra alguns fungos e bactérias.

Apesar de possuir características de interesse farmacológico, as informações a respeito dos métodos de conservação das sementes de *O. gratissimum* ainda são escassas. Nesse sentido, no presente estudo objetivou avaliar três tipos de embalagens, sacos de papel (permeável), sacos de papel aluminizado (semipermeável) e frascos de vidro (impermeável), no armazenamento de sementes de *O. gratissimum* em geladeira, câmara fria e ambiente natural de laboratório, por 12 meses.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instalação e condução do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de

Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no mês de maio de 2005. Neste experimento, utilizaram-se sementes de *Ocimum gratissimum* coletadas no mês de maio de 2005, a partir de plantas adultas localizadas nas proximidades do campus da UFLA. As plantas de *O. gratissimum* foram identificadas taxonomicamente e as exsicatas foram depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA, sob o número de registro 20.0037.

Uma amostra de aproximadamente 50 gramas de sementes foi coletada, beneficiada por meio de um soprador pneumático, homogeneizada e dividida para a obtenção das subamostras destinadas aos estudos de determinação do conteúdo de umidade e armazenamento. O conteúdo de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105\pm 2^{\circ}\text{C}$, por 24 horas, conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 1992), com cinco subamostras de dois gramas, sendo os resultados expressos em porcentagem de umidade.

Para a instalação do experimento de armazenamento, as sementes foram tratadas com Captan 2% (Brasil, 1992), com o objetivo de evitar o aparecimento de fungos. Neste experimento, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial $4 \times 3 \times 3$, consistindo de quatro períodos de avaliações (6, 8, 10 e 12 meses), três tipos de embalagens (saco de papel kraft, saco de papel aluminizado, frasco de vidro transparente) e três locais de armazenamento (ambiente de balcão de laboratório, câmara fria com 8°C e 45% de umidade relativa (UR) e geladeira a 10°C e 50% UR). As condições de temperatura e umidade relativa do ar no ambiente de laboratório variaram conforme as mudanças climáticas da cidade de Lavras na época de realização do experimento. Os dados de temperatura (máxima, mínima e média) e UR da cidade de Lavras, MG (Figura 1) foram coletados pela Estação Climatológica Principal de Lavras, situada a aproximadamente 300m da área experimental, no período de maio de 2005 a maio 2006. Nos outros dois locais

de armazenamento, os dados de temperatura foram obtidos com termômetro de máxima/ mínima e a umidade, verificada com psicrômetro.

O efeito do armazenamento sobre as sementes foi verificado por teste de germinação, que foi conduzido em câmara de germinação sob temperatura alternada 20-30°C e fotoperíodo de 12 horas, sendo as sementes distribuídas sobre papel mataborrão com quatro repetições de 100 sementes por tratamento. As contagens de germinação foram realizadas diariamente a partir da protrusão radicular, por um período de 14 dias. Para o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG) foi empregada a equação proposta por Maguire (1962). Foi contabilizado o número de plântulas normais conforme prescrições das RAS (Brasil, 1992). Os critérios utilizados para verificação de plântulas normais foram observações de características arquitetônicas e anatômicas definidas, tais como radícula com pêlos absorventes e sem curvaturas, caulículo ereto e cotilédones abertos e verdes.

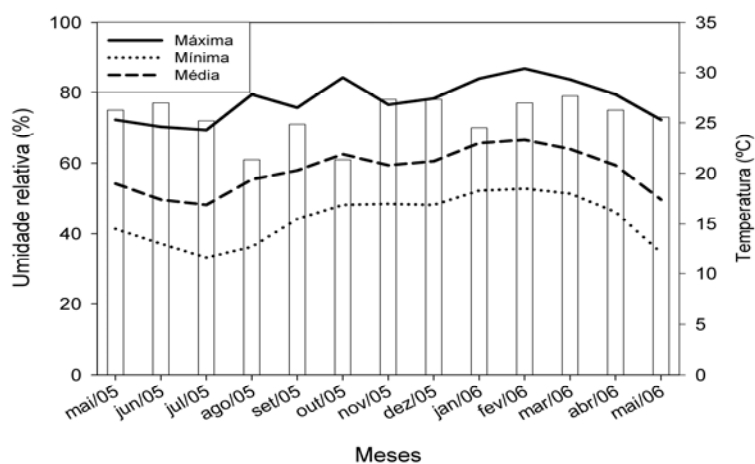


FIGURA 1. Dados de temperaturas máxima, mínima e média (°C) e umidade relativa do ar (%) registrados durante o período de maio de 2005 a maio de 2006. UFLA, Lavras, MG, 2006.

4.2 Análise estatística

Os dados de contagem foram transformados em $\arcsen (X/100)^{0,5}$ e submetidos à análise estatística. Este experimento consistiu de um fatorial (4 x 3 x 3). A testemunha, sementes recém-colhidas e, portanto, não armazenadas, não foi contemplada no arranjo fatorial. Para os tratamentos representados pelas combinações de fatores utilizou-se o teste Scott-Knott como teste de comparação múltipla, considerando um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de umidade das sementes de *O. gratissimum* recém-colhidas correspondeu a 8,28%. Os resultados do teor de água das sementes durante o período de armazenamento estão dispostos na Tabela 1.

TABELA 1. Teor de água (%) das sementes de *O. gratissimum* armazenadas em diferentes embalagens e condições ambientais.

Ambiente	Embalagem	Tempo de armazenamento			
		6 meses	8 meses	10 meses	12 meses
Balcão	Vidro	8,33	8,28	8,28	8,49
Balcão	P. Alum.	8,28	8,46	8,28	8,53
Balcão	Papel	8,10	8,21	8,38	8,21
Geladeira	Vidro	8,23	8,28	8,28	8,05
Geladeira	P. Alum.	8,11	8,28	8,06	8,10
Geladeira	Papel	7,95	8,00	8,20	8,00
Câm. Fria	Vidro	8,31	8,32	8,31	8,34
Câm. Fria	P. Alum.	8,43	8,00	8,49	8,41
Câm. Fria	Papel	8,32	8,05	8,54	8,52

* Legenda: Vidro - frasco de vidro, P. Alum. – saco de papel aluminizado, Papel – saco de papel, Câm. Fria – câmara fria.

Apesar de não terem sido analisadas estatisticamente, verificam-se, de modo geral, pequenas oscilações em função dos ganhos e perdas de umidade nas sementes. Estes resultados indicam que as sementes de *O. gratissimum* apresentaram pouca capacidade higroscópica, independentemente do tipo de embalagem e ambiente utilizados. Provavelmente, os constituintes de reserva das sementes sejam, em sua maioria, poucos higroscópicos (amido e/ou lipídios). No ambiente de geladeira (10°C e 50% UR), observou-se um pequeno decréscimo no conteúdo de umidade das sementes quando comparado aos valores inicial e demais tratamentos. Nesse ambiente de armazenamento, a variação do teor de água das sementes nas embalagens para cada época estudada foi sempre inferior a 0,5%, a qual é aceitável inclusive entre as repetições da mesma amostra, conforme prescrevem as RAS (Brasil, 1992).

Para o período de 12 meses de armazenamento, as condições de temperatura e umidade relativa do ar de todos os ambientes mostraram-se efetivas na conservação das sementes, propiciando a manutenção do teor de umidade das sementes ao redor de 8%, considerado por Wang (1978) como adequado para o armazenamento da maioria das sementes. Apesar de as embalagens utilizadas apresentarem diferentes características com relação às trocas de vapor d'água, elas comportaram-se de maneira semelhantes, pois todas as condições de armazenamento possibilitaram que o equilíbrio higroscópico das sementes fosse mantido em torno de 8%. O baixo teor de umidade inicial (8,40%), segundo Toledo & Marcos Filho (1977), é um importante fator para a conservação das sementes, o que também contribuiu para que a viabilidade das sementes fosse mantida (Tabela 2).

As sementes de *O. gratissimum* recém-colhidas apresentaram uma germinabilidade de 52,5%. Através da Tabela 2 observa-se que, de forma geral, todos os ambientes e embalagens utilizados no experimento preservaram o

potencial de germinabilidade durante os doze meses em que as sementes permaneceram armazenadas.

TABELA 2. Germinabilidade (%) de sementes de *O. gratissimum* armazenadas sob diferentes condições ambientais (balcão de laboratório, geladeira e câmara fria) e embalagens (frasco de vidro, saco papel aluminizado e saco de papel).

Ambiente	Embalagem	Tempo de armazenamento			
		6 meses	8 meses	10 meses	12 meses
Balcão	Vidro	56,00 aA♦	56,75 aA♦	48,00 bA♦	50,25 bB♦
Balcão	P. Alum.	51,75 aA ⁻	49,00 aA ⁻	48,00 aA ⁻	50,00 aB ⁻
Balcão	Papel	53,50 aA ^o	52,00 aA ^o	54,50 aA ^o	59,00 aA ^o
Geladeira	Vidro	49,75 bA♦	56,50aA♦	48,00 bA♦	54,00 aA♦
Geladeira	P. Alum.	48,50 aA ⁻	52,00aA ⁻	43,75bB ⁻	53,75 aA ⁻
Geladeira	Papel	53,00 aA ^o	54,00aA ^o	54,25 aA ^o	53,00 aA ^o
Câm. Fria	Vidro	51,50 aA♦	53,25 aA♦	44,75 aA♦	49,00 aA♦
Câm. Fria	P. Alum.	43,50 bB ⁻	50,25 bA ⁻	56,75 aB ⁻	56,25 aA ⁻
Câm. Fria	Papel	53,75 bA ^o	51,50 bA ^o	51,25 bB ^o	60,00 aA ^o

*Teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam os tempos (linha) e as letras maiúsculas comparam embalagens (coluna), em cada ambiente. Os símbolos comparam ambientes (coluna) para cada tipo de embalagem. Legenda: Vidro - frasco de vidro, P. Alum. – saco de papel aluminizado, Papel – saco de papel, Câm. Fria – câmara fria.

Verifica-se que as sementes de *O. gratissimum* apresentam germinabilidade de aproximadamente 60%, mesmo após armazenamento. Resultado semelhante já fora descrito por Fiallo et al. (1996). De acordo com esses autores, a germinabilidade das sementes de *O. gratissimum* não excedeu a 62%, mesmo quando as sementes armazenadas foram tratadas com ácido giberélico.

Apesar de não haver diferenças estatísticas, as sementes armazenadas em saco de papel nos ambientes balcão de laboratório e câmara fria, bem como as sementes armazenadas em saco de papel aluminizado na câmara fria, apresentaram tendência de acréscimo na porcentagem final de germinação observada no 12º mês em relação à testemunha e aos outros tratamentos. Resultado semelhante foi relatado por Zanon (1993) trabalhando com grevílea (*Grevillea robusta* Cunn.), que apresenta dormência pós-colheita, que pôde ser superada pelo armazenamento por um período de 60-90 dias; nesse trabalho os autores relatam que a melhor condição de estocagem foi em sacos de papel e em câmara seca a 15°C e 40% de UR. O fato de os melhores valores de germinabilidade ocorrerem em sementes armazenadas em embalagens permeável e semipermeável parece denotar que as trocas gasosas entre o ambiente e semente favorecem uma provável superação de dormência.

Quanto ao índice de velocidade de germinação, as sementes recém-colhidas apresentaram um valor de 14,69. A Tabela 3 contém os resultados e a análise estatística do parâmetro IVG durante o período de armazenamento. De modo geral, as sementes submetidas ao armazenamento germinaram mais rapidamente que as sementes recém-colhidas. Possivelmente, com o decorrer do tempo de armazenamento o tegumento das sementes se torna mais permeável à água, o que proporciona uma embebição mais rápida e, conseqüentemente, maior velocidade de germinação. Este aumento na velocidade de germinação com o armazenamento constitui uma defesa da espécie para perpetuar-se no tempo e espaço (Fiallo et al., 1996).

No decorrer do tempo de armazenamento, o aumento da velocidade de germinação foi maior para as sementes armazenadas nos ambientes geladeira e câmara fria, independentemente do tipo de embalagem. Estes resultados mostram que as baixas temperaturas proporcionadas nesses ambientes favoreceram o aumento do IVG. Sementes armazenadas em câmara fria,

respectivamente em embalagens de papel e de papel aluminizado, permeável e semipermeável por 12 meses, proporcionaram condições para que a germinação ocorresse com os maiores valores de IVG.

TABELA 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *O. gratissimum* armazenadas sob diferentes condições ambientais (balcão de laboratório, geladeira e câmara fria) e embalagens (frasco de vidro, saco de papel aluminizado e saco de papel).

Ambiente	Embalagem	Tempo de armazenamento			
		6 meses	8 meses	10 meses	12 meses
Balcão	Vidro	17,30 aA♦	17,62 aA♦	15,65 aA♦	16,36 aA♦
Balcão	P. Alum	15,50 aA ⁻	13,58 aB ⁻	15,88 aA ⁻	15,82 aA ⁻
Balcão	Papel	16,24 aA ^o	16,15 aA ^o	17,35 aA ^o	18,18 aA ^o
Geladeira	Vidro	15,50 cA♦	18,68 bA♦	17,60 bA♦♦	23,14 aA♦♦
Geladeira	P. Alum	15,50 cA ⁻	18,68bA ⁻	17,77 bA ⁻	24,31 aA ⁻
Geladeira	Papel	16,45 cA ^o	20,45 bA ^{oo}	20,02 bA ^{oo}	23,59 aA ^{oo}
Câm. Fria	Vidro	15,36 cA♦	18,13 bA♦	21,54 aB♦♦♦	21,50 aB♦♦
Câm. Fria	P.Alum	13,54 cA ⁻	17,98 bA ⁻	27,38 aA ⁻	25,28 aA ⁻
Câm. Fria	Papel	16,49 bA ^o	16,91 bA ^o	24,56 aA ^{ooo}	25,27 aA ^{oo}

*Teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam os tempos (linha). Letras Maiúsculas comparam embalagens entre si (coluna), em cada ambiente. Símbolos comparam ambientes (coluna) para cada tipo de embalagem. Legenda: Vidro - frasco de vidro, P. Alum. – saco de papel aluminizado, Papel – saco de papel, Câm. Fria – câmara fria.

As sementes armazenadas em balcão de laboratório não sofreram alterações significativas quanto ao IVG no período correspondente entre o 6^o e o 12^o mês. De acordo com Nakagawa (1999), a maior velocidade de germinação permite inferir que o lote de sementes ou amostra seja mais vigoroso.

Os dados de plântulas normais estão dispostos na Tabela 4 e Figura 4. As sementes recém-colhidas apresentaram uma porcentagem de plântulas

normais correspondente a 47. Os resultados abaixo se assemelharam bastante aos dados de germinabilidade.

TABELA 4. Plântulas normais (%) de sementes de *O. gratissimum* armazenadas sob diferentes condições ambientais (balcão de laboratório, geladeira e câmara fria) e embalagens (frasco de vidro, saco papel aluminizado e saco de papel).

Ambiente	Embalagem	Tempo de armazenamento			
		6 meses	8 meses	10 meses	12 meses
Balcão	Vidro	54,25 aA♦	53,50 aA♦	47,00 bA♦	49,00 bB♦
Balcão	P. Alum	48,25 aA ⁻	46,25 aA ⁻	46,75 aA ⁻	49,50 aB ⁻
Balcão	Papel	51,75 aA ^o	51,00 aA ^o	53,25 aA ^o	58,50 aA ^o
Geladeira	Vidro	48,00 bA♦	54,75 aA♦	46,75 bA♦	53,25 aA♦
Geladeira	P. Alum	47,00aA ⁻	51,25 aA ⁻	40,00 bB ⁻	52,50 aA ⁻
Geladeira	Papel	51,00 aA ^o	53,50 aA ^o	53,50 aA ^o	52,25 aA ^o
Câm. Fria	Vidro	47,75 aA♦	51,75 aA♦	44,25 aB♦	48,25aB♦
Câm. Fria	P. Alum	40,25 bB ⁻	48,50 aA ⁻	56,50aA ⁻	54,50 aA ⁻
Câm. Fria	Papel	52,50 bA ^o	50,50 bA ^o	50,75 bA ^o	59,25 aA ^o

*Teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. Letras minúsculas comparam os tempos (linha). Letras Maiúsculas comparam embalagens entre si (coluna), em cada ambiente. Símbolos comparam ambientes (coluna) para cada tipo de embalagem. Legenda: Vidro - frasco de vidro, P. Alum. – saco de papel aluminizado, Papel – saco de papel, Câm. Fria – câmara fria.

É interessante notar que quase a totalidade das sementes germinadas formou plântulas normais, com arquitetura definida. Isto informa que as sementes de *O. gratissimum*, de forma geral, mantêm a qualidade fisiológica por 12 meses. A maior quantidade de plântulas normais nas condições de armazenamento ambiente de balcão em saco de papel e ambiente câmara fria em saco de papel e saco de papel aluminizado permite inferir que, sob essas condições, as sementes tendem a apresentar melhor vigor.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este trabalho, pode-se concluir que as sementes de *O. gratissimum* L. podem ser armazenadas durante doze meses, tanto em ambiente de balcão de laboratório como geladeira ou câmara fria, utilizando as embalagens saco de papel, saco de papel aluminizado ou frasco de vidro, sem perda da qualidade fisiológica.

A embalagem saco de papel nos ambientes balcão de laboratório e geladeira, bem como a embalagem saco de papel aluminizado em câmara fria, proporcionaram melhores valores de germinabilidade, IVG e plântulas normais, sendo, portanto, as melhores condições de armazenamento por de 12 meses para sementes de *O. gratissimum* L.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. C.; LIN, H. S. Tipo de embalagem, umidade inicial e período de armazenamento em sementes de feijão. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 4, n. 1/2, p. 21-26, 2003.

ANDRADE, R. N. B.; FERREIRA, A. G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) - Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

CARNEIRO, J. G. A.; AGUIAR, I. B. Armazenamento de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coords.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p. 333-350.

- DELOUCHE, J. C.; POTTS, H. C. **Programa de sementes**: Planejamento e implantação. 2. ed. Brasília: Agiplan, 1974. 118 p.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.
- FIALLO, V. R. F.; MEDINA, N. N. R.; FERRADÁ, C. R. Acerca de la propagación de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Cubana Planta Medica**, La Habana, v. 1, n. 1, p. 3-7, 1996.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, Jan./Fev. 1962.
- MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**. 3. ed. rev. atual. Fortaleza: Ed. Universidade Federal do Ceará, 1998. 220 p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 21-24.
- TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes**: tecnologia da produção. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224 p.
- TORRES, S. B.; SILVA, M. A. S. da; RAMOS, S. R.; QUEIRÓZ, M. A. de. Qualidade de sementes de maxixe armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 3, p. 539-544, jul./set. 2002.
- VERTUCCI, C. W.; ROSS, E. E. Seed storage, temperature and relative humidity: response. **Seeds Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 215-216, Sept. 1993.

WANG, B. S. P. Procurement, handling and storage of tree seed for genetic research. WORLD CONSULTATION ON FOREST TREE BREEDING, 3., 21-26 march 1977, Canberra. **Proceedings...** Canberra: CSIRO, 1978. v. 2, p. 821-833.

ZANON, A.; CARPANEZZI, A. A. Armazenamento de sementes de *Grevillea robusta* Cunn. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7., 1993, Curitiba. **Floresta para o desenvolvimento**: política, ambiente, tecnologia e mercado: anais. São Paulo: SBS; [S. l.]: SBEF, 1993. v. 1, p. 265-267.

CAPÍTULO IV

INFLUÊNCIA DA LUZ, TEMPERATURA E GIBERELINA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ocimum. gratissimum* L.

1 RESUMO

MARTINS, Joeferson Reis. Influência da luz, temperatura e giberelina na germinação de sementes de *Ocimum gratissimum* L. In: _____. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Estudos sobre a biologia reprodutiva de *Ocimum gratissimum* são escassos no Brasil. Neste trabalho objetivou-se analisar a influência da luz (fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo), temperaturas de incubação (20, 25, 30, 15-25 e 20-30°C) e algumas concentrações de giberelina (GA₃) (0, 25, 50, 100, 200 mg.L⁻¹) na germinação de sementes de *O. gratissimum*. As sementes se mostraram fotoblásticas positivas preferenciais, não germinaram na condição de escuro contínuo em temperaturas contínuas; sob temperaturas alternadas, a germinação foi de aproximadamente 10%. Sob a condição luz, os melhores valores de germinabilidade, IVG, tempo médio e plântulas normais ocorreram a 30°C e 20-30°C. A germinabilidade não excedeu a 55%. O regulador de crescimento GA₃ reverteu a necessidade de luz para que a germinabilidade alcançasse 55% no escuro; no entanto, sob a luz o GA₃ não maximizou a germinação das sementes e nem alterou a sua cinética. Portanto, infere-se que, para alcançar maior germinabilidade e uniformidade da cultura dessa espécie, a melhor época de semeadura das sementes seja no verão, quando as temperaturas estão próximas a 30°C.

* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

ABSTRACT

MARTINS, Joeferson Reis. Influence of light, temperature and gibberellin on the germination of *Ocimum gratissimum* L seeds. In: _____. **Aspects of seeds germination and influence of light on the development, leaf anatomy and chemical composition of essential oil in *Ocimum gratissimum* L.** Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Studies on the reproductive physiology of *Ocimum gratissimum* are scarce in Brazil. In this work, it was intended to investigate the influence of light (12-hour photoperiod and continuous dark), incubation temperatures (20, 25, 30, 15-25 and 20-30°C) and some concentrations of gibberellin (GA₃) (0, 25, 50, 100, 200 mg.L⁻¹) in the germination of *O. gratissimum* seeds. The seeds proved preferential positive photoblastic, did not germinate under the condition of continuous dark at continuous temperatures; under alternate temperatures, germination was of about 10%. Under the condition light, the best values of germination, IVG, average time and normal seedlings occurred at 30°C and 20-30°C. Germinability did not exceed 55%. The growth regulator GA₃ reverted the necessity for light for germinability to reach 55% in dark, however, under light, GA₃ did not maximize the seeds' germination and neither altered its kinetics. Therefore, it is inferred that to reach higher germinability and uniformity of the crop of this species, the best sowing season of the seeds is in the summer, when temperatures are close to 30°C.

* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Ocimum gratissimum L. é uma espécie medicinal, popularmente conhecida como alfavaca-cravo por apresentar cheiro típico semelhante ao cravo da Índia (*Eugenia caryophyllata* Thumb.), e pertence à família Lamiaceae (Matos, 1998). A espécie é originária da Ásia e subspontânea em todo território brasileiro (Cerri, 1995).

O cultivo de plantas medicinais no Brasil ainda é muito incipiente (Bacchi, 1996), o que evidencia a necessidade de estudos botânicos e agrônômicos sobre a biologia reprodutiva, que é de fundamental importância para o processo de produção de mudas.

A germinação é considerada um dos mais importantes estágios do biociclo vegetal, sendo caracterizada por processos de natureza complexa, dependentes de fatores como temperatura, luz, água, reguladores de crescimento e composição de gases na atmosfera (Carvalho & Nakagawa, 1988; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989; Popinigis, 1985). Dentre esses citados fatores que afetam a germinação das sementes, merecem destaque a temperatura e a luz (Labouriau, 1983).

Bewley & Black (1994) afirmam que a temperatura regula a germinação, especialmente por alterar a velocidade de absorção de água, bem como modificar a velocidade das reações químicas que desencadearão o desdobramento e o transporte de reservas e a síntese de novas substâncias essenciais ao desenvolvimento inicial da plântula. Desta maneira, a temperatura influi no processo de germinação de três maneiras: determinando a capacidade e taxa de germinação, removendo a dormência primária e/ou secundária e induzindo a dormência secundária.

Inúmeros trabalhos têm demonstrado que a temperatura é um dos responsáveis não somente pela velocidade de germinação, como também pelo percentual final de germinação.

De acordo com Copeland & McDonald (1995), determinadas espécies apresentam melhor comportamento germinativo quando submetidas à alternância de temperatura, que corresponde às flutuações naturais encontradas no ambiente de clareira. Por outro lado, existem espécies cuja germinação de sementes é favorecida quando as mesmas são submetidas à temperatura constante (Lima et al., 1997) e, ainda, aquelas que germinam indiferentemente em temperaturas constantes ou alternadas.

Em estudos com *Salvia splendens* Sellow (Lamiaceae), Menezes et al. (2004) observaram que temperaturas de 15, 20 e 25°C não afetaram a porcentagem final de germinação; no entanto, a velocidade do processo germinativo das sementes foi retardada a 15 °C.

Um outro fator de considerável importância na germinação de sementes é a participação de compostos químicos de naturezas diversas, como os fitoreguladores, que podem ter ação estimuladora ou inibitória.

Vários trabalhos têm demonstrado o papel das giberelinas na quebra de dormência (Bianco et al., 1994; Grappin et al., 2000; Hilhorst & Karssen, 1988, 1992; Kamiya & Garcia-Martinez, 1999; Metzger, 1983; Toyomasu et al., 1998), na mobilização de reservas durante o processo germinativo e no posterior estabelecimento da plântula (Shen et al., 2001; Skadsen, 1998; Walker-Simmons, 2000). Alguns estudos indicam, ainda, que a temperatura interage com hormônios vegetais de modo a alterar seus níveis endógenos e, por conseguinte, influenciando na regulação do processo germinativo (Brown & Van Staden, 1973; Paul et al., 1973; Webb & Wareing, 1972). Diante disto, alguns reguladores de crescimento têm a propriedade de modificar as exigências de temperatura e induzir a germinação em sementes de algumas espécies como

Acer saccharum (Webb & Dumbroff, 1969), *Acer pseudoplatanus* (Pinfield & Stobart, 1972) e *Lactuca sativa* (Reynolds & Thompson, 1973), respectivamente. Diversos autores afirmam que as giberelinas estão envolvidas no controle da hidrólise de reservas, como, por exemplo, na indução da *síntese de novo* da α -amilase, enzima chave na hidrólise do amido, da qual depende o eixo embrionário para a retomada de seu crescimento. Segundo Levitt (1974), o ácido giberélico, considerado ativador enzimático endógeno, promove a germinação e sua aplicação exógena influencia o metabolismo protéico, podendo dobrar a taxa de síntese de proteínas das sementes (McDonald & Khan, 1983).

Apesar de *Ocimum gratissimum* L. ser uma espécie de ampla distribuição geográfica, pesquisas sobre a germinação de suas sementes são escassas. Na tentativa de maximizar o processo de germinação, através da ampliação do conhecimento biológico dessa espécie, objetivou-se, no presente trabalho, avaliar o efeito de diferentes regimes térmicos e a influência de diferentes concentrações de giberelina (GA_3) sobre o processo germinativo de sementes de *O. gratissimum* L., em condição de fotoperíodo de 12 horas com luz branca e sob escuro contínuo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi conduzido no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Sementes de *O. gratissimum* L. foram coletadas em maio de 2005, a partir de plantas adultas localizadas próximo ao campus da UFLA, no município de Lavras, na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e

longitude 45°00'W GRW. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março. As plantas de *O. gratissimum* L. foram previamente identificadas taxonomicamente, sendo que exsicatas foram depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA, sob o número de registro 20.0037.

4.1 Procedimento experimental

Após o beneficiamento, utilizando um soprador pneumático, as sementes foram previamente tratadas com Captan 2% para evitar o aparecimento de fungos (Brasil, 1992).

Os testes de germinação foram instalados seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 5 [duas condições de luz (presença e ausência) e cinco temperaturas (20, 25, 30 °C e alternadas de 15-25 e 20-30 °C)], com 4 repetições constituídas por 100 sementes por tratamento. Foram utilizadas caixas plásticas do tipo gerbox, forradas com folha dupla de papel germtest e umedecidas com água destilada na quantidade correspondente a 2,5 vezes o peso do substrato. Em seguida, estas caixas foram transferidas para câmaras de germinação (BOD) nas citadas temperaturas e sob fotoperíodo de 12 horas e condição de ausência de luz. A germinação foi avaliada a cada 24h durante um período de 28 dias, considerando germinadas as sementes com 2 mm de radícula (Duran & Tortosa, 1985; Junttila, 1976). No caso dos tratamentos conduzidos na ausência de luz, as caixas gerbox foram envolvidas em sacos de plástico preto, sendo as avaliações de germinação realizadas em ambiente sob luz verde de segurança.

Para avaliar a ação da giberelina (GA_3) na germinação das sementes de *O. gratissimum* L., foi conduzido um ensaio também em DIC com esquema

fatorial 2 x 5, sendo duas condições de luz (fotoperíodo de 12 horas em luz branca e escuro) e cinco soluções de GA₃ nas concentrações de 0, 25, 50, 100 e 200 mg.L⁻¹. As sementes foram pré-embebidas nas soluções de GA₃ por 24 horas, no escuro e sob condições de câmara de germinação em temperatura de 20-30°C. Após este pré-tratamento, seguiu-se a mesma metodologia do ensaio anterior, cuja temperatura empregada foi a alternada de 20-30°C, que proporcionou a melhor resposta das sementes quanto a germinação.

Nestes experimentos avaliou-se a germinabilidade (%G), o índice de velocidade de germinação (IVG), o tempo médio de germinação (TM) e o percentual de plântulas normais, segundo as equações a seguir:

$$\%G = (\sum n_i \cdot N^{-1}) \cdot 100$$

Em que $\sum n_i$ é o número total de sementes germinadas em relação ao número de sementes dispostas para germinar (N^{-1}).

$$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots G_n/N_n$$

Em que G é o número de sementes germinadas e N é o número de dias após a semeadura. Embora seja expresso sem unidades, esse índice relaciona o número de sementes germinadas por unidade de tempo.

$$TM = \sum n_i \cdot t_i / \sum n_i$$

Em que n_i é o número de sementes germinadas dentro de um intervalo de tempo t_{i-1} e t_i .

Os critérios utilizados para verificar plântulas normais foram observações de caracteres anatômicos visualmente íntegros, como radícula sem curvatura e com presença de pêlos absorventes em toda a sua extensão, caulículo ereto, cotilédones abertos e verdes.

4.2 Análise estatística

Para sua normalização, os valores de porcentagem de germinação foram transformados em $\text{arc.sen}(x/100)^{0,5}$ e submetidos à análise de variância (ANAVA), seguido de teste de Tukey ao nível de significância de 5% (Sokal & Rohlf, 1981).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito da temperatura e da luz na germinação e formação de plântulas de *O. gratissimum* L .

Os resultados do estudo referentes à influência da temperatura e da luz na germinação de sementes de *O. gratissimum* L. estão dispostos na Tabela 1.

Presença de luz, temperatura constante de 30°C e alternada de 20-30°C proporcionaram os melhores resultados de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio.

Comportamentos diferenciais foram observados nas sementes submetidas a temperaturas constante de 20°C e alternada de 15-25°C, quando foram observadas as maiores reduções quanto a germinabilidade, velocidade de germinação e plântulas normais e aumento no tempo médio de germinação.

A temperatura de 25°C proporcionou valores intermediários dos parâmetros avaliados. O fato de essa espécie apresentar maior germinabilidade em temperaturas mais elevadas é coerente com as condições climáticas predominantes nas regiões geográficas de onde ela é originária. Segundo Paton (1999), geograficamente, o gênero *Ocimum* é bem representado nas regiões quentes de ambos os hemisférios, sendo a África, Ásia e América do Sul os seus principais centros de diversidade.

TABELA 1. Valores médios de Germinabilidade (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio (TM) de germinação de sementes e percentual de Plântulas Normais de *O. gratissimum* L., submetidas a diferentes condições de luz e temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2006.

	Temperaturas (°C)	%G	IVG	TM	Plântulas Normais
Fotoperíodo 12 horas	20	48,00 a	6,22 d	8,22 a	33,50 b
	25	43,50ab	11,65 b	3,97 c	43,00 ab
	30	50,00 a	15,10 a	3,40 d	47,00 a
	15-25	35,00 b	7,36 c	5,10 b	33,50 b
	20-30	52,50 a	14,69 a	3,69 cd	52,25 a
Escuro contínuo	20	0,00 b	*	*	*
	25	0,00 b	*	*	*
	30	0,00 b	*	*	*
	15-25	10,25 a	1,63 a	5,34 a	*
	20-30	10,50 a	2,63 a	4,00 b	*

*As médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A ocorrência de germinabilidade inferior a 55% nesta espécie já fora relatada por Fiallo et al. (1996), fato este supostamente devido à dormência e/ou má formação embrionária nas sementes.

Os resultados de porcentagem final, bem como a velocidade e uniformidade obtidas no presente estudo demonstram, à semelhança de outros trabalhos (Carvalho & Nakagawa, 2000; Copeland & McDonald, 1995; Kraemer et al., 2000), o efeito marcante da temperatura sobre a germinação de sementes. Segundo Bewley & Black (1994) e Carvalho & Nakagawa (2000), a germinação de uma semente será tanto mais rápida e mais eficiente quanto maior for a temperatura, até certo limite.

O menor valor do tempo médio de germinação para as sementes de *O. gratissimum* L. foi observado à temperatura constante de 30°C. Como este parâmetro corresponde à média do tempo necessário para um conjunto de sementes germinarem, é provável que, sob temperaturas próximas de 30°C, sementes desta espécie venham a germinar mais rapidamente, evidenciando sua estratégia de aproveitamento de condições térmicas ambientais favoráveis para o desenvolvimento rápido e oportuno de um novo indivíduo. Portanto, infere-se que, para alcançar maior germinabilidade e uniformidade da cultura dessa espécie, a melhor época de semeadura das sementes seja no verão, quando as temperaturas estão próximas a 30°C.

Na Figura 1 estão dispostos graficamente os resultados da influência da temperatura na germinação.

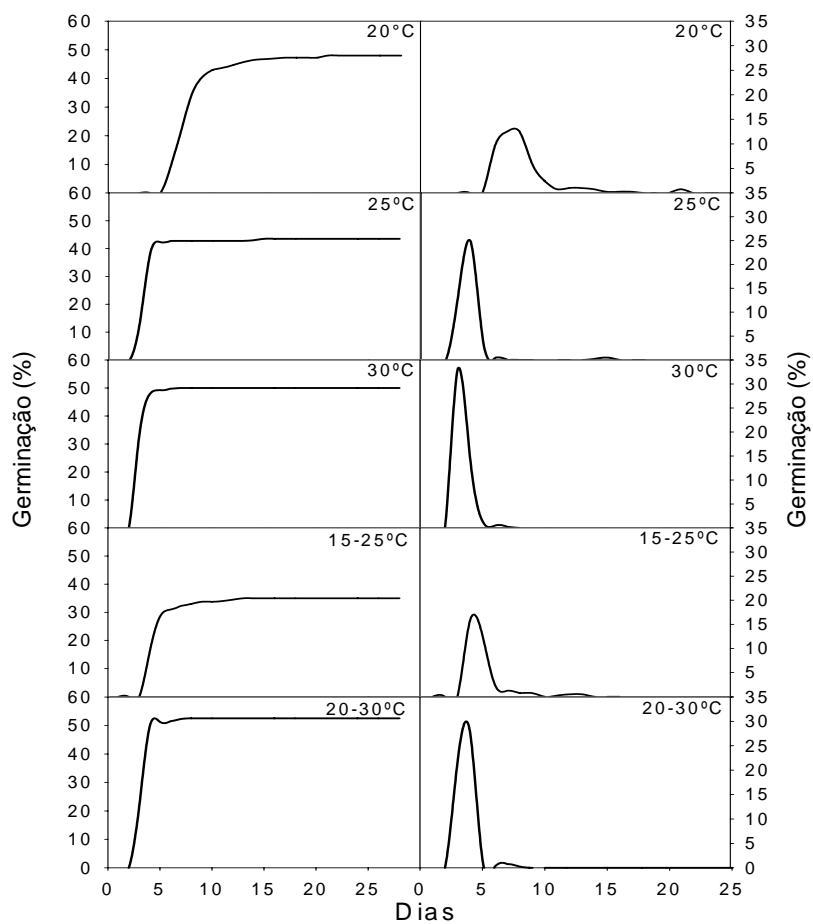


FIGURA 1. Curvas de germinação acumulada (esquerda) e não acumulada (direita) em resposta a diferentes temperaturas de incubação na presença de luz.

É possível verificar a maior germinabilidade e velocidade de germinação de *O. gratissimum* L. nas temperaturas de 20-30°C e 30°C. Já as curvas localizadas à direita da figura evidenciam o início, o fim e a distribuição da germinação ao longo do tempo de duração do experimento.

As curvas contidas na Figura 1 permitem observar que, sob temperatura de 20°C, a germinação ocorreu de forma mais escalonada no tempo, em relação às sementes submetidas a 20-30°C e 30°C, em que as sementes germinaram de forma mais rápida e uniforme. Isto indica que, com o aumento da disponibilidade energética para o processo germinativo, houve alterações na velocidade de germinação, assim como em seu sincronismo. Segundo Ferreira & Borghetti (2004), o fato de grande parte das sementes germinarem em curto espaço de tempo e de maneira uniforme sugere que a germinação não está ocorrendo ao acaso, mas respondendo a algum mecanismo de controle da germinação em nível bioquímico e/ou metabólico (neste caso, a temperatura), resultando na sincronização do processo.

As plântulas normais foram observadas em maior quantidade nos tratamentos com temperaturas mais elevadas (25°C, 30°C e 20-30°C), sendo que mais de 90% das sementes germinadas nessas condições originaram plântulas normais. A menor quantidade de plântulas normais ocorreu a 20°C e a 15-25°C, refletindo as baixas taxas de germinabilidade observadas nessas condições.

Na ausência de luz as sementes de *O. gratissimum* sob temperaturas constantes não germinaram. Entretanto, sob temperaturas alternadas, a porcentagem de germinação foi reduzida quando comparada com a das sementes submetidas à luz. O tempo médio nessas condições pode ser considerado como o parâmetro mais eficiente na verificação da cinética do processo germinativo, substanciado pela maior rapidez com que as sementes germinaram à temperatura alternada de 20-30°C .

Em geral, sementes pequenas como as de *O. gratissimum* L. respondem ao regime de alternância de temperatura, uma vez que são encontradas próximas à superfície do solo, região em que as flutuações térmicas são frequentes (Thompson, 1993; Thompson & Grime, 1983).

Fiallo et al. (1996) observaram, em seus estudos, que as sementes de *O. gratissimum* L. não germinaram na ausência de luz, fato este que levou os autores a classificarem-na como uma espécie heliófita. Por outro lado, comportamento semelhante ao das sementes de *O. gratissimum* L. encontrado neste experimento foi constatado por Silva & Matos (1998) trabalhando com *Triplaris surinamensis* Cham. Estes autores classificaram as sementes como fotoblásticas positivas preferenciais porque, apesar de germinarem em maior porcentagem sob luz branca, também apresentaram germinação na ausência de luz.

A resposta positiva da germinabilidade em relação à temperatura alternada de 20-30°C foi verificada também em outras espécies, como *Artocarpus integrifolia* (Coelho et al., 2004), *Cnidoculus phyllacanthus* (Silva & Aguiar, 2004) e *Passiflora giberti* (Duarte Filho et al., 2000). Copeland & McDonald (1995) afirmam que determinadas espécies apresentam melhor comportamento germinativo quando submetidas à alternância de temperatura. Segundo Rondon (2001), sob temperaturas alternadas, as sementes podem ter sua fotossensibilidade alterada.

5.2. Efeito de diferentes concentrações de GA₃ na germinação e formação de plântulas de *Ocimum gratissimum* submetidas à temperatura de incubação de 20-30°C, na presença e ausência de luz.

Na Tabela 2, nota-se que na presença de fotoperíodo de 12 horas, sementes pré-embebidas em diferentes concentrações de GA₃ (0, 25, 50, 100, 200 mg.L⁻¹) apresentaram a mesma germinabilidade, índice de velocidade de germinação e tempo médio em relação ao controle, fato que sugere, provavelmente, o inócuo efeito da giberelina sobre a cinética dos processos fisio-metabólicos que regulam a germinação dessa espécie.

TABELA 2. Valores médios de germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação de sementes de *O. gratissimum* submetidas a diferentes concentrações de regulador de crescimento GA₃. UFLA, Lavras, MG, 2006.

	Concentrações De GA ₃ (mg.L ⁻¹)	G %	IVG	TM	Plântulas Normais
Fotoperíodo 12 horas	0	50,00 a	15,97 a	3,20 a	48,72 a
	25	47,25 a	14,88 a	3,34 a	44,25 ab
	50	43,75 a	13,30 a	3,45 a	40,25 b
	100	48,75 a	15,29 a	3,36 a	46,25 ab
	200	44,00 a	13,95 a	3,25 a	41,75 b
Ausência de luz	0	16,75 c	3,79 c	4,56 a	*
	25	42,50 b	8,96 b	5,11 a	*
	50	44,25 b	9,67 b	4,97 a	*
	100	50,50 ab	13,21 a	4,02 b	*
	200	54,75 a	15,90 a	3,67 b	*

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

No entanto, as concentrações de 50 e 200 mg.L⁻¹ GA₃ testadas afetaram negativamente a quantidade de plântulas normais obtidas. Uma provável hipótese para explicar este fato é que, possivelmente, na fase inicial de desenvolvimento, as plântulas tiveram seus níveis hormonais alterados pela pré-embebição das sementes com GA₃, ocasionando anomalias morfológicas e, conseqüentemente, alterações no padrão de desenvolvimento das plântulas.

Fiallo et al. (1996), trabalhando com sementes *O. gratissimum*, analisaram o efeito da aplicação exógena de ácido giberélico em concentrações variadas de 50 a 1000 mg.L⁻¹ e constataram que a germinabilidade e as variáveis que definem a velocidade do processo germinativo são favorecidas quando as

sementes são imersas em concentrações iguais ou superiores a 500 mg.L⁻¹. No entanto, estes mesmos autores consideraram o tratamento das sementes com ácido giberélico na concentração de 250 mg.L⁻¹ (> 52% de germinação) como recomendável para a multiplicação sexual de *O. gratissimum* L., uma vez que os resultados obtidos em seu estudo não diferiram significativamente dos tratamentos de maior concentração.

Estes resultados permitem inferir que GA₃ atua alterando a resposta fotoblástica das sementes durante a germinação, fato este já observado em outras espécies. Os valores consideravelmente baixos de germinabilidade obtidos em *O. gratissimum* L. devem-se provavelmente ao fato de mais de 40% das sementes serem dormentes e/ou inviáveis (embriões mal formados). Nesta mesma espécie, o ácido giberélico (GA₃) na concentração de 100 mg.L⁻¹ mostrou-se efetivo na pré-embebição das sementes por superar uma eventual dormência endógena e acelerar o metabolismo, favorecendo, conseqüentemente, a germinação na ausência de luz sob temperaturas alternadas. Esta hipótese é substanciada por McDonald & Khan (1983), que suportam a idéia de que a aplicação exógena deste promotor influencia o metabolismo protéico, podendo até dobrar a taxa de síntese de proteínas das sementes. Cunha (1989), trabalhando com sementes de *Lactuca sativa* sob condições de escuro contínuo a 20°C, demonstrou que o ácido giberélico estimulou a germinação nas concentrações de 25; 50; 100 e 200 mg.L⁻¹. Em *Paulownia tomentosa* (Grubisic et al., 1988) e *Apium graveolens* (Thomas, 1989), espécies fotoblásticas positivas; a necessidade de luz para a germinação também pôde ser substituída pela aplicação exógena de giberelinas.

6 CONCLUSÕES

A germinabilidade das sementes de *O. gratissimum* L. não excedeu a 52,5%.

As sementes de *Ocimum gratissimum* L. apresentaram melhores resultados de germinabilidade, velocidade de germinação, tempo médio e plântulas normais na presença de luz, à temperatura alternada de 20-30°C e à temperatura constante de 30°C.

Quando incubadas na ausência de luz e sob temperaturas constantes, as sementes de *O. gratissimum* não germinaram.

As sementes de *O. gratissimum* L. podem ser consideradas fotoblásticas positivas preferenciais, uma vez que, sob temperaturas alternadas (15-25°C e 20-30°C), na ausência de luz, ocorre uma discreta germinação.

Na ausência de luz e sob temperatura alternada de 20-30°C, nas concentrações de 100 e 200 mg.L⁻¹ o GA₃ atuou de forma efetiva, promovendo os melhores valores de germinabilidade, IVG e tempo médio.

Na presença de luz, as concentrações de GA₃ não alteraram a germinabilidade, IGV e TM das sementes de *O. gratissimum* L.

A adição exógena de GA₃, nas concentrações de 50 e 200 mg.L⁻¹, proporcionou decréscimo na quantidade de plântulas normais.

Na ausência de luz, sob temperatura alternada 20-30°C, o GA₃ nas concentrações de 100 e 200 mg.L⁻¹ atuou de forma efetiva, promovendo os maiores valores de germinabilidade e IVG, sendo a concentração de 100 mg.L⁻¹ de giberelina (GA₃) indicada como tratamento pré-germinativo em sementes de *O. gratissimum* L. nessa condição.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACCHI, E. M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciência, um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996, p. 169-185.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BIANCO J.; GARELLO, G.; LEPAGE DEGIVRY, M. T. Release of dormancy in sunflower embryos by dry storage: involvement of gibberellins and abscisic acid. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 57-62, Mar. 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. p. 365.
- BROWN, N. A. C.; VAN STADEN, J. The effect of stratification on the endogenous cytokinin levels of seed of *Protea Compacta* and *Leucadendron daphnoids*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 28, n. 3, p. 388-392, Mar. 1973.
- CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CERRI, C. Ervas companheiras de viagem. **Globo Rural**, Rio de Janeiro, v. 10, p. 43-41, nov. 1995.
- COELHO, R. R. P.; OLIVEIRA, M. N.; BRUNO, R. L. A.; MENDONÇA, R. M. N. Germinação e vigor de sementes de jaca sob temperatura controlada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, SC, 2004, [s. p.].
- COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principle of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 1995. 409 p.
- CUNHA, R.; CASALI, W. D. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 121-132, ago. 1989.

DUARTE FILHO, J.; VASCONCELOS, M. A. S.; CARVALHO, C. M.; LEONEL, S. Germinação de sementes de *Passiflora giberti* N. E. Brown sob temperatura controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 468-470, dez. 2000.

DURAN, J. M.; TORTOSA, M. E. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock (*Sinapsis arvensis* L.) seeds. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 13, n. 1, p. 155-163, 1985.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FIALLO, V. R. F.; MEDINA, N. N. R.; FERRADÁ, C. R. Acerca de la propagación de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Cubana de Planta Medica**, La Habana, v. 1, n. 1, p. 3-7, 1996.

GRAPPIN, P.; BOUINOT, D.; SOTTA, B.; MIGINIAC, E.; JULLIEN, M. Control of seed dormancy in *Nicotiana plumbaginifolia*: post-imbibition abscisic acid synthesis imposes dormancy maintenance. **Planta**, Berlin, v. 210, n. 2, p. 279-285, Jan. 2000.

GRUBISIC, D.; KONJEVIC, R.; NESKOVIC, M. The effect of some growth regulators on light-induced germination of *Paulownia tomentosa* seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 72, n. 3, p. 525- 528, Mar. 1988.

HILHORST, H. W. M.; KARSSSEN, C. M. Dual effect of light on the gibberellin and nitrate-stimulated seed germination of *Sisymbrium officinale* and *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n. 2, p. 591-597, Feb. 1988.

HILHORST H. W. M.; KARSSSEN, C. M. Seed dormancy and germination: The role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. **Plant Growth Regul.**, Dordrecht, v. 11, n. 3, p. 225-238, Aug. 1992.

JUNTTILA, O. Seed and embryo germination in *Syringa vulgaris* and *S. reflexa* as affected by temperature during seed development. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 29, n. 2, p. 264-268, 1976.

KAMIYA, Y.; GARCIA-MARTINEZ, J. L. Regulation of gibberellin biosynthesis by light. **Current Opinion Plant Biology**, London, v. 2, n. 5, p. 398-403, Oct. 1999.

KRAEMER, K. H.; KÂMPF, A. N.; ÁQUILA, M. E. A. Luz e temperatura na germinação de sementes de *Tibouchina urvilleana*. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 6, n. 1/2, p. 39-45, 2000.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da OEA, 1983. 179 p.

LEVITT, J. **Introduction to plant physiology**. 2. ed. Saint Louis: The C. V. Mosby Company, 1974. 447 p.

LIMA, C. M. R.; BORGHETTI, F.; SOUSA, M. V. Temperature and germination of the Leguminosae *Enterolobium contortisiliquum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 97-102, ago. 1997.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 3. ed. Fortaleza: EUFC, 1998. 219 p.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.

McDONALD, M. D.; KHAN, A. A. Acid scarification and protein synthesis during seed germination. **Agronomy Journal**, Madison, v. 75, n. 2, p. 111-114, Mar./Apr. 1983.

MENEZES, N. L. de; FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T.; NUNES, E. P. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 32-37, 2004.

METZGER, J. D. Role of endogenous plant growth regulators in seed dormancy of *Avena fatua*: gibberellins. **Plant Physiology**, Rockville, v. 73, n. 3, p. 791-795, 1983.

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

- PAUL, K. B.; PATEL, C. S.; BISWAS, P. E. Changes in endogenous growth regulators in loblolly pine seeds during the process of stratifications and germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 28, n. 3, p. 530-534, 1973.
- PINFIELD, N. J.; STOBART, A. K. Hormonal regulation of germination and early seedling development in *Acer pseudoplatanus* (L.). **Planta**, Berlin, v. 104, n. 2, p. 134-145, 1972.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.
- REYNOLDS, T.; THOMPSON, P. A. Effects of kinetin giberelins and (+-) abscisic acid on the germination of lettuce (*Lactuca sativa*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 28, n. 3, p. 516-522, 1973.
- RONDON, J. N. Effects of moisture content and temperature during storage on germination of the achenes of *Bidens gardneri* Baker. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 35-41, jan./mar. 2001.
- SHEN, Q.; GOMEZ-CADENAS, A.; ZHANG, P.; WALKER-SIMMONS, M. K.; SHEEN, J.; HO, T. H. Dissection of abscisic acid signal transduction pathways in barley aleurone layers. **Plant Molecular Biology**, London, v. 47, p. 437-448, 2001.
- SILVA, L. M. M.; AGUIAR, E. B. de. Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidoculus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. (faveleira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 9-14, 2004.
- SILVA, L. M. M.; MATOS, V. P. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de coaçu (*Triplaris surinamensis* Cham.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 94-96, jan./abr. 1998.
- SKADSEN, R. W. Physiological and molecular genetic mechanisms regulating hydrolytic enzyme gene expression in cereal grains. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, n. 3, p. 486-502, Nov. 1998.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**. 2. ed. San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1981. 219 p.

THOMAS, T. H. Gibberellin involvement in dormancy-break and germination of seeds of celery. **Plant Growth Regulators**, Dordrecht, v. 8, n. 3, p. 255-261, Sept. 1989.

THOMPSON, K. Germination at alternating temperatures. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Ed.). **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 176-205.

THOMPSON, K.; GRIME, J. P. A comparative study of germination responses to diurnally fluctuating temperatures. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 20, n. 1, p. 141-156, 1983.

TOYOMASU, T.; KAWAIDE, H.; MITSUHASHI, W.; INOUE, Y.; KAMIYA, Y. Phytochrome regulates gibberellin biosynthesis during germination of photoblastic lettuce seeds. **Plant Physiol**, Rockville, v. 118, n. 4, p. 1517-1523, Dec. 1998.

WALKER-SIMMONS, M. K. Recent advances in ABA regulated gene expression in cereal seeds: evidence for regulation by PKABA1 protein kinase. In: BLACK, M.; BRADFORD, K. J., VÁZQUEZ-RAMOS, J. (Ed.). **Seed biology: advances and applications**. Wallingford, UK: CAB International, 2000. p. 271-276.

WEBB, D. P.; DUMBROFF, E. V. Factors influencing the stratification process in seeds of *Acer saccharum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 47, n. 10, p. 1555-1563, 1969.

WEBB, D. P.; WAREING, P. F. The effect of stratification on endogenous cytokinin levels in seeds of *Acer saccharum*. **Planta**, Berlin, v. 104, n. 2, p. 110-114, 1972.

CAPÍTULO V

**EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO NO
CRESCIMENTO, TEOR DE CLOROFILAS E CAROTENÓIDES E
ANATOMIA FOLIAR DE *Ocimum gratissimum* L.**

1 RESUMO

MARTINS, Joeferson Reis. Efeito de diferentes níveis de sombreamento no crescimento, teor de clorofilas e carotenóides e anatomia foliar de *Ocimum gratissimum* L. In: _____. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

A espécie *Ocimum gratissimum* L. é um subarbusto aromático pertencente à família Lamiaceae, considerado como importante produtor de óleo essencial, largamente utilizado na medicina popular. No presente estudo, objetivou-se avaliar características de crescimento, teores de clorofilas e carotenóides e anatomia foliar de *O. gratissimum* sob diferentes condições luminosas: pleno sol, sob malha preta (50%), malha vermelha (50%) e malha azul (50%). Os resultados indicam que a pleno sol ocorre maior acúmulo de matéria seca, menor área foliar, menor conteúdo de clorofila e maior de carotenóides, maior espessura foliar e maior densidade de tricomas tectores e glandulares. Sob malha azul, houve maior crescimento em altura e, dentre os tratamentos sombreados, este foi o que ocasionou maiores valores de matéria seca e área foliar. As plantas mantidas sob malha preta apresentaram, em geral, as menores taxas de crescimento; no entanto, o maior conteúdo de clorofila foi detectado neste tratamento. A radiação transmitida pela malha vermelha proporcionou a menor densidade de tricomas na face adaxial das folhas de *O. gratissimum*.

* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

2 ABSTRACT

MARTINS, Joeferson Reis. Effect of the different levels of shading on the growth, content of chlorophylls and carotenoids and leaf anatomy of *Ocimum gratissimum* L. In: _____. **Aspects of seeds germination and influence of light on the development, leaf anatomy and chemical composition of essential oil in *Ocimum gratissimum* L.** Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

The species *Ocimum gratissimum* L., is an aromatic subshrub, belonging to the family Lamiaceae, considered as an important producer of essential oil, widely utilized in folk medicine. In the present study, it was aimed to evaluate growth characteristics, contents of chlorophyll and carotenoids and leaf anatomy of *O. gratissimum* under different light conditions: Full sunshine, under a black mesh (50%), red mesh (50%) and blue mesh (50%). The results indicated that in the full sunshine, increased accumulation of dry matter, decreasing leaf area, lower content of chlorophyll and higher content of carotenoids, increased leaf thickness and greater density of tector and glandular trichomes occur. Under blue mesh, there was greater height growth and, among the shaded treatments, it was the one which provided greatest values of dry matter and leaf area. The plant maintained under black mesh, presented, in general, the lowest growth rates, nevertheless, the highest chlorophyll content was detected in this treatment. The radiation transmitted by the red mesh provided the lowest density of trichomes on the adaxial side of the leaves of *O. gratissimum*.

* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A alfavaca-cravo, *Ocimum gratissimum* L., conhecida também como alfavacão ou alfavaca, é um subarbusto aromático com até 1 m de altura, originário da Ásia e África e subspontâneo em todo território brasileiro (Lorenzi & Matos, 2000). Fiallo et al. (1996) classificaram essa espécie como planta de sol, heliófita. Segundo Correia Júnior et al. (1991), *O. gratissimum* L. pode ser considerada uma planta anual ou perene, dependendo do local em que é cultivada, apresentando-se como perene em regiões quentes e anual em regiões frias. Além de ser bem utilizada na culinária como condimento, esta espécie é importante produtora de óleo essencial, que lhe confere uma série de propriedades terapêuticas (Matos, 1998).

O Brasil, apesar de ser um país com uma imensa diversidade natural, apresenta uma escassez de pesquisas e informações a respeito do comportamento ecofisiológico de sua flora medicinal. Tais conhecimentos constituem ferramenta indispensável para a determinação das condições ideais de cultivo a fim de alcançar maiores índices de produção de matéria seca e princípios ativos de interesse farmacológico.

A radiação é um fator ambiental de fundamental importância para as plantas devido à sua ação direta ou indireta na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal. As adaptações sofridas pelas plantas em seu aparato fotossintético em resposta às condições de luminosidade ambiental refletem em seu crescimento global (Engel & Poggiani, 1991).

Essas respostas morfofisiológicas das plantas não dependem apenas da presença, atenuação ou ausência da luz, mas também da variação em qualidade luminosa. Morini & Muleo (2003) afirmam que as plantas desenvolveram uma série de fotorreceptores que regulam seu crescimento e desenvolvimento em

relação às variações da radiação luminosa incidente com o objetivo de aperfeiçoar a captação da energia para a fotossíntese. Segundo Larcher (2004), a radiação é percebida pelo sistema fitocromo, o qual ativa certos genes que conduzem o desenvolvimento e a diferenciação. O fitocromo é um pigmento protéico que absorve luz mais fortemente nas regiões do vermelho (650-680nm) e vermelho-distante (710-740nm), mas também absorve luz azul. Este pigmento é fotorreversível, ou seja, dependendo das condições luminosas, ele sofre mudanças conformacionais associadas às interconversões das duas formas principais: Fv e Fve. Sob a forma Fv, o fitocromo absorve a luz vermelha e se converte em Fve, que absorve luz na região do vermelho-distante e é a sua forma fisiologicamente ativa. Ambas as formas do fitocromo absorvem a luz na região do azul do espectro, de modo que a luz azul também pode converter Fv a Fve e vice-versa (Taiz & Zeiger, 2004).

Os fitocromos desempenham funções distintas nos vegetais, dentre as quais se destaca a capacidade que ele fornece às plantas de perceberem o sombreamento por outros indivíduos. Nesse caso, a razão luz vermelha/vermelho-distante diminui, induzindo plantas de sol a alocarem uma maior parte de seus recursos para o crescimento em altura; tal comportamento é conhecido como “resposta de evitação da sombra” (Taiz & Zeiger, 2004).

Alguns trabalhos relatam que a luz azul regula a expressão de certos genes envolvidos em vários processos morfogênicos importantes. De acordo com Tsunoyama et al. (2002), em *Arabidopsis*, o gene psbD do cloroplasto, que codifica a subunidade D2 do centro de reação do fotossistema II (PSII), é especificamente ativado pela luz azul. Em trabalho com *Commelina communis*, Schwartz & Zeiger (1984) observaram que, na presença de luz azul, ocorria um aumento na abertura estomática acima do nível alcançado sob luz vermelha saturante, o que indica a existência de um sistema de fotorreceptor diferente,

estimulado pela luz azul e que medeia os aumentos adicionais na abertura estomática.

Três fotorreceptores têm sido associados às respostas à luz azul: criptocromos, fototropinas e o carotenóide zeaxantina. Aos criptocromos tem sido atribuído importante papel na inibição do alongamento do hipocótilo e aumento na produção de antocianinas (Ahmad et al., 1998). As fototropinas estão envolvidas no fototropismo do hipocótilo (Taiz & Zeiger, 2004) e no movimento de cloroplasto (Sakai et al., 2001). O carotenóide do cloroplasto, zeaxantina, tem sido implicado na fotorrecepção da luz azul nas células guarda (Srivastava & Zeiger, 1995).

Diversos estudos de crescimento de plantas têm sido realizados na busca pelo conhecimento da ecofisiologia de diferentes espécies submetidas a condições de luminosidade variadas, seja pelo controle da radiação incidente, por meio do emprego de lâmpadas de diferentes comprimentos de ondas ou câmaras de crescimento (Cooley et al., 2000; Jeangros & Nosberger, 1992; Musil et al., 2002), ou pelo uso de telados ou plásticos redutores da radiação (Dale & Causton, 1992; Farias et al., 1997; Muroya et al., 1997; Pushpakumari & Sasidhar, 1992; Sharma, 1994; Vlahos et al., 1991).

Para avaliar o comportamento das espécies vegetais em relação à luz, algumas variáveis de crescimento têm sido utilizadas, sendo a altura, a produção de matéria seca, a área foliar e as relações entre a biomassa da parte aérea e radicular as variáveis mais frequentemente analisadas. Segundo Benincasa (1988), através da análise de crescimento é possível conhecer a cinética de produção de biomassa das plantas, sua distribuição e eficiência ao longo da ontogenia. Além disso, trata-se de um meio simples, preciso e útil no estudo de variações entre plantas sob diferentes condições de luminosidade, que possibilita inferir a contribuição de diferentes processos fisiológicos para o crescimento do vegetal.

A anatomia foliar também pode ser influenciada de forma marcante pela radiação recebida durante o crescimento, uma vez que a folha é um órgão muito plástico e sua estrutura interna adapta-se às condições do ambiente, evidenciando o potencial de aclimatação das espécies vegetais (Hanba et al., 2002; Schluter et al., 2003). Essas adaptações podem envolver significativas mudanças nos teores de pigmentos das folhas.

Whatley & Whatley (1982) afirmam que a luz é essencial à síntese de clorofilas e, por isso, diferenças nas condições de luminosidade podem acarretar variações em seus teores. Folhas de sombra, por exemplo, possuem concentração maior de clorofila (mg/g) do que as folhas de sol (Kramer & Kozlowski, 1979). Outros autores, como Ferraz & Silva (2001) e Fontes & Silva (2000), afirmam que geralmente não só a clorofila, mas também os carotenóides tendem a aumentar seus teores com a redução da intensidade luminosa. Entretanto, Engel & Poggiani (1991) encontraram resultados distintos para algumas espécies. Variações nas concentrações de clorofila e carotenóides nas plantas são indicativas, ainda, de estresse devido à alta luminosidade, freqüente sob condições tropicais (Strauss-Debenedetti & Bazzaz, 1996).

A anatomia foliar é altamente especializada para a absorção de luz, sendo que as propriedades do mesófilo, principalmente as do parênquima paliçádico, garantem a absorção uniforme da luz através da folha. Segundo Taiz & Zeiger (2004), em geral as folhas de sol são mais espessas e apresentam células paliçádicas mais longas do que as de sombra. Contudo, o aumento na espessura foliar, especialmente pela alongação ou adição de células paliçádicas, é associado a uma redução na resistência do mesófilo ao dióxido do carbono (Nobel, 1975), que pode levar a uma taxa fotossintética foliar mais elevada a pleno sol, em comparação com as plantas crescidas à sombra (Bjorkman, 1981).

Gonçalves (2001) observou que plantas de *Ocimum selloi* Benth. cultivadas em radiação solar plena apresentaram maiores espessuras nos

parênquimas foliares que as plantas cultivadas a 50% da radiação solar incidente; no entanto, o número total de estômatos e tricomas por folha foi maior nas plantas crescidas em sombreamento parcial. Resultados semelhantes foram obtidos por Atroch (1999), que verificou, em seus estudos com *Bauhinia forticata* Link., um maior espessamento do tecido paliçádico em plantas submetidas às maiores intensidades de luz. Lima Junior et al. (2006) relataram diferenças no número de estômatos nas plantas de *Cupania vernalis* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento e observaram, ainda, que o aumento no número de estômatos refletiu diretamente na condutância estomática.

Tendo em vista a importância da radiação sob os diversos aspectos ecofisiológicos nas espécies vegetais, no presente estudo objetivou-se avaliar o efeito da intensidade e qualidade espectral da luz com o uso de malhas de transmissão de luz diferenciada no crescimento vegetativo, nos teores de clorofilas e carotenóides e na anatomia foliar de plantas de *Ocimum gratissimum* L.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situada em Lavras, MG, no período de janeiro a junho de 2006, sob condições de viveiro. O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992). Os

dados referentes às temperaturas máxima, média e mínima, precipitação pluviométrica e umidade relativa média mensal, durante o período de condução do experimento, foram coletados na estação climatológica da UFLA e encontram-se na Figura 1.

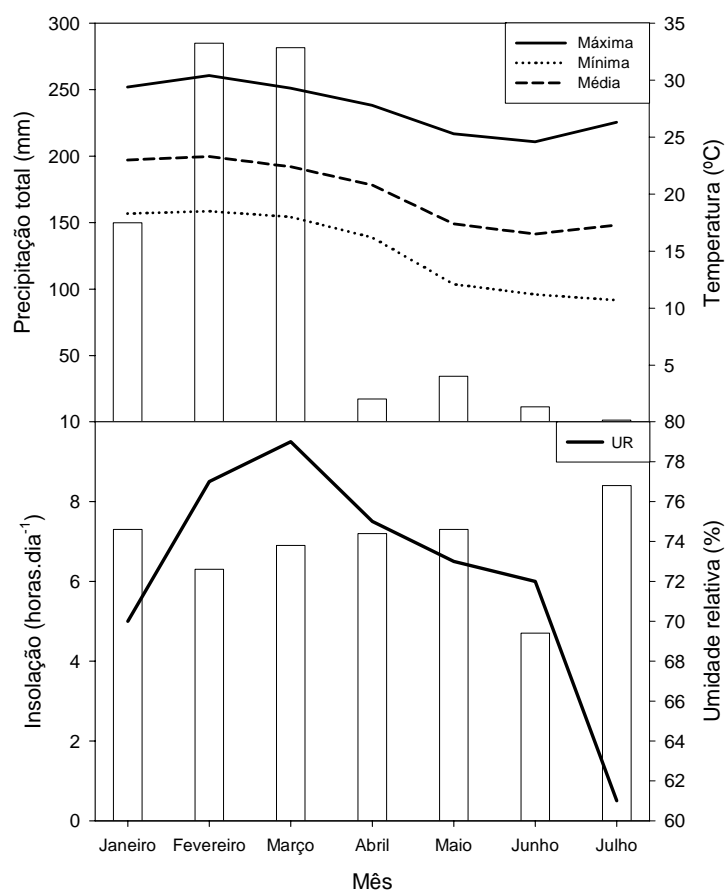


FIGURA 1. Dados de temperatura máxima, mínima e média (°C), precipitação pluviométrica (mm), insolação total (horas) e umidade relativa do ar (%) durante o período de janeiro a julho de 2006. UFLA, Lavras, MG, 2006.

As mudas foram formadas a partir de sementes provenientes de plantas adultas de *O. gratissimum* localizadas nas proximidades do campus da UFLA. Estas plantas foram previamente identificadas taxonomicamente e exsicatas foram depositadas no Herbário ESAL, do departamento de Biologia da UFLA, com o número de registro 20.0037.

As sementes coletadas foram semeadas em tubetes plásticos com substrato Plantmax® e mantidas à temperatura ambiente, em viveiro sob 50% de sombreamento, por um período de dois meses, até se estabelecerem. Após este período, as mudas de alturas similares (5-6 cm) foram selecionadas e divididas em 4 grupos de 50 unidades cada. Em seguida, foram transplantadas para tubo de PVC com dimensões de 15 x 30 cm contendo substrato à base de terra de subsolo e areia, na proporção de 2:1, previamente analisado no Laboratório de Solos da UFLA (Anexo 1A) e considerado muito argiloso pelas análises granulométricas. A partir dessas análises foram incorporados ao substrato superfosfato simples na proporção de 300g/m³, cloreto de potássio (300g/m³) e agrosilício (1000g/m³).

4.1 Ambiente de cultivo

As mudas de *O. gratissimum*, divididas em quatro grupos de 50 unidades cada, foram submetidas aos tratamentos de sombreamento. O primeiro tratamento consistiu em manter as mudas a pleno sol (0% de sombreamento), o segundo tratamento foi estabelecido sob malha preta, que segundo o fabricante atenua a radiação solar em 50%. No terceiro e quarto tratamentos, as mudas foram colocadas sob malhas especiais ChromatiNet vermelha 50% e ChromatiNet azul 50% (Figura 2). As malhas coloridas utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries®. De acordo com o fabricante, a malha ChromatiNet vermelha 50% reduz as ondas azuis, verdes e amarelas, acrescentando as ondas vermelha e vermelha-distante. Enquanto isso,

a malha azul 50% muda o espectro da luz, reduzindo as ondas na faixa do vermelho e vermelho-distante e acrescentando as ondas azuis.



FIGURA 2. Área experimental: Malha azul e vermelha.

A intensidade da radiação foi mensurada por meio de um quantômetro-fotômetro-radiômetro LI-COR, modelo LI-185, equipado com um sensor quântico. A radiação solar foi expressa em $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. No tratamento a pleno sol foi observada intensidade de $1500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, correspondendo a 100% da radiação incidente, sob malha preta $660 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (44%), sob malha vermelha $690 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (46%) e sob malha azul $650 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (43%). Essas medições foram feitas em 30/04/2006 às 12h00min, dia claro, sem presença de nuvens.

4.2 Avaliação do crescimento

Após o transplante, as plantas foram submetidas mensalmente à avaliação do crescimento, sendo analisadas as seguintes características: altura do ramo principal, diâmetro do caule, área foliar, matéria seca das folhas, caules e raízes, em 5 plantas de cada tratamento, tomadas ao acaso. A variável altura foi medida a partir do colo ao ápice da planta e o diâmetro do caule foi tomado a 1 cm do solo. As medidas foram realizadas com o auxílio de uma régua e um

paquímetro com precisão de 0,01 mm, para altura e diâmetro do caule, respectivamente.

A área foliar total por planta foi medida em 100% das folhas, utilizando-se um integrador de área foliar MODEL LI-3100 Area Meter marca LICOR.

Em seguida, as plantas foram separadas em folhas, caule e raízes. Todo o material foi acondicionado em sacos de papel devidamente identificados e colocados em estufa com circulação forçada de ar a $70 \pm 2^\circ\text{C}$, até peso constante. Após a secagem, o material foi pesado em balança analítica com precisão de 10^{-4} g para quantificar a distribuição de biomassa nas partes da planta.

A razão área foliar (RAF), razão peso foliar (RPF) e área foliar específica (AFE) foram determinadas a partir dos valores de área foliar (A) expressos em dm^2 , matéria seca por planta (P) e matéria seca das folhas (Pt), ambos expressos em gramas, empregando-se as seguintes equações, de acordo com Benicasa (1988):

$$\text{RAF}=\text{A/P} \quad \text{RPF}=\text{Pt/P} \quad \text{AFE}=\text{A/Pt}$$

A determinação dos teores de clorofila foi realizada ao final do experimento, a partir sete de folhas simples completamente expandidas do 4º nó abaixo do ápice das plantas, retiradas de sete plantas por tratamento, tomadas ao acaso. Essas folhas foram acondicionadas em papel alumínio e em caixa de isopor com gelo até serem transferidas ao laboratório. A quantificação das clorofilas *a*, *b* e total foi realizada segundo a metodologia de Arnon (1949). Imediatamente após este procedimento, fez-se a leitura da absorbância a 663 nm e 645 nm num espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B.

Os cálculos de mg de clorofila por g de matéria fresca de tecido foliar foram realizados utilizando-se as equações descritas a seguir:

Clorofila a = $[12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}] \times V/1000 W$

Clorofila b = $[22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}] \times V/1000 W$

Clorofila total = $[20,2 \times A_{645} - 8,02 \times A_{663}] \times V/1000 W$

Em que:

A= absorvância dos extratos nos comprimentos de onda indicados

V= volume final do extrato clorofiliano-cetônico

W= matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado

A extração e a quantificação dos carotenóides foram realizadas ao final do experimento segundo a metodologia descrita por Duke & Kenyon (1986), a partir de sete folhas maduras e completamente expandidas do 4º nó abaixo do ápice das plantas, coletadas e imediatamente acondicionadas em papel alumínio, as quais foram mantidas sob refrigeração. Os teores de carotenóides foram quantificados utilizando os coeficientes de absorvidade molar de Sandmann & Borger (1983), realizando-se a leitura espectrofotométrica a 445 nm.

4.3 Anatomia foliar

4.3.1 Microscopia de luz (ML)

Foram coletadas 10 folhas do 4º nó abaixo do ápice de plantas, tomadas ao acaso em cada tratamento. As folhas foram fixadas em álcool 70% para a confecção de lâminas para os estudos anatômicos. Os cortes foram realizados a mão livre, na região mediana das folhas, com a utilização de lâmina de aço e submetidos à clarificação em solução de 50% de hipoclorito de sódio, sendo, em seguida, lavadas em água destilada, neutralizadas em solução acética a 1% e montadas em glicerina a 50%. A coloração com safranina e azul de astra foi realizada de acordo com os métodos descritos por Bukatsch (1972).

A determinação da densidade estomática foi realizada por seções paradermicas da epiderme nas faces adaxial e abaxial. A contagem de estômatos foi realizada em microscópio Olympus CBB, com o auxílio de uma câmara clara, segundo Labouriau et al. (1961), em 4 campos da região mediana de 5 folhas provenientes de plantas distintas, perfazendo um total de 20 campos por tratamento. Os diâmetros polar e equatorial dos estômatos foram medidos em microscópio KEN-A-VISION 2100, em ambas as faces das folhas.

A espessura foliar foi avaliada por meio de seções transversais na região mediana de 5 folhas provenientes de plantas distintas de cada tratamento. As medições foram realizadas em microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica. As medidas foram realizadas em 4 campos por folha, perfazendo um total de 20 medições para cada tecido foliar, por tratamento. Foram avaliadas as espessuras das epidermes das faces adaxial e abaxial dos parênquimas paliádico e esponjoso e do limbo.

4.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

O preparo das amostras e as observações em MET foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Fragmentos de aproximadamente 0,5 cm² foram retirados da porção mediana de 5 folhas de cada tratamento, localizadas no 4^o nó abaixo do ápice, e fixados numa solução composta de glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0, 0,05 M + CaCl₂ 0,001 M por, aproximadamente, quatro horas, em temperatura ambiente.

Posteriormente, esses fragmentos foram lavados em tampão cacodilato 0,05 M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05 M por 4 horas. Em seguida, iniciou-se a desidratação em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% por 10 minutos e três vezes em

100% por 10 minutos). Logo após, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30% por 8 horas, a 70% por 12 horas e duas vezes a 100%, em intervalos de 24 horas, sendo os tecidos emblocados em resina pura e colocados em estufa a 70°C por 48 horas para a polimerização. Os blocos obtidos foram desbastados com lâminas de aço para a retirada da resina excedente. Foram realizados os cortes em seções semifinas (1 µm) e ultrafinas (<100 nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung com navalha de diamante.

Os cortes semifinos foram coletados com anel de ouro, colocados em lâminas de vidro, coloridos com azul de toluidina (1 g de azul de toluidina, 1 g de borato de sódio e 100 mL de água purificados por meio de filtro Millipore 0,2 µm) e montados permanentemente em meio Permalt. Os cortes ultrafinos foram coletados em grades de ouro (*golden slot grids*), secos em raques de alumínio cobertos com formvar (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo por 3 minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 109. As características observadas para as análises ultraestruturais foram o número, a área, o perímetro e o comprimento dos cloroplastos e área e perímetro dos grãos de amido, em células do parênquima paliçádico.

4.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para a observação da superfície foliar quanto à presença de tricomas glandulares e não-glandulares, coletaram-se 5 folhas de cada tratamento, localizadas no 4º nó abaixo do ápice da planta, das quais foram retirados fragmentos da região mediana, com aproximadamente 0,3 mm² e fixados em solução Karnovsky por um período de 24h; em seguida, foram lavados em tampão cacodilato a 0,05 M por três vezes de 10 minutos cada e pós-fixadas em

tetróxido de ósmio a 1%, durante 4 horas. Para a observação das estruturas internas da folha, foram realizados cortes transversais em alguns fragmentos em nitrogênio líquido. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em acetona numa série progressiva (25%, 50%, 75%, 90% e 100% três vezes por 10 minutos), submetidas ao ponto crítico de dessecação de CO₂ em equipamento BAL-TEC, CPD-030, fixadas no suporte metálico com cola de prata e recobertas com ouro metálico (10 nm), em aparelho BAL-TEC, SCD-050. O material foliar preparado foi observado e eletromicrografado em microscópio eletrônico de varredura LEO-EVO 40, XVP. Para a determinação da densidade de tricomas foram escolhidos, aleatoriamente, 10 campos de observação com mesma área (0,678 mm²), nas epidermes adaxial e abaxial.

4.4 Análises estatísticas

Os ensaios foram conduzidos seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos representados por quatro tratamentos de luz (pleno sol 0%, 50% malha preta, 50% malha vermelha e 50% malha azul), sendo a unidade experimental constituída de uma planta na avaliação de crescimento e, nos estudos anatômicos, de um campo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999) e as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise de crescimento

Verifica-se, pelos dados obtidos, que o padrão de desenvolvimento das plantas variou em função dos ambientes a que foram submetidas. Através da Figura 3 é possível observar que o crescimento em altura e matéria seca total, em função da idade da planta, obedeceu a regressões logarítmicas. A variação da área foliar ao longo do tempo de experimento pode ser explicada por meio de regressões quadráticas. Na Tabela 1 estão dispostos os resultados, em médias, da análise de crescimento realizada ao final do experimento.

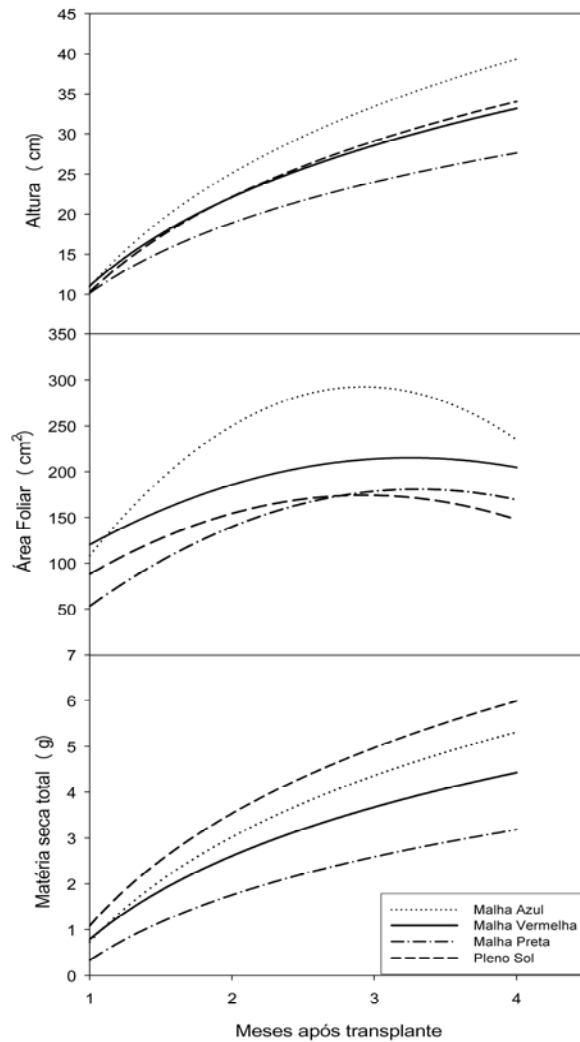


FIGURA 3. Altura (cm), Área foliar (cm²) e Matéria seca total (g) de plantas jovens de *O. gratissimum* cultivadas em diferentes condições luminosas, em relação ao tempo de experimento. Equações da regressão: Altura (cm): pleno sol $y = 17,126\text{Ln}(x) + 10,294$, $R^2 = 0,9715$; malha preta $y = 12,602\text{Ln}(x) + 10,168$, $R^2 = 0,9768$; malha vermelha $y = 15,964\text{Ln}(x) + 11,052$, $R^2 = 0,9551$ e malha azul $y = 20,49\text{Ln}(x) + 10,915$, $R^2 = 0,9794$. Área Foliar (cm²): pleno sol : $y = -23,153x^2 + 135,61x - 24,209$ $R^2 = 0,9142$; malha preta: $y = -23,959x^2 + 158,49x - 81,21$ $R^2 = 0,9758$; (...continua...)

FIGURA 3. Cont. malha vermelha: $y = -45,045x^2 + 242,7x - 87,775$ $R^2 = 0,9511$ e malha azul: $y = -49,672x^2 + 290,53x - 132,28$ $R^2 = 0,9998$. Matéria seca total (g): pleno sol $y = 3,5399\text{Ln}(x) + 1,0826$, $R^2 = 0,976$; malha preta $y = 2,0552\text{Ln}(x) + 0,3314$, $R^2 = 0,9485$; malha vermelha $y = 2,6255\text{Ln}(x) + 0,7889$, $R^2 = 0,949$; malha azul $y = 3,3043\text{Ln}(x) + 0,7314$, $R^2 = 0,9938$. UFLA, Lavras, MG, 2006.

TABELA 1. Altura, Diâmetro do colo, Matéria Seca (MS) de folhas, caules, raízes e total e razão Raiz/Parte aérea de plantas jovens de *O. gratissimum*, submetidas a diferentes condições de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Parâmetros	Sombreamentos			
	Pleno sol (0%)	Malha preta (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha azul (50%)
Altura (cm)	32,36 b	26,70 c	31,90 bc	38,30 a
Diâmetro do Colo (cm)	0,44 a	0,34 b	0,37 ab	0,40 ab
MS folha (g)	1,61 a	1,36 b	1,76 a	1,67 a
MS caule (g)	1,44 ab	0,93 b	1,28 b	1,74 a
MS raiz (g)	2,59 a	1,19 c	1,66 b	1,99 ab
MS total (g)	5,65 a	3,50 c	4,71 b	5,40 ab
Raiz/Parte aérea	0,84 a	0,52 b	0,54 b	0,59 b

*Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As plantas sob malha azul foram as que apresentaram maior crescimento em altura durante toda a condução do experimento (Figura 3). Oren-Shamir et al. (2001) informaram em seu trabalho, no qual foi utilizado o mesmo tipo de malha azul, que a mesma possibilita maior transmissão para os comprimentos de onda na faixa do azul e vermelho-distante. Portanto, este aumento em altura nas plantas sob esta condição pode ser explicado como uma

resposta de evitação à sombra, uma vez que, provavelmente, o ambiente de cultivo encontrava-se enriquecido com radiação vermelho-distante, que possibilitou uma baixa razão de fitocromo vermelho-distante para fitocromo total (F_{ve}/F_{total}). Segundo Morgan & Smith (1979), para as heliófitas, quanto maior o conteúdo de radiação vermelho-distante, maior é a taxa de alongamento do caule. Ao final do experimento, esse crescimento diferenciado das plantas mantidas sob malha azul foi estatisticamente significante (Tabela 1).

As plantas submetidas ao tratamento com malha preta foram as que apresentaram menor crescimento em altura e aquelas submetidas aos tratamentos com malha vermelha e pleno sol obtiveram crescimentos intermediários.

A Figura 3 evidencia que as plantas mantidas a pleno sol tiveram menores áreas foliares que os demais tratamentos. Diversos autores verificaram um rápido aumento da superfície fotossintetizante como forma de as plantas assegurarem um aproveitamento maior das baixas intensidades luminosas (Farias et al., 1997; Muroya et al., 1997; Vlahos et al., 1991). Observa-se, ainda, que a radiação diferenciada proporcionada pela malha azul induziu as plantas de *O. gratissimum* a apresentarem as maiores áreas foliares dentre os tratamentos (Figura 3). Estas alterações morfológicas contrastantes entre o tratamento com malha azul e as demais malhas mostram que a qualidade espectral da radiação solar pode ser facilmente modulada para a obtenção de características morfológicas específicas.

As plantas de *O. gratissimum* L. crescidas a pleno sol e sob malha azul acumularam maior quantidade de matéria seca total (Tabela 1), mostrando que a produção de biomassa total nos indivíduos dessa espécie foi influenciada tanto pela intensidade quanto pela qualidade espectral da luz solar. Segundo Larcher (2004), as plantas heliófitas estão aptas a utilizar melhor altas intensidades de radiação graças à elevada capacidade de transporte do sistema eletrônico e, desta forma, conseguem maiores ganhos fotossintéticos.

A razão raiz/parte aérea foi expressivamente maior a pleno sol (Tabela 1), o que indica uma alocação preferencial de matéria seca para o sistema radicular. Resultado similar foi encontrado por Rezende (2004) em plantas de *Campomanesia rufa* crescidas a pleno sol, as quais apresentaram maiores acúmulos de matéria seca nas raízes e, conseqüentemente, maior relação raiz/parte aérea em comparação a indivíduos mantidos sob sombreamento.

Lima Júnior (2004), analisando o crescimento de *Cupania vernalis* Camb. sob diferentes níveis de sombreamento, relatou que o crescimento da parte aérea foi reduzido nas plantas cultivadas a pleno sol em relação àquelas sob 30% e 50% de sombreamento. Este autor, porém, não observou diferença significativa na massa seca do sistema radicular das plantas entre os tratamentos testados.

Thompson et al. (1992) e Walters et al. (1993) sugerem que a menor distribuição de matéria seca para raízes quando as plantas são submetidas a condições de menor luminosidade provavelmente revela uma resposta adaptativa que proporciona maiores ganhos de carbono, como um aumento na razão de área foliar, ou que reflita numa estratégia buscando luminosidade, como um aumento na altura.

Comparando o acúmulo de matéria seca entre os tratamentos sob malhas, observa-se uma diferença significativa nas plantas sob malha azul, ou seja, a intensificação de radiação azul causada por essa malha estimulou o maior acúmulo de biomassa em relação às malhas preta e vermelha. De acordo com Taiz & Zeiger (2004), as plantas utilizam a luz azul como fonte de energia e um sinal que fornece informações sobre o ambiente. Tais informações são traduzidas em processos metabólicos que permitem às plantas alterarem seu crescimento e desenvolvimento. As respostas à luz azul podem incluir biossíntese de pigmentos e regulação de genes envolvidos em vários processos morfo genéticos importantes, como, por exemplo, os que codificam a enzima

chalcona sintase, que catalisa a biossíntese da pequena subunidade da rubisco, e as proteínas, que ligam as clorofilas *a* e *b*. Dessa forma, é possível inferir que tenha ocorrido maior eficiência do processo fotossintético nas plantas nesse ambiente.

Nas plantas crescidas a pleno sol e nas sob malha azul, as proporções de investimento de biomassa nas folhas foram semelhantes, porém estes tratamentos diferiram quanto à alocação de matéria seca às demais partes (Figura 4). As plantas a pleno sol foram as que mais alocaram biomassa para o sistema radicular. Todos os demais tratamentos, sob malhas coloridas, não diferiram estatisticamente quanto à proporção de biomassa seca alocada para a raiz. Isto evidencia que a alocação de matéria seca para as raízes em *O. gratissimum* ocorre preferencialmente em função da intensidade luminosa.

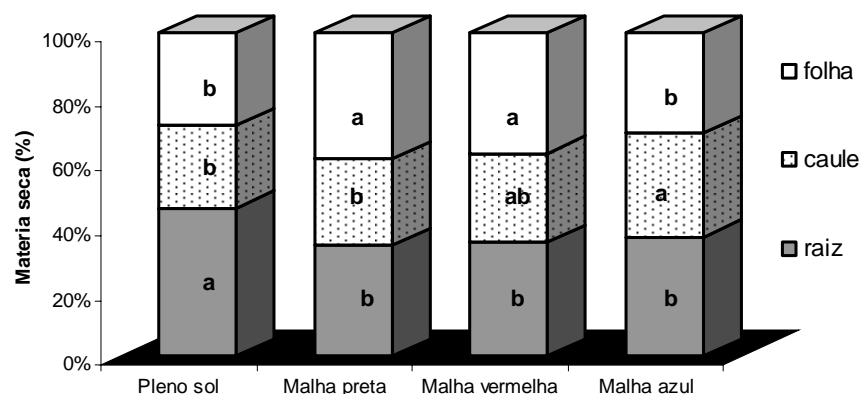


FIGURA 4. Particionamento de biomassa seca pelas plantas jovens de *O. gratissimum*, submetidas a diferentes condições de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Vários trabalhos têm demonstrado o acúmulo de matéria seca na raiz em plantas cultivadas ao pleno sol (Groninger et al. 1996; Ke & Werger, 1999). Dias-Filho (1997), trabalhando com *Solanum crinitum*, espécie pioneira, evidenciou que a distribuição de biomassa para as raízes em baixa luminosidade

foi reduzida de 15% em relação a plantas a pleno sol. Para Claussen (1996), indivíduos de uma mesma espécie com sistemas radiculares mais desenvolvidos em determinada condição têm mais habilidade de aclimatação do que aqueles com sistemas radiculares reduzidos, pois podem absorver maior quantidade de água e nutrientes, estratégia que garante maior capacidade para suportar as maiores taxas de fotossíntese e transpiração que ocorrem nestes ambientes. Por outro lado, para Chapin et al. (1987), um padrão de alocação de biomassa que prioriza os órgãos aéreos sob condições de sombreamento permite maior captação de luz pelas plantas, otimizando o processo fotossintético em um ambiente onde a luz limita a fotossíntese.

As plantas de *O. gratissimum* L. submetidas à malha azul foram as que mais alocaram matéria seca no caule (Figura 4), estando esse resultado diretamente relacionado ao alongamento do caule como uma resposta de evitação de sombra (Figura 3), típica de espécies heliófitas submetidas a altos níveis de radiação na faixa espectral do vermelho-distante (Morgan & Smith, 1979; Taiz & Zeiger, 2004). Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente quanto à proporção de biomassa seca alocada para o caule.

As plantas sob malhas preta e vermelha não diferiram entre si quanto à proporção de alocação de biomassa seca para folhas, caules e raízes (Figura 4). Isto informa que a intensificação de radiação na faixa espectral do vermelho proporcionada pela malha vermelha não ocasionou variação na distribuição de fotoassimilados. No entanto, a quantidade de biomassa seca total superior nas plantas sob malha vermelha, evidente na Tabela 1, permite inferir a ocorrência de uma maior eficiência fotossintética das plantas neste ambiente em relação às crescidas sob malha preta.

5.1.1 Área foliar específica, razão de área foliar, razão de peso foliar.

As avaliações dos parâmetros área foliar específica (AFE), razão área foliar (RAF) e razão de peso foliar (RPF) foram realizadas ao final de experimento e os resultados estão na Figura 5.

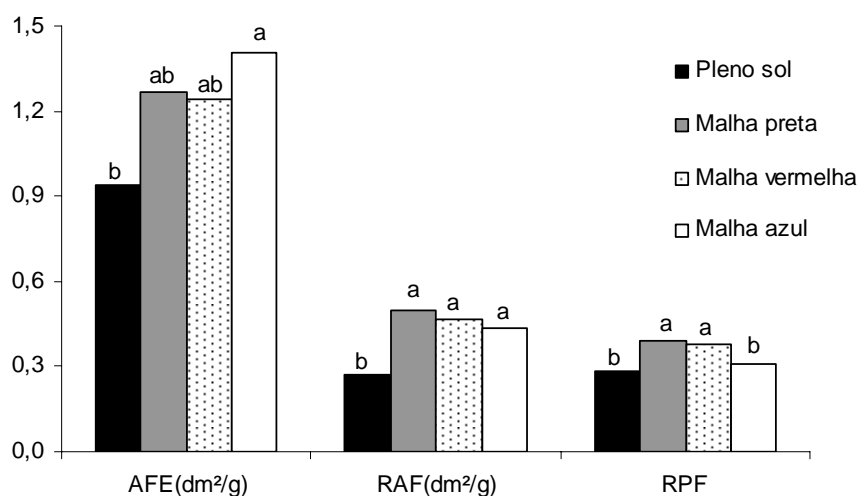


FIGURA 5. Valores da Área Foliar Específica (AFE), Razão de Área Foliar (RAF) e Razão Peso Foliar (RPF) em plantas de *O. gratissimum* submetidas a diferentes condições de luminosidades. UFLA, Lavras, MG, 2006. *As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A AFE, que é um indicativo da espessura da folha e estima a proporção relativa da superfície assimilatória e os tecidos de sustentação e condutores da folha (Magalhães, 1979), foi mais reduzida na condição de pleno sol, indicando que as folhas de *O. gratissimum* tornam-se mais espessas quando as plantas são mantidas em local sem nenhum tipo de sombreamento (Figura 5). De acordo com Larcher (2004), as plantas que crescem sob forte radiação desenvolvem folhas espessas e apresentam um metabolismo mais ativo; como consequência,

essas plantas apresentam uma maior produção de matéria seca com um maior conteúdo energético. Tal afirmação está de acordo com o verificado na espécie estudada (Figura 3 e Tabela 1).

As plantas mantidas sob malhas preta, vermelha e azul não evidenciaram diferenças estatísticas entre si quanto à AFE. No entanto, observa-se que as plantas sob malha azul tiveram o maior valor de AFE, indicando que as folhas de *O. gratissimum* apresentam grande plasticidade fenotípica em resposta não somente à intensidade luminosa, mas também à qualidade espectral da luz. Este resultado está de acordo com os observados para área foliar na Figura 3.

Sob condições de sombreamento de 50%, sob malhas preta, vermelha e azul, não houve diferenças significativas de RAF. No entanto, os valores de RAF das plantas sombreadas foram superiores aos das plantas crescidas a pleno sol. De acordo com Patterson (1980), aumentos na RAF constituem uma adaptação da planta à baixa luminosidade, representando maior proporção de tecido fotossinteticamente ativo na forma de área foliar, estrutura interceptadora de luz por excelência. A baixa RAF verificada no tratamento em pleno sol pode ser considerada como benéfica, uma vez que menos material vegetal é exposto a eventuais danos causados por excesso de luz (Claussen, 1996).

As plantas crescidas em ambiente de pleno sol e as sob malha azul apresentaram menores valores de RPF que as plantas sob malhas preta e vermelha. Isto informa que *O. gratissimum* sob pleno sol ou sob malha azul aloca menos fotoassimilados para as folhas em relação aos demais tratamentos.

5.2 Conteúdo de clorofilas e carotenóides

A análise dos conteúdos de clorofilas e carotenóides revelou significativa variabilidade nos tratamentos submetidos a diferentes condições luminosas (Tabela 2).

TABELA 2. Teores de clorofilas *a*, *b* e total (mg.g^{-1} de matéria fresca), relação clorofila *a/b* e teores de carotenóides totais em folhas de plantas de *O. gratissimum* submetidas a diferentes condições de luminosidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pigmentos cloroplastídicos	Sombreamentos			
	Pleno sol (0%)	Malha preta (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha azul (50%)
Clorofila <i>a</i>	0,194 c	0,413 a	0,249 bc	0,308 b
Clorofila <i>b</i>	0,060 c	0,141 a	0,092 b	0,111 b
Clorofila total	0,254 c	0,554 a	0,341 bc	0,419 b
Clorofila <i>a/b</i>	3,230 a	2,929 b	2,706 c	2,774 bc
Carotenóides Totais	1662,55 a	951,05 c	1285,17 b	1136,92 bc

*Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em plantas a pleno sol, o teor de clorofilas *a*, *b* e total foi reduzido em relação às plantas dispostas sob sombreamentos. Diversos trabalhos, como os de Atroch (1999), Castro (2002), Engel & Poggiani (1991), Ferraz & Silva (2001), Fontes & Silva (2001), Gomes (2004), Lee et al. (2000), Lima Júnior (2004) e Naves (1993), também relatam maiores teores de clorofilas em plantas sombreadas em relação às de pleno sol. Fica evidente que a quantidade de radiação influencia fortemente os teores de pigmentos cloroplastídicos.

Dentre as plantas sombreadas, as que cresceram sob malha preta obtiveram maior produção de clorofilas *a*, *b* e total. As alterações no conteúdo dos pigmentos em resposta à composição espectral da luz constituem uma adaptação cromática que proporciona vantagem ecológica em virtude da melhoria no desempenho fotossintético da planta (Larcher, 2004).

Nas plantas sombreadas, a razão clorofila *a* e *b* foi menor que nas plantas pleno sol. A razão entre clorofila *a* e *b*, de maneira geral, tende a

diminuir com a redução da intensidade luminosa (Boardman, 1977; Kozlwshi, 1991), devido a uma maior proporção relativa de clorofila *b* em ambientes sombreados, que pode estar associada à sua degradação mais lenta em relação à clorofila *a* (Engel & Poggiani, 1991). O aumento da proporção de clorofila *b* é uma característica importante de ambientes sombreados, uma vez que ela capta energia de outros comprimentos de onda e a transfere para a clorofila *a*, maximizando, assim, a captura de luz que efetivamente atua nas reações fotoquímicas da fotossíntese (Critchley, 1999).

A menor razão clorofila *a/b* foi verificada em plantas sob malha vermelha. Estes resultados revelam que *O. gratissimum* dispõe de diferentes estratégias no acúmulo e uso dos pigmentos fotossintéticos em ambientes com variações na disponibilidade e composição espectral da luz.

Quanto aos teores de carotenóides pode-se verificar, na Tabela 2, que as plantas submetidas a pleno sol produziram maiores quantidades destes pigmentos em relação às plantas mantidas sob sombreamento. Tal resultado pode ser compreendido pelo fato de esses pigmentos funcionarem como fotoprotetores por meio do rápido *quenching* dos estados excitados da clorofila (Taiz & Zeiger, 2004). Semelhantemente, Gonçalves et al. (2001), trabalhando com mogno e cumaru sob dois ambientes de luz, verificaram que os teores de carotenóides ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MF) foram sempre maiores no ambiente de pleno sol.

Nos tratamentos sob malhas vermelha e azul, constataram-se teores intermediários de carotenóides, enquanto os menores teores foram verificados em plantas sob malha preta. Esta informação permite inferir que, em *O. gratissimum*, a qualidade espectral influencia marcadamente a biossíntese e o acúmulo de carotenóides. García-Plazaola et al. (1999), em trabalhos com *Quercus ilex*, observaram aumentos consideráveis nos teores de carotenóides e antioxidantes (ascorbato, glutatona e α -tocoferol) em folhas a pleno sol em

relação às folhas de sombra, e atribuíram esse fenômeno à capacidade de resistência à fotooxidação por excesso de luz.

De acordo com Weaver & Wrigley (1994), citados por Richardson (1996), todos os carotenóides absorvem fortemente a energia na mesma área do espectro de radiação (do ultravioleta ao azul), mas a forma do espectro de absorção de cada carotenóide é única. Os carotenóides constituem integralmente as membranas dos tilacóides e estão, em geral, intimamente associados aos pigmentos protéicos das antenas e dos centros de reação. A luz absorvida pelos carotenóides é transferida à clorofila para o processo de fotossíntese. Logo, as plantas sob malha azul foram, provavelmente, beneficiadas na captação de radiação em relação às demais sombreadas, uma vez que os carotenóides absorvem a luz na região dos 400-500 nm, faixa da luz azul do espectro.

5.3 Anatomia foliar

5.3.1 Microscopia de Luz

5.3.1.1 Avaliações das seções transversais

A folha de *O. gratissimum* L. foi caracterizada como dorsiventral e anfilipoestomática, as epidermes adaxial e abaxial uniestratificada e o parênquima paliçádico são constituídos por camada única de células; já o parênquima lacunoso apresentou variações de 4 a 6 camadas (Figura 6). As folhas das plantas crescidas a pleno sol apresentaram as espessuras do parênquima paliçádico, do parênquima lacunoso e a espessura do limbo maior que das plantas crescidas em sombreamento parcial (Tabela 3), o que corrobora os resultados de AFE.

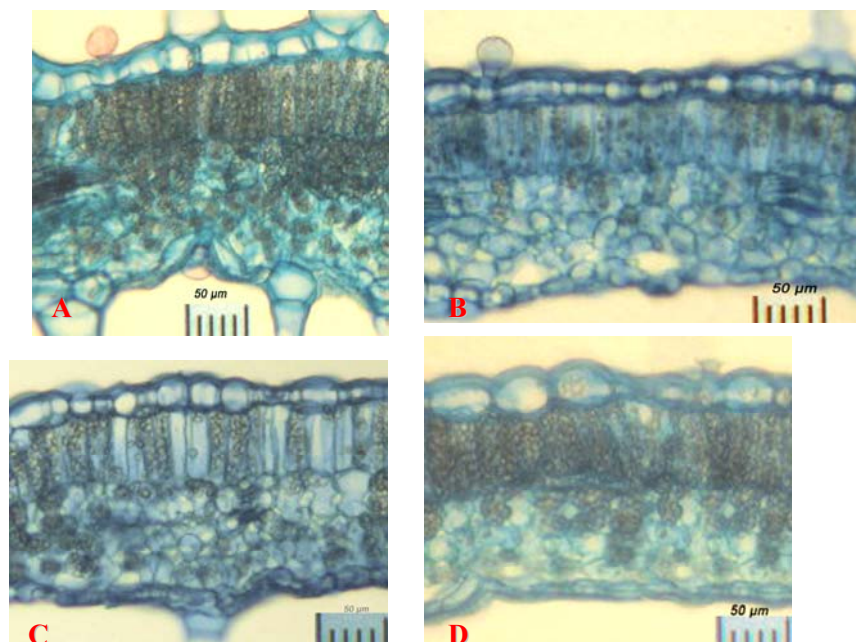


FIGURA 6. Secções transversais da folha de *Ocimum gratissimum* submetidas às diferentes condições de luminosidades. A- Pleno sol, B- Malha preta, C- Malha vermelha, D- Malha azul. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Foi observado maior alongamento das células do parênquima paliçádico e maiores espaços intercelulares no parênquima lacunoso nas folhas a pleno sol e sob luz azul. Segundo Silva & Anderson (1985), nas plantas crescidas em altas intensidades luminosas, o mesofilo é, geralmente, mais desenvolvido, com as células do parênquima paliçádico mais altas e justapostas.

De acordo com Larcher (2004), nos espaços intercelulares a radiação é totalmente refletida. Dessa forma, pode-se inferir que a maior quantidade de espaços intercelulares presentes em plantas crescidas sob forte radiação constitui um mecanismo adaptativo para a reflexão do excesso de radiação.

TABELA 3. Espessura (μm) dos tecidos epidérmicos, parênquima paliçádico e lacunoso e espessura total de folhas de plantas de *O. gratissimum* submetidas a diferentes condições de luminosidade. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Estrutura Foliar	Sombreamentos			
	Pleno sol (0%)	Malha preta (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha azul (50%)
Epiderme adaxial	24,84 a	21,15 a	22,65 a	21,45 a
Epiderme abaxial	16,08 a	13,83 a	14,01 a	14,19 a
Parênquima paliçádico	71,55 a	51,30 b	54,96 b	54,00 b
Parênquima lacunoso	120,81 a	73,65 b	73,05 b	72,15 b
Limbo foliar	233,28 a	159,93 b	164,67 b	161,79 b

*Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Evans (1999) afirma que existe uma estreita relação entre os espaços intercelulares e as espessuras de parede celular na condutância interna de CO_2 , uma vez que essa condutância é constituída da difusão de gases através dos espaços intercelulares e da difusão líquida entre a parede celular e os sítios de carboxilação.

As variações na anatomia foliar observadas em *O. gratissimum* se assemelham às de outras espécies submetidas a diferentes regimes de luz. Zanela (2001) observou que plantas de *Hymenaea courbaril*, *Maclucra tinctoria* e *Acacia mangium*, quando cultivadas a pleno sol, apresentam folhas mais espessas devido ao aumento da espessura do mesofilo e dos parênquimas paliçádico e lacunoso.

O decréscimo da espessura do limbo das plantas de *O. gratissimum* cultivadas com intensidade luminosa e diferentes qualidade de luz reduzida deve

ter ocorrido em virtude da diferença da distribuição dos fotoassimilados. Segundo Sert (1992), plantas de *Glycine max* L. em condições de baixa irradiância apresentaram folhas mais delgadas devido ao consumo de assimilados para a expansão da área foliar.

Na tentativa de elucidar a ação morfogenética da radiação solar, Rizzini (1976) afirmou que plantas submetidas à iluminação intensa apresentam elevadas concentrações de açúcares solúveis e, como consequência, há aumento da pressão osmótica celular, causando uma diminuição no teor de água dos tecidos. Assim, ocorre um déficit hídrico nas folhas que gera um desvio de água dos meristemas. Em consequência, o crescimento celular na fase de alongamento é inibido e as paredes cessam a expansão e tendem, por isso, a engrossar. O resultado é a produção de células menores, dotadas de paredes mais espessas.

Os tratamentos não diferiram entre si quanto ao espessamento das epidermes adaxial e abaxial. No entanto, a epiderme adaxial apresentou-se, em geral, mais espessa que a epiderme abaxial. Este resultado mostra que o espessamento da parede celular não foi uma característica morfológica alterada em função da variação de intensidade ou da qualidade espectral de luz.

5.3.1.2 Avaliações das seções paradérmicas

Através da observação de cortes paradérmicos verificou-se a presença de estômatos anomocíticos; nos resultados da Tabela 4, observa-se que a densidade e diâmetros polar e equatorial de estômatos sofreram consideráveis variações entre os tratamentos e também entre as epidermes adaxial e abaxial

TABELA 4. Número de estômatos, diâmetros polar (Diâm. polar) e equatorial (Diâm. equat.) e razão diâmetro polar/equatorial (Diâm. polar/equat.) de estômatos das faces adaxial e abaxial de folhas de *Ocimum gratissimum* L. submetidas a diferentes condições de luminosidade. UFLA, Lavras, MG. 2006.

Estômatos		Sombreamentos			
		Pleno sol (0%)	Malha preta (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha azul (50%)
Face adaxial	Densidade (μm^2)	102,12 a	62,90 c	40,70 d	80,66 b
	Diâm. polar (μm)	24,03 b	23,94 b	26,01 a	24,05 b
	Diâm. equat. (μm)	14,44 a	14,35 a	14,67 a	13,05 b
	Diâm. polar/equat.	1,66 b	1,67 b	1,77 ab	1,84 a
Face abaxial	Densidade (μm^2)	242,72 b	298,96 a	285,64 a	220,52 b
	Diâm. polar (μm)	23,76 ab	23,17 b	24,07 ab	25,31 a
	Diâm. equat. (μm)	15,79 a	11,97 b	13,23 b	12,24 b
	Diâm.polar/equat.	1,50 b	1,93 a	1,82 a	2,07 a
	Densidade adaxial/abaxial	0,34 c	0,25 b	0,14 a	0,36 c

*Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A folha de *O. gratissimum* é anfihipoestomática; na face adaxial, verificou-se que as plantas crescidas a pleno sol apresentaram maior densidade de estômatos que os demais tratamentos. A correlação positiva entre o aumento da densidade estomática e a elevação da irradiância tem sido descrita por diversos trabalhos (Atroch et al., 1999; Castro et al., 1998; Hanba et al., 2002). Outros estudos têm demonstrado, ainda, a relação positiva entre o número de

estômatos e a taxa fotossintética (Castro, 2002; Kundu & Tigerstedt, 1998). Alguns autores (Abrams, 1987; Boardman, 1977; Medri & Lleras, 1980; Wiebel et al., 1994) inferem que o aumento na densidade estomática permite que a planta eleve a condutância de gases e, assim, evite que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições de ambientais.

Em relação aos tratamentos sombreados com malhas, observa-se que as plantas sob malha azul apresentaram a maior densidade estomática, indicando que o ambiente de cultivo rico em comprimentos de onda na faixa do azul do espectro pode estimular a produção de estômatos na face adaxial de folhas de *O. gratissimum*. Já a radiação na faixa do vermelho e vermelho-distante aparentemente provoca uma redução nesse parâmetro na face adaxial, já que as plantas mantidas sob malha vermelha possuíam o menor número de estômatos por área. É interessante ressaltar que as plantas crescidas sob malha azul produziram aproximadamente 100% mais estômatos na face adaxial que as plantas sob malha vermelha.

Na face abaxial, as maiores densidades de estômatos foram verificadas nos tratamentos com malhas preta e vermelha, ao passo que as menores densidades de estômatos foram encontradas nos tratamentos a pleno sol e sob malha azul. Resultados semelhantes aos encontrados em *O. gratissimum* foram descritos por Braga (2006), trabalhando com *Dendranthema grandiflora*, e por Dignart (2006), trabalhando com *Cattleya walkeriana*.

A relação entre a densidade estomática da face adaxial e abaxial revela a estratégia fenotípica de *O. gratissimum* em variar a quantidade de estômatos nas epidermes em virtude da intensidade e da qualidade espectral da radiação no ambiente de cultivo.

Rocha (2005) afirma que a análise da densidade estomática não é um parâmetro muito confiável para a verificação da adaptabilidade anatômica de uma espécie vegetal a um ambiente. Segundo o autor, uma forma segura de

indicar a funcionalidade estomática seria o formato das células guarda e a relação entre o diâmetro polar e equatorial os estômatos. Khan et al. (2002) afirmam que quanto maior a relação diâmetro polar/equatorial, mais elipsóide será o formato do estômato, sendo este formato característico de estômatos funcionais, enquanto a forma arredondada está associada a estômatos que não apresentam funcionalidade normal.

Os estômatos da face adaxial das plantas de *O. gratissimum* submetidas ao sombreamento com malha azul apresentaram maior relação diâmetro polar/equatorial, indicando serem mais funcionais. Diversos autores têm demonstrado uma estreita relação entre a luz azul e respostas estomáticas (Frechilla et al., 2000; Karlsson, 1986; Parks, 2001; Schwartz & Zeiger, 1984; Srivastava & Zeiger, 1995a). Na face abaxial a relação diâmetro polar/equatorial dos estômatos evidenciou maior funcionalidade estomática nas plantas sob sombreamento que nas plantas ao pleno sol. Os resultados deste estudo informam que as dimensões dos estômatos de folhas de *O. gratissimum* mostraram plasticidade adaptativa em resposta às condições luminosas.

As paredes anticlinais das células epidérmicas das plantas a pleno sol apresentaram menos sinuosidade que as das plantas sombreadas. Este é uma típica resposta morfológica para evitar perda excessiva de água.

5.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão: Cloroplastos

A ultraestrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de *O. gratissimum* é mostrada na Figura 7. Observa-se que a estrutura e o tamanho dos cloroplastos sofreram alterações em virtude do ambiente de cultivo. Nos tratamentos a pleno sol, sob malhas azul e vermelha, não foram observadas diferenças significativas quanto ao número de cloroplasto (Tabela 5); nas plantas crescidas sob malha preta foi evidenciada a menor quantidade de cloroplastos por célula. Em todos os tratamentos, os cloroplastos foram observados próximos à parede celular;

somente nas plantas mantidas a pleno sol algumas dessas organelas encontraram-se dispersas no meio intracelular.

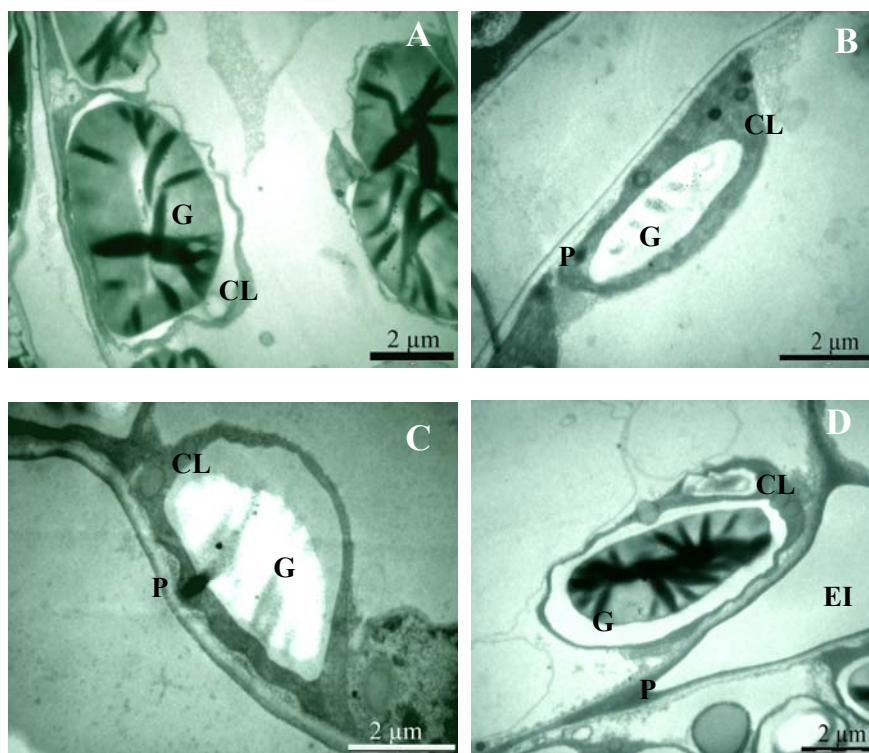


FIGURA 7. Fotomicrografias de transmissão eletrônica (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliádico de lâminas foliares de *Ocimum gratissimum* L., crescidos em diferentes condições de luminosidades. A- Pleno sol, B- Malha preta, C- Malha vermelha, D- Malha azul, CL- cloroplasto, G- Grão de amido, P- Parede celular, EI- Espaço intercelular. UFLA. Lavras, MG, 2006.

Pelos resultados observa-se que os maiores comprimentos e as menores larguras de cloroplastos foram observados nos tratamentos sob malhas preta e vermelha, o que caracterizou a presença de organelas mais alongadas que nos outros tratamentos. De acordo com sua forma e arranjo, os cloroplastos podem e

dispor paralelamente às paredes celulares, aumentando a eficiência fotossintética ou reduzindo os danos pelo excesso de luz.

TABELA 5. Valores médios das características cloroplastídicas em plantas jovens de *O. gratissimum* L. submetidas a diferentes condições de luminosidades. G. de amido - Grão de amido no cloroplasto. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Cloroplastos	Sombreamentos				
	Pleno sol (0%)	Malha preta (50%)	Malha vermelha (50%)	Malha azul (50%)	
Número/célula	11,4 a	7,50 b	12,10 a	12,60 a	
Área (μm^2)	15,63 a	10,23 b	12,75 ab	15,45 a	
Perímetro (μm)	17,55 ab	16,66 b	17,29 ab	18,66 a	
Comprimento (μm)	5,34 b	6,36 a	6,21 a	5,94 ab	
Largura (μm)	3,70 a	2,30 c	2,83 bc	3,15 ab	
G. de amido	Área (μm^2)	10,64 a	4,43 b	7,38 ab	8,53 a
	Perímetro (μm)	14,04 a	10,65 b	12,51 ab	13,68 a

*Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Schuerger et al. (1997), a luz azul é importante para o desenvolvimento dos cloroplastos e tem-se mostrado mais eficiente que a luz vermelha. Leong et al. (1985) afirmam que a exposição à radiação na faixa do vermelho e vermelho-distante durante o crescimento e desenvolvimento foliar influencia significativamente o desenvolvimento dos cloroplastos.

Em todos os tratamentos foi observada a presença de grãos de amido, e estes não diferiram significativamente quanto à área e perímetro nos tratamentos a pleno sol e sob malha azul. Nas plantas crescidas sob malha preta foram

observados os menores valores de área e perímetro; as plantas mantidas sob malha vermelha apresentaram valores intermediários para estas características.

De acordo com Larcher (2004), as plantas que crescem sob forte radiação desenvolvem células no mesofilo ricas em cloroplasto e têm uma maior produção e um maior conteúdo energético da matéria seca. No entanto, diante dos resultados, observa-se que não apenas a intensidade, mas também a qualidade de luz é determinante para que se desenvolvam células do mesofilo ricas em cloroplastos e grãos de amido com dimensões similares.

5.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura: Tricomas

Por meio das fotomicrografias em microscópio eletrônico de varredura (MEV) da superfície de folhas de *O. gratissimum* (Figura 8) foi possível verificar a presença de tricomas tectores pluricelulares e tricomas glandulares, captados e peltados e suas densidades, na epiderme adaxial, de folhas crescidas nos diferentes tratamentos.

Metcalf & Chalk (1983) descrevem os tricomas glandulares como sendo estruturas secretoras de óleo essencial frequentemente presentes nas Lamiaceae, variando o número de células secretoras, o comprimento da célula peduncular, a quantidade do óleo secretado, a densidade e seu arranjo na epiderme. De acordo com estudos de Werker et al. (1985), os tricomas glandulares peltados e capitados são diferentes quanto a morfologia, início e duração da atividade secretora, modo de secreção e tipo de material secretado. O termo secreção pode ser descrito como complexos processos de separação ou isolamento de determinadas substâncias do protoplasma celular, nos quais se inserem a síntese de substâncias, o acúmulo e o armazenamento em compartimentos internos da célula e, até a eliminação em espaços subcuticulares e entre células adjacentes, na superfície externa da planta (Fahn, 1988).

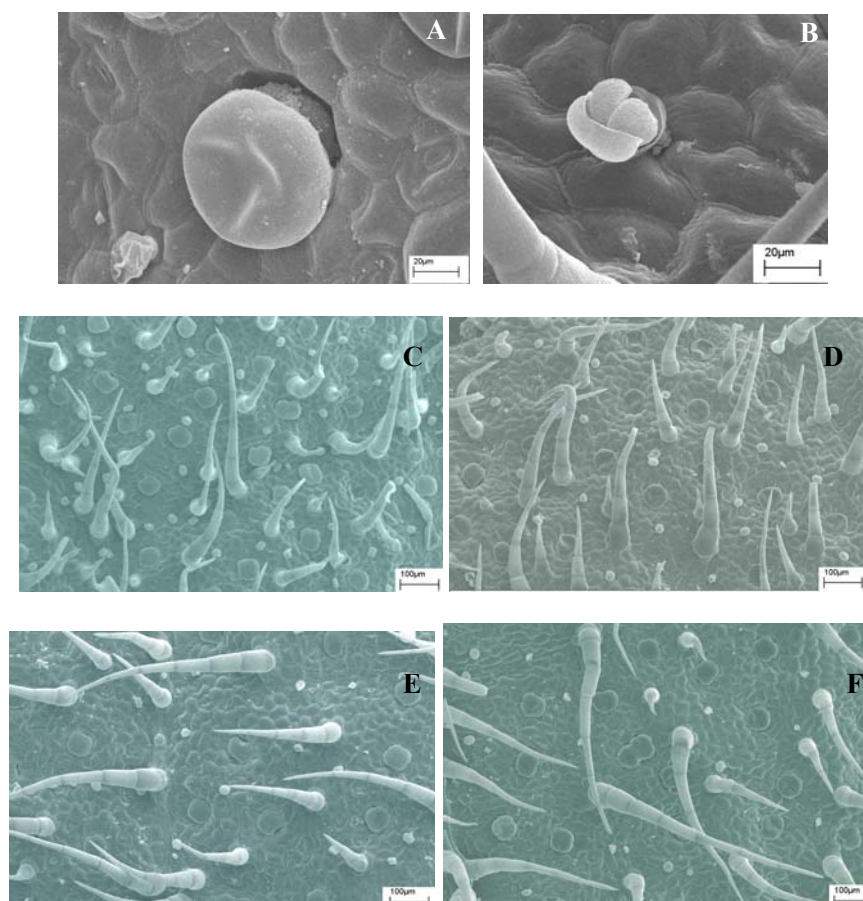


FIGURA 8. Fotomicrografias de varredura (MEV) mostrando tricomas tectores e glandulares na superfície de lâminas foliares de *Ocimum gratissimum*, crescidas em diferentes condições de luminosidades. A- tricoma glandular peltado, B- tricoma glandular captado. Densidade de tricomas: C- Pleno sol, D- Malha preta, E- Malha vermelha, F- Malha azul. UFLA. Lavras, MG, 2006.

A densidade de tricomas diferiu consideravelmente nas plantas sob diferentes condições de luminosidade (Figura 9). Nas plantas crescidas a pleno sol foram verificadas as maiores quantidades de tricomas tectores e glandulares. A elevada presença de tricomas por unidade de área neste tratamento em relação às plantas sob malhas pode ser considerada como fator adaptativo da espécie ao ambiente de alta irradiância. Li et al. (1996), em estudos com *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris*, verificaram que a frequência de tricomas decresceu com os níveis mais baixos de radiação solar.

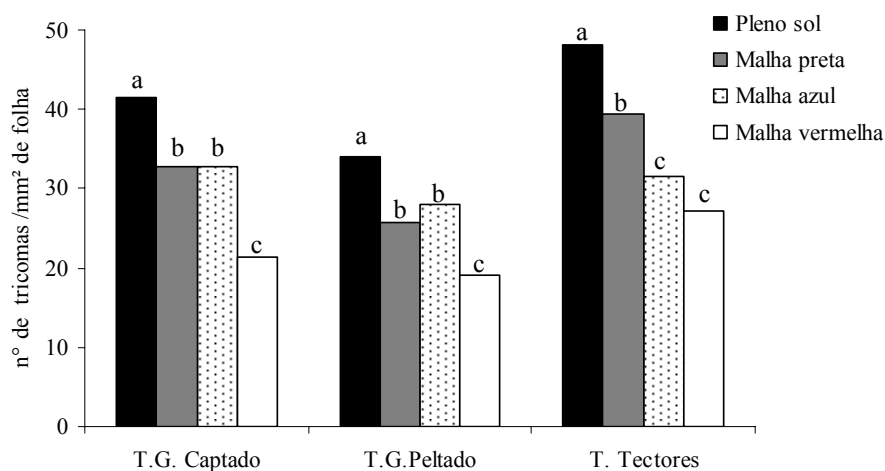


FIGURA 9. Número de tricomas glandulares e não-glandulares por mm² de folhas de *Ocimum gratissimum* submetidas a diferentes condições de luminosidades. UFLA, Lavras, MG, 2006. *As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com Larcher (2004), a densa cobertura de tricomas sobre a superfície da folha ou a espessa parede celular nos tecidos da epiderme age como filtros capazes de modificar a radiação direta em luz difusa, minimizando o efeito da radiação intensa. Nas plantas crescidas sob malha vermelha, foram observadas as menores frequências de tricomas tectores e glandulares, o que indica que a malha vermelha alterou a composição espectral do ambiente de forma a inibir a produção de tricomas por unidade de área. No entanto, é possível que as diferenças das expansões foliares entre os tratamentos (Figura 2) também tenham influenciado a frequência de tricomas na região mediana das folhas. Portanto, para confirmar essa hipótese, seriam necessários estudos que determinassem também a frequência de tricomas nas regiões apical e basal das folhas.

Em relação às plantas crescidas sombreadas, aquelas sob malha azul e preta foram as que tiveram uma tendência maior como produtoras de tricomas glandulares peltados. Diversos autores têm relacionado esse tricoma como sendo o local responsável pela produção de óleo essencial rico em monoterpenos (Bosabalidis & Tsekos, 1982; Bruni & Modenesi, 1983) e fenilpropanóides (Gang et al., 2001).

Através de fotomicrografias de cortes transversais foi possível observar que, na região de ocorrência de tricomas glandulares peltados, a epiderme apresenta uma depressão, sendo que a célula da base do tricoma ocupa o centro da depressão (Figura 10). Também foi possível visualizar a estrutura de um tricoma glandular peltado com o espaço subcuticular, local de acúmulo de óleo essencial.

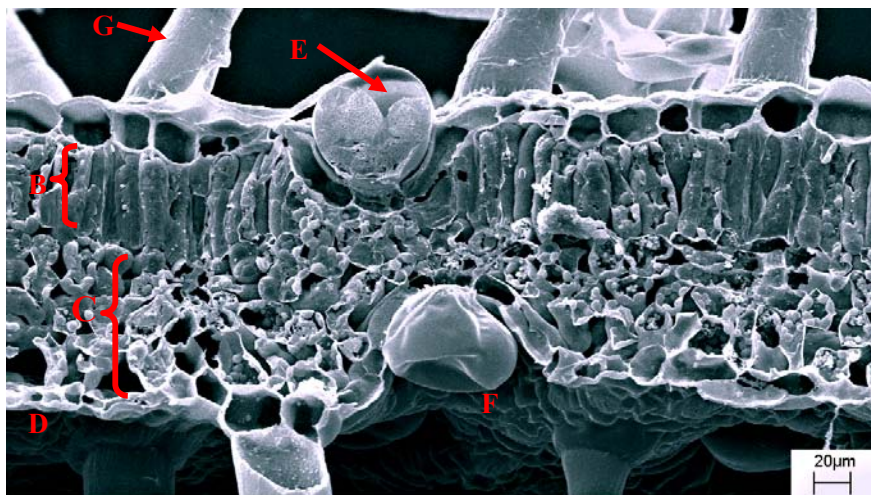


FIGURA 10. Eletromicrografia de secção transversal de lâmina foliar de *Ocimum gratissimum* L. A-Epiderme adaxial, B-Parênquima paliçádico, C-Parênquima lacunoso, D-Epiderme abaxial, E-Tricoma glandular peltado seccionado, evidenciando o espaço subcuticular, F- Tricoma glandular peltado intacto. G-Tricoma tector pluricelular não ramificado. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Na epiderme abaxial a elevada frequência de tricomas tectores impossibilitou a apropriada visualização dos tricomas glandulares e inviabilizou sua contabilização (Figura 11). Segundo Werker (2000), os tricomas tectores densamente distribuídos em folhas podem servir como uma barreira mecânica contra temperaturas extremas, alta intensidade luminosa, perda excessiva de água, entre outros fatores.

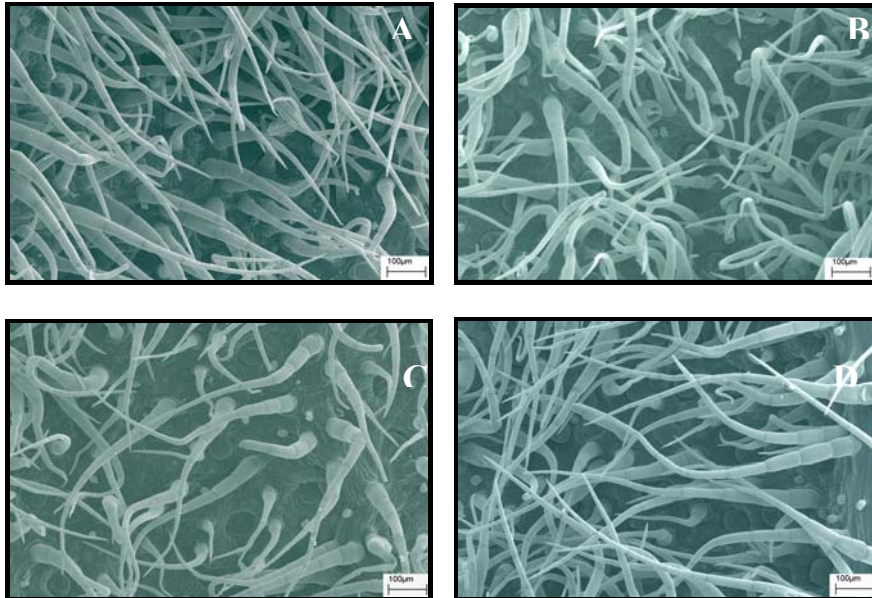


FIGURA 11. Fotomicrografias de varredura (MEV) mostrando a densidade de tricomas tectores e glandulares na superfície abaxial de lâminas foliares de *Ocimum gratissimum*, crescidas em diferentes condições de luminosidades. A- Pleno sol, B- Malha preta, C- Malha vermelha, D- Malha azul. UFLA. Lavras, MG, 2006.

6 CONCLUSÕES

As plantas de *Ocimum gratissimum* L. apresentam uma plasticidade fisiológica e anatômica para os diferentes tratamentos, com relação à radiação.

Sob pleno sol, *O. gratissimum* teve maior acúmulo de matéria seca, alocando maior parte dos fotoassimilados para o sistema radicular. A alta irradiância promoveu redução na área foliar, maior espessura foliar, maior conteúdo de carotenóides e maior densidade estômatos, tricomas tectores e glandulares na superfície adaxial das folhas.

Nos tratamentos de sombreamento parcial, o efeito da radiação transmitida pelas malhas coloridas alterou diversos parâmetros de crescimento em *O. gratissimum*, o que evidenciou uma plasticidade fenotípica relacionada qualidade espectral da luz.

A radiação transmitida pela malha azul proporcionou incremento na altura, maior acúmulo de matéria seca, maior área foliar e maior funcionalidade estomática, o que indica ter ocorrido maior atividade fotossintética nesta condição luminosa em comparação às plantas sob malha vermelha e preta.

As plantas sob malha preta apresentaram reduções na altura, matéria seca, área foliar, espessura foliar e no número de cloroplastos por célula, que se mostraram menores e mais alongados em relação aos demais tratamentos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, M. S. Leaf structural and photosynthetic pigment characteristics of three gallery-forest hardwood species in Northeast Kansas. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 22, p. 261-6, 1987.

ATROCH, E. A. C. **Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonoídes em plantas jovens de *Bauhinia forticata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância.** 1999. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

AHMAD, M.; JARILLO, J. A.; SMIRNOVA, O.; CASHMORE, A. R. Cryptochrome blue-light photoreceptors of Arabidopsis implicated in phototropism. **Nature**, London, v. 392, n. 6677, p. 720-723, Apr. 1998.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolates choroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1988. 41 p.

BJORKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O. L. et al. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology new series**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. v. 12a, p. 57-107.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.

BOSABALIDIS, A. M.; TSEKOS, I. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. **Planta**, Berlin, v. 156, n. 6, p. 496-504, 1982.

BRAGA, F. T. **Ambiente de cultivo na propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* TZVELEV CV. RAGE): características anatômicas e fisiológicas**. 2006. 119 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normais climatológicas de 1961- 1990** . Brasília: 1992. 84 p.

BRUNI, A.; MODENESI, P. Development, oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). **Nordic Journal of Botany**, Copenhagen, v. 3, p. 245-251, 1983.

BUKATSCH, F. Benerkrugen zur doppelfarbung astrablausafranina. **Microkosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 255, 1972.

CASTRO, E. M. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fotoquímicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento**. 2002. 221 p. Tese (Doutorado) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CASTRO, E. M.; GAVILANES, M. L.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, D. M.; GAVILANES, T. O. T. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. **Daphine**, Belo Horizonte, v. 8, n. 4, p. 31-35, out./dez. 1998.

CHAPIN, F. S.; BLOOM, A. J.; FIELD, C. B.; WARING, R. H. Plant responses to multiple environmental factors. **BioScience**, Washington, v. 37, n. 1, p. 49-57, Jan. 1987.

CLAUSSEN, J. W. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 80, n. 1/3, p. 245-255, jan. 1996.

COOLEY, N. M.; HOLMES, M. G.; ATTRIDGE, T. H. Outdoor ultraviolet polychromatic action spectra for growth responses of *Bellis perennis* and *Cynosurus cristatus*. **Journal Photochemistry Photobiology B - Biology**, Lausanne, v. 59, n. 1/3, p. 64-71, Dec. 2000.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 62 p.

CRITCHLEY, C. Molecular adaptation to irradiance: The dual functionality of photosystem II. In: SINGHAL, G. S.; RENGER, G.; SOPORY, S. K.; IRRGANG, K. D.; GOVINDJEE (Ed.). **Concepts in photobiology: Photosynthesis and photomorphogenesis**. New Delhi: Narosa Publishing House, 1999. p. 573-587.

DALE, M. P.; CAUSTON, D. R. The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, *V. montana* and *V. officinalis*. II. The interaction of irradiance and water regime. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 493-504, 1992.

DIAS-FILHO, M. B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 8, p. 789-796, ago. 1997.

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas**. 2006. 130 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DUKE, S. O.; KENYON, W. H. Effects of dimethazone (FMC 57020) on chloroplast development II. Pigment synthesis and photosynthetic function in

cowpea (*Vigna unguiculata* L.) primary leaves. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 25, n. 1, p. 11-18, Jan. 1986.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 1, p. 39-45, abr. 1991.

EVANS, J. R. leaf anatomy enables more equal access to light and CO₂ between chloroplasts. **New Phytologist**, Cambridge, v. 143, n. 1, p. 93-104, July 1999.

FAHN, A. Secretory tissue in vascular plant. **New Phytologist**, Cambridge, v. 108, n. 3, p. 229-257, Mar. 1988.

FARIAS, V. C. C. et al. Análise de crescimento de mudas de cedrorana (*Cedrelinga catenaeformis* (Ducke) Ducke) cultivadas em condições de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 193-200, 1997.

FERRAZ, K. K. F.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de espécies florestais usadas na recuperação de áreas degradadas - II. *Calliandra calothyrsus* Meisn. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus-BA. CD-ROM. 6-087.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3**-Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999.

FIALLO, V. R. F.; MEDINA, N. N. R.; FERRADÁ, C. R. Acerca de la propagación de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Cubana de Plantas Medicas**, La Habana, v. 1, n. 1, p. 3-7, 1996.

FONTES, R. V.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de *Piptadenia adiantoides* (Spreng.) Macbr., espécie florestal usada na recuperação de áreas degradadas. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus-BA. **Anais...** Ilhéus, 2001. CD-ROM. 6-089.

FRECHILLA, S.; TALBOTT, L. D.; BOGOMOLNI, R. A.; ZEIGER, E. Reversal of blue light-stimulated stomatal opening by green light. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 41, n. 2, p. 171-176, Feb. 2000.

GANG, D. R.; WANG, J.; DUDAREVA, N.; NAM, K. H.; SIMON, J. E.; LEWINSOHN, E.; PICHERSKY, E. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 2, p. 539-555, Feb. 2001.

GARCÍA-PLAZAOLA, J. I.; ARTETXE, U.; BECERRIL, J. M. Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean sclerophyll tree *Quercus ilex* (L.) during winter. **Plant Science**, Clare, v. 143, n. 2, p. 125-133, May 1999.

GOMES, I. A. C. **Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) 'Oeiras' sob influência do sombreamento por leguminosas.** 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GONÇALVES, J. F. de C.; MARENCO, R. A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka Bean under two light environments. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 149-157, ago. 2001.

GONÇALVES, L. A. **Ontogenia dos tricomas glandulares e influência da radiação solar no desenvolvimento e no teor de óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae).** 2001. 95 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GRONINGER, J. W.; SEILER, J. R.; PETERSON, J. A.; KREH, R. E. Growth and photosynthetic responses of four Virginia Piedmont tree species to shade. **Tree Physiology**, Victoria, v. 16, n. 9, p. 773-778, Sept. 1996.

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. **Plant Cell and Environment** Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.

JEANGROS, B.; NOSBERGER, J. Comparison of the growth response of *Rumex obtusifolius* L. and *Lolium perenne* L. to photon flux density. **Weed Research**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 311-316, Aug. 1992.

KARLSSON, P. E. Blue light regulation of estomatal in wheat seedlings. II Action Spectrum and Search for action dichroism. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 66, n. 2, p. 207-210, Feb. 1986.

KE, G.; WERGER, M. J. A. Different responses to shade of evergreen and deciduous oak seedlings and the effect on acorn size. **Acta Oecologica**, Berlin, v. 20, n. 6, p. 579-586, Nov./Dec. 1999.

KHAN, P. S. S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, Q. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* Smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 71, n. 2, p. 141-146, Nov. 2002.

KOZLOWSKI, T. et al. **The physiological ecology of woody plants**. London: Academic, 1991. 657 p.

KRAMER, T.; KOSLOWSKI, T. T. **Physiology of woody plants**. New York: Academic Press, 1979. 811 p.

KUNDU, S. K.; TIGERSTEDT, P. M. A. Variation in net photosynthesis, stomatal characteristics, leaf area and whole plant phytomass production among ten provenances of neem (*Azadirachta indica*). **Tree Physiology**, Victoria, v. 19, n. 1, p. 47-52, Jan. 1999.

LABOURIAL, L. G.; OLIVIERA, J. G.; LABOURIAL, M. L. S. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-257, jun. 1961.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004. 531 p.

LEE, D. W.; OBERBAUER, F.; JOHNSON, P.; BASKARAN, K.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

LEONG, T.; GOODCHILD, D. J.; ANDERSON, J. M. Effect of light quality on the composition, function and structure of photosynthetic thylakoid membranes of *Asplenium australicum* (Sm.) Hook. **Plant physiology**, Rock, v. 78, n. 3, p. 561-567, 1985.

LI, Y.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturiae**, Amsterdam, v. 426, p. 419-426, 1996.

LIMA JÚNIOR, E. de C. **Germinação, armazenamento de sementes e fisiologia de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb.** 2004. 115 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LIMA JR., E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. Physioanatomy traits of leaves in young plants of *Cupania vernalis* camb. subjected to different shading levels. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 33-41, jan./fev. 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.

MAGALHÃES, A. C. N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia vegetal.** São Paulo: EPU, 1979. v. 1, 362 p.

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

MEDRI, M. E.; LLERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 10, n. 3, p. 463-493, set. 1980.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons.** 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1983.

MORGAN, D. C.; SMITH, H. A systematic relationship between phytochrome-controlled development and species habitat, for plant grown in simulated natural irradiation. **Planta**, Berlin, v. 145, n. 3, p. 253-258, 1979.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 3-35.

MUROYA, K.; VARELA, V. P.; CAMPOS, M. A. A. Análise de crescimento de mudas de jacareúba (*Calophyllum angulare* A. C. Smith - Guttiferae) cultivadas em condições de viveiro. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 27, n. 3, p. 197-212, set. 1997.

MUSIL, C. F.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D. Effects of elevated ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of southern Africa. **Annals of Botany**, London, v. 90, n. 1, p. 127-137, July 2002.

NAVES, V. L. **Crescimento, distribuição de matéria seca, concentração de clorofilas e comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas à diferentes níveis de irradiação fotossinteticamente ativa**. 1993. 76 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

NOBEL, P. S.; ZARAGOZA, L. J.; SMITH, W. K. Relation between mesophyll surface area, photosynthetic rate and illumination level during development of leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 55, n. 6, p. 1067-1070, June 1975.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, YU. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.

PARKS, B. M.; FOLTA, K. M.; SPALDING, E. P. Photocontrol of stem growth. **Current Opinion Plant Biology**, London, v. 4, n. 5, p. 436-440, Oct. 2001.

PATTERSON, D. T. Light and temperature adaptation. In: HESKETH, J. D., JONES, J. W. (Ed.) Predicting photosynthesis for ecosystems models. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1980. p. 205-235.

PUSHPAKUMARI, R.; SASIDHAR, V. K. Influence of shade on the growth attributes of minor tuber crops. **Journal of Roots Crops**, Kumar, v. 18, n. 1, p. 64-67, 1992.

REZENDE, M. R. R. **Germinação, armazenamento de sementes e crescimento inicial de *Campomanesia rufa* (Berg.) Nied.** 2004. 84 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RICHARDSON, L. L. Remote Sensing of algal bloom dynamics; New research fuses remote sensing of aquatic ecosystems with algal accessory pigment analysis. **BioScience**, Washington, v. 46, n. 7, p. 492-501, July/Aug. 1996.

RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos**. São Paulo: HUCITEC/EDUSP, 1976. 327 p.

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira “prata anã”: alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROWLEY, C. R.; MORAN, D. T. A simple procedure for mounting wrinkle free section on formvar-coated slot grids. **Ultramicrotomy**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 151-155, 1975.

SAKAI, T.; KAGAWA, T.; KASAHARA, M.; SWARTZ, T. E.; CHRISTIE, J. M.; BRIGGS, W. R.; WADA, M.; OKADA, K. Arabidopsis nph1 and npl1: Blue-light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation in Arabidopsis. **Proceedings of National Academy Science USA**, Washington, v. 98, n. 12, p. 6969-6974, June 2001.

SANDMANN, G; BÖGER, P. Comparison of the Bleaching Activity of Norflurazon and Oxyfluorfen. **Weed Science**, Champaign, v. 31, n. 3, p. 338-341, 1983.

SCHLUTER, U.; MUSCCHAK, M.; BERGER, D.; ALTMANN, T. Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 383, p. 867-874, Feb. 2003.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STYJEWSKI, E. C. Anatomical features of piper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SCHWARTZ, A.; ZEIGER, E. Metabolic energy for stomatal opening roles of photophosphorylation and oxidative phosphorylation. **Planta**, Berlin, v. 161, n. 2, p. 129-136, 1984.

SERT, M. A. **Anatomia foliar e teores de clorofila em três variedades de soja [Glycine max (L.) MEDRILL] e dois níveis de radiação solar**. 1992. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Feral de Viçosa, Viçosa, MG.

- SHARMA, B. M. Ecophysiological studies on *Panicum maximum* Jacq. In south-west Nigeria. **Range Management Agroforestry**, v. 15, n. 1, p. 49-53, 1994.
- SILVA, E. A. M.; ANDERSON, C. E. Influência da luz no desenvolvimento foliar do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 32, n. 179, p. 1-11, jan./fev. 1985.
- SRIVASTAVA, A.; ZEIGER, E. Guard cell zeaxanthin traps photosynthetic active radiation and stomatal apertures in *Vicia faba* leaves. **Plant Cell Environment**, Oxford, v. 18, n. 7, p. 813-817, July 1995.
- STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BAZZAZ, F. A. Plasticity and acclimation to light in tropical Moraceae of different successional position. **Oecologia**, New York, v. 87, n. 3, p. 377-387, 1991.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- THOMPSON, W. A.; KRUGER, M. B.; REICH, P. B. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. I. Growth, leaf anatomy and nutrient content. **Australian Journal of Plant Physiology**, East Melbourne, v. 19, n. 1, p. 1-18, 1992.
- TSUNOYAMA, Y.; MORIKAWA, K.; SHIINA, T.; TOYOSHIMA, Y. Blue light specific and differential expression of a plastid factor, *Sig5* in *Arabidopsis thaliana*. **Febs Letters**, Amsterdam, v. 516, n. 1/3, p. 225-228, Apr. 2002.
- VLAHOS, J. C.; HEUVELINK, E.; MARTAKIS, G. F. P. A growth analysis study of three *Achimenes* cultivars grown under three light regimes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 46, n. 3/4, p. 275- 282, Apr. 1991.
- WALTERS, M. B. et al. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. **Oecologia**, Berlin, v. 94, n. 1, p. 7-16, May 1993.
- WEAVER, E. C.; WRIGLEY, R. **Factors affecting the identification of phytoplankton groups by means of remote sensing**. Moffet Field: NASA, 1994. 121 p. (TM-108799).
- WERKER, E. Trichome diversity and development. In: HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. (Ed.) **Plant Trichomes**. London: Academic Press, 2000. p. 1-30.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. **Annals of Botany**, London, v. 55, n. 6, p. 793-801, 1985.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas: temas de biologia**. São Paulo: EDUSP, 1982. v. 30, 101 p.

WIEBEL, J.; CHACKO, E. K.; DOWNTON, W. J. S.; LUDDERS, P. Influence of irradiance on photosynthesis, morphology and growth of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) seedlings. **Tree Physiology**, Vitoria, v. 14, n. 3, p. 263-274, Mar. 1994.

ZANELA, S. M. **Respostas ecofisiológicas e anatômicas ao sombreamento em plantas jovens de diferentes grupos ecológicos**. 2001. 79f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAPÍTULO VI

**INFLUÊNCIA DA LUZ NO ACÚMULO E NA COMPOSIÇÃO DO
ÓLEO ESSENCIAL EM *Ocimum gratissimum* L.**

1 RESUMO

MARTINS, Joeferson Reis. Influência da luz no acúmulo e na composição do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L. In: _____. **Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

A espécie *Ocimum gratissimum* L. é um subarbusto aromático pertencente à família Lamiaceae, considerado como importante produtor de óleo essencial, largamente utilizado na medicina popular. No presente estudo objetivou-se avaliar o teor e as variações da composição químicas do óleo essencial de folhas de plantas jovens de *O. gratissimum* crescidas sob diferentes condições luminosas: pleno sol, sob malha preta (50%), malha vermelha (50%) e malha azul (50%). A extração do óleo essencial foi realizada em aparelho de Clevenger modificado. A detecção e quantificação dos compostos voláteis foram realizadas em cromatógrafo gasoso Varian, modelo CP-3380, com detector FID (CG/FID). Os resultados indicaram que o composto majoritário do óleo essencial é o eugenol e a porcentagem deste composto nos diferentes tratamentos variou de 83 a 88%. O sombreamento parcial proporcionou maior teor de óleo essencial, sendo que as plantas crescidas sob malha azul produziram 142% mais óleo essencial que as plantas a pleno sol. Portanto, a utilização de malhas de transmissão de luz na faixa do azul foi apropriada para obtenção de maior teor de óleo essencial em *Ocimum gratissimum*.

* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

2 ABSTRACT

MARTINS, Joeferson Reis. The light influence in the accumulation of essential oil in *Ocimum gratissimum* L. In: _____. **Aspects of seeds germination and influence of light on the development, leaf anatomy and chemical composition of essential oil in *Ocimum gratissimum* L.** Dissertation (Master in Plant Physiology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

The species *Ocimum gratissimum* L., is an aromatic subshrub, belonging to the family Lamiaceae, regarded as an important producer of essential oil, widely utilized in folk medicine. In the present study, it was intended to evaluate both the content and the variations of the chemical composition of the essential oil of leaves of young plants of *O. gratissimum* grown under different light conditions: Full sunshine, under a black mesh (50%), red mesh (50%) and blue mesh (50%). The extraction of essential oil was performed in modified Clevenger apparatus. The detection and quantification of the volatile compounds were carried out in a Varian, gas chromatograph CP-3380 model, with a FID detector (CG/FID). The results indicated that the majority compound of the essential oil is eugenol and the percentage of this compound in the different treatments ranged from 83 to 88%. The partial shading provided increased content of essential oil, the plants grown under blue mesh produced 142% as much essential oil as the plants in the full sunshine. Therefore, utilization of light-transmitting meshes in the range of blue was adequate for obtaining increased content of essential oil in *Ocimum gratissimum*.

* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Os vegetais apresentam uma grande flexibilidade quimiossintética para produzir micromoléculas como as que compõem as misturas químicas complexas que são os óleos essenciais. Estes, por sua vez, podem conter 100 ou mais constituintes orgânicos individuais, pertencentes às mais diversas classes de compostos; entretanto, os terpenos e os fenilpropenos, derivados da rota metabólica do ácido mevalônico e do ácido chiquímico, respectivamente, são as classes mais comumente encontradas (Waterman, 1993).

Independentemente de sua composição química, os óleos essenciais são sintetizados e armazenados pelas plantas em estruturas anatômicas especializadas, tais como idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares (Fahn, 1975), e podem estar envolvidos em vários dos aspectos da interação animal-planta, planta-microrganismo e da interferência planta-planta (Gottlieb & Salatino, 1987).

A biossíntese dos óleos essenciais é determinada geneticamente, porém sua composição e a quantidade desses compostos variam acentuadamente em função das condições ambientais.

Apresentam-se como importantes fatores ambientais a luz (intensidade, qualidade e fotoperíodo), a latitude, a temperatura, o solo (propriedades químicas e físicas), os ventos, os macro e micronutrientes e a disponibilidade hídrica.

A luz atua de forma significativa e complexa influenciando o acúmulo e a variedade dos componentes dos óleos essenciais, uma vez que afeta direta ou indiretamente a produção de fitomassa, a proporção de órgãos e as vias biossintéticas destes metabólitos secundários.

Segundo Jorge et al. (1992), no gênero *Ocimum* (Lamiaceae) as características químicas são mais distintivas que as características anatômicas e, portanto, de maior importância diagnóstica dos quimiotipos, com base nos componentes principais dos óleos essenciais. Nesse gênero, os tricomas glandulares peltados são os locais de biossíntese e armazenamento de fenilpropanóides voláteis encontrados na superfície de suas folhas (Gang et al., 2001). A radiação solar pode atuar como estimulante na formação desses tricomas (Yamaura et al., 1989) e, conseqüentemente, alterar os níveis e a composição do óleo essencial (Letchamo et al., 1994; Letchamo & Gosselin, 1996).

No gênero *Ocimum* destaca-se a espécie *Ocimum gratissimum* L., um subarbusto aromático pertencente à família Lamiaceae, originário da Ásia e África e subespontâneo em todo território brasileiro, sendo popularmente conhecido como alfavacão, alfavaca e alfavaca-cravo (Lorenzi & Matos, 2000).

A alfavaca é largamente utilizada na medicina popular por possuir óleo essencial rico em eugenol, um fenilpropanóide com propriedades bactericida (Nakamura et al., 1999) e fungicida (Lemos et al., 2005). A bioatividade do óleo essencial dessa espécie tem sido verificada em organismos de elevada patogenicidade como *Leishmania amazonensis* (Ueda-Nakamura et al., 2006), *Candida* ssp (Nakamura, 2004), *Herpetomonas samuelpessoai* (Holetz et al., 2003), *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* ssp, *Klebsiela pneumoniae*, *Proteus vulgare*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytus* (Gulati & Sinha, 1990; Ndounga & Ouamba, 1997).

Diferentes condições de cultivo podem ser estabelecidas a fim de aumentar a concentração de princípios ativos em espécies medicinais. Para tanto, é necessário considerar as condições ambientais ótimas de cada espécie, uma vez que esses fatores proporcionam respostas diferenciadas, especialmente sobre os óleos essenciais.

Neste contexto, as malhas coloridas representam um novo conceito agrotecnológico, que objetiva combinar a proteção física, juntamente com a filtragem diferencial da radiação solar, para promover respostas fisiológicas desejáveis, reguladas pela luz (Shahak et al., 2004). De modo diferente das casas de vegetação, as malhas exercem uma menor interferência sobre o microclima da planta; entretanto, são capazes de modificar tanto a quantidade como a qualidade da radiação solar transmitida, determinando modificações ópticas da dispersão e reflectância da luz (Oren-Shamir et al., 2001).

Buscando compreender o comportamento fisiológico da espécie *O. gratissimum* L. para o estabelecimento das melhores condições de cultivo, o presente estudo avaliou a produção e a composição do óleo essencial em plantas crescidas sob diferentes regimes de luminosidade: a pleno sol, com 0% de sombreamento, e sob malhas preta, vermelha e azul, de 50% de sombreamento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na área experimental do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918 m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro, e outra quente e úmida, de outubro a março (Brasil, 1992). Os dados climatológicos da cidade de Lavras, MG, foram fornecidos pela estação climatológica do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA e estão expostos na Figura 1.

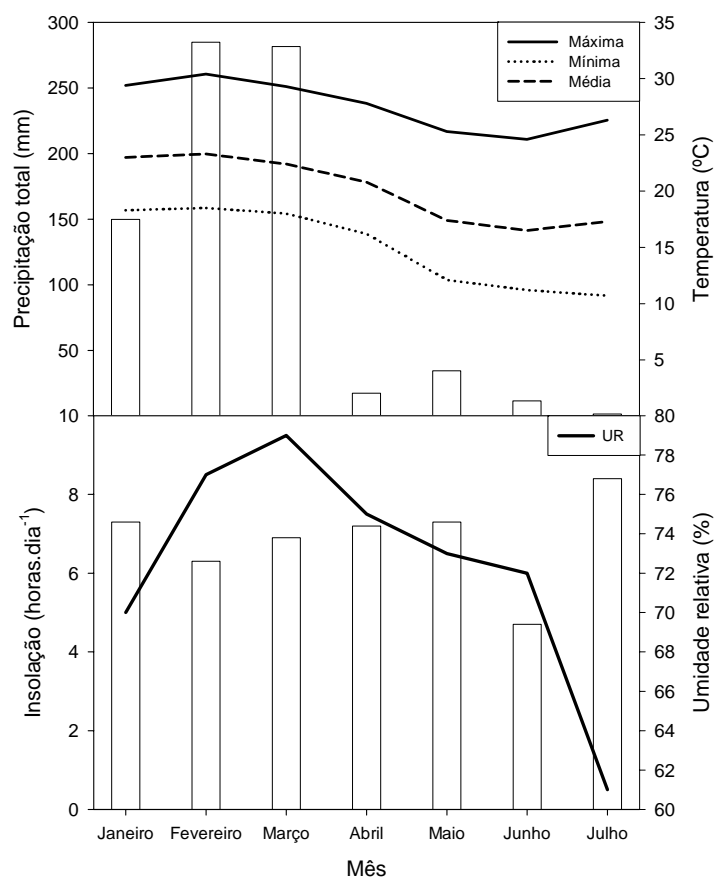


FIGURA 1. Dados de temperatura máxima, mínima e média (°C), precipitação pluviométrica (mm), insolação total (horas) e umidade relativa do ar (%) durante o período de janeiro a julho de 2006. UFLA, Lavras, MG, 2006.

As mudas foram formadas a partir de sementes provenientes de plantas adultas de *O. gratissimum*, localizadas nas proximidades do campus da UFLA. Estas plantas foram previamente identificadas taxonomicamente e exsiccatas foram depositadas no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA, sob o número de registro 20.0037.

As sementes coletadas foram semeadas em tubetes plásticos com substrato Plantmax® e mantidas à temperatura ambiente, em viveiro sob 50% de sombreamento, por um período de dois meses, até se estabelecerem. Após este período, as mudas foram transplantadas para tubo cilíndrico de PVC com dimensões de 15 x 30 cm contendo substrato à base de terra de subsolo e areia, na proporção de 2:1, previamente analisado no Laboratório de Solos da UFLA (Anexo 1A). A partir dessas análises foram incorporados ao substrato superfosfato simples na proporção de 300g/m³, cloreto de potássio (300g/m³) e agrosilício (1000g/m³).

As mudas de *O. gratissimum* foram divididas em quatro grupos de 50 unidades cada e submetidas aos tratamentos de sombreamento. O primeiro tratamento consistiu em manter as mudas a pleno sol (0% de sombreamento), o segundo tratamento foi estabelecido sob malha preta que, segundo o fabricante, atenua a radiação solar em 50%. No terceiro e quarto tratamentos, as mudas foram colocadas sob malhas especiais ChromatiNet vermelha 50% e ChromatiNet azul 50%. As malhas utilizadas no experimento foram fornecidas pela empresa Polysac Plastic Industries®. De acordo com o fabricante, a malha ChromatiNet vermelha 50% muda o espectro da luz que a atravessa, reduzindo as ondas azuis, verdes e amarelas e acrescentando as ondas vermelha e vermelha-distante. Enquanto isso, a malha azul 50% muda o espectro da luz, reduzindo as ondas na faixa do vermelho e vermelho-distante e acrescentando as ondas azuis.

A intensidade da radiação foi medida por meio de um quantômetro-fotômetro-radiômetro LI-COR, modelo LI-185, equipado com um sensor quântico. A radiação solar foi expressa em $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. No tratamento a pleno sol foi observada intensidade de 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, correspondendo a 100% da radiação incidente, sob malha preta 660 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (44%), sob malha vermelha 690 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (46%) e sob malha azul 650 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (43%). Essas

medições foram feitas em 30/04/2006 às 12:00 horas, dia claro, sem presença de nuvens.

4.1 Procedimento de coleta do material vegetal, extração do óleo essencial e seu teor percentual.

Ao final do 4º mês após o transplântio (08 de julho de 2006), as folhas foram coletadas às 12:00 horas, a partir de 40 plantas de *Ocimum gratissimum* (em amostragem composta) de cada tratamento.

As folhas foram levadas para o laboratório, no qual se realizou uma seleção do material, descartando as folhas injuriadas. Posteriormente, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e mantidas em estufa com circulação de ar forçada, Fanem Mod 320-SE, regulada a 35°C. Amostras do material foram retiradas diariamente para determinação da porcentagem de matéria seca. A massa constante foi adotada como critério indicativo do término da secagem. Terminada a secagem e a determinação da porcentagem de matéria seca em relação à fresca, foi realizada a extração do óleo essencial.

Para a extração do óleo essencial foram utilizadas amostras de 15 g de folhas secas. O material vegetal foi submetido à hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado por Wasicky & Akisue (1969), durante uma hora e trinta minutos para cada repetição. O material vegetal foi colocado em balão volumétrico de 1.000 mL, ao qual foi acrescentado um volume de 500mL de água destilada. O tempo de extração adotado foi de 90 minutos, contados a partir do início da fervura. Após o período de extração, o hidrolato, obtido de cada hidrodestilação foi, então, submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, com três porções de 10 mL de diclorometano (cada porção descansou por 20 minutos, totalizando 60 minutos por repetição). As frações orgânicas de cada repetição foram reunidas e desidratadas com três gramas de sulfato de magnésio anidro. O sal foi removido por filtração simples e o solvente,

evaporado à temperatura ambiente em capela de exaustão de gases até alcançar peso constante, obtendo-se o óleo essencial purificado. Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial nas folhas de *O. gratissimum* pela fórmula:

$$T\% = \text{Massa do óleo (g)} / 15\text{g} \times 100.$$

4.2 Análise qualitativa do óleo essencial

A separação e detecção dos compostos voláteis foram realizadas no Laboratório de Cromatografia Gasosa e Espectro de Massas do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em cromatógrafo gasoso Varian, modelo CP-3380, com detector FID (CG/FID) e coluna capilar SE30 (Alltech) de 30m de comprimento por 0,25mm de diâmetro interno. As condições de análise otimizadas para esta coluna foram as seguintes: temperatura do injetor: 300° C, split 1/100; programação da coluna: temperatura inicial de 50°C, elevação até 160°C a 3°C/min, temperatura final de 300°C atingida a 20°C/min; a quantidade de amostra injetada foi de 2µL; as amostras foram diluídas a 1% em clorofórmio; a temperatura do detector FID 300°; gás de arraste: hidrogênio a 2,0 mL/min.; tempo total de corrida: 50 minutos.

Injetou-se, nas mesmas condições das amostras, uma mistura de hidrocarbonetos C₈-C₁₇ (Figura 2). Fez-se a análise de regressão linear do tempo de retenção em função do número de carbonos de cada hidrocarboneto (Figura 3). A partir da equação obtida e do tempo de retenção de cada composto, foi calculado o Índice de Kovats (IK) ou índice de retenção relativo dos compostos da amostra do óleo essencial (Martins, 2000). Os IKs foram comparados com os dados disponíveis na literatura (Davies, 1990) e aos descritos na biblioteca NIST 69 (National Institute of Standards and Technology).

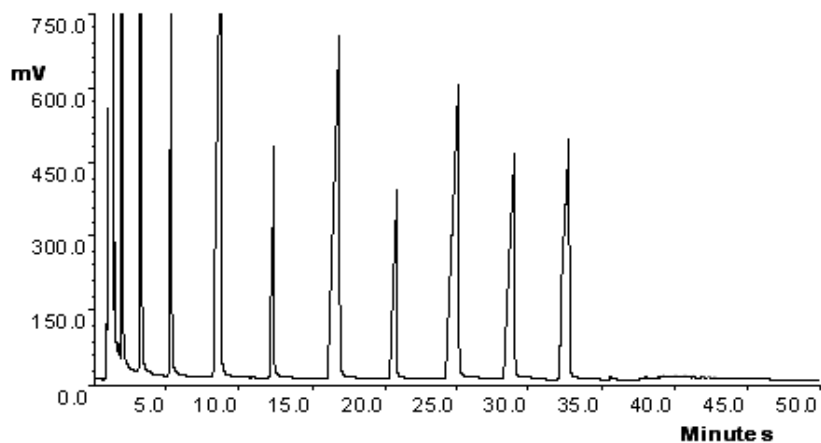


FIGURA 2. Cromatograma da mistura de hidrocarbonetos C_8-C_{17} para confecção da curva de regressão.

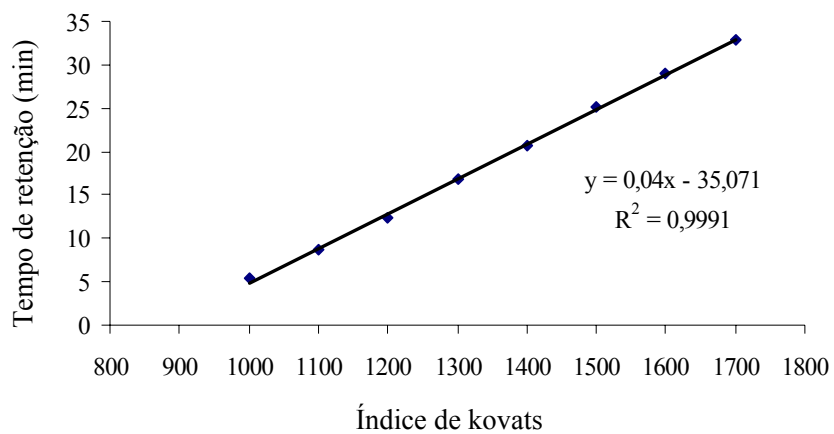


FIGURA 3. Curva de regressão do tempo de retenção em função do índice de kovats de cada hidrocarboneto da mistura C_8-C_{17} .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas de *O. gratissimum* L. coletadas nas condições descritas acima apresentaram rendimento percentual de matéria seca de, em média, 26,73%. Essa perda de umidade está dentro da faixa de redução de massa considerada aceitável para folhas, de acordo com Sartório (2000), a qual está em torno de 20 e 75%.

O rendimento de óleo essencial foi significativamente afetado pelas condições de luminosidade a que as plantas de *O. gratissimum* L. foram submetidas. Na Figura 4, observa-se que as plantas crescidas a pleno sol obtiveram o menor rendimento de óleo em relação aos tratamentos com sombreamento parcial. As plantas sob malhas preta e vermelha não diferiram entre si, enquanto aquelas sob malha azul apresentaram a maior produção percentual de óleo essencial (142% a mais em relação ao tratamento a pleno sol).

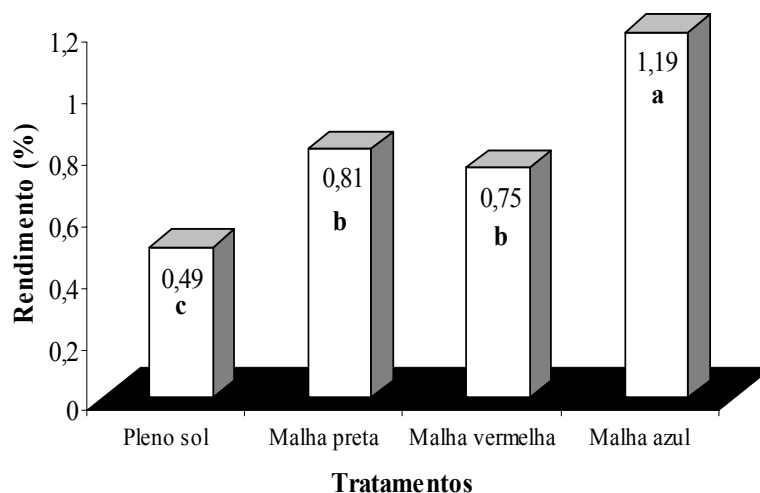


FIGURA 4. Rendimento de óleo essencial nas folhas de *Ocimum gratissimum* L. crescidas sob diferentes condições luminosas.

Pode-se inferir, portanto, que o sombreamento, sobretudo o proporcionado pela malha azul, pode promover a ativação das rotas do metabolismo secundário em *O. gratissimum* L. Dentre as diversas enzimas importantes na biossíntese de moléculas presentes no óleo essencial, a fenilalanina amonialiase (PAL) tem sido considerada como reguladora na formação de muitos compostos fenólicos, inclusive o eugenol (Taiz & Zeiger, 2004). Loschke et al. (1981) observaram que a atividade da PAL aumentava quando plântulas de *Pisum sativum* L. eram submetidas à luz azul; o mesmo efeito foi verificado por Attridge (1974) trabalhando com *Cucumis sativus*.

Guenther (1943), em estudos dos diferentes quimiotipos de *O. gratissimum* L. de diferentes regiões geográficas, encontrou rendimentos de óleo essencial variando entre 0,1-0,6%. Yayi et al. (1999), em oito acessos selvagens dessa mesma espécie, encontraram rendimento de óleo essencial de 0,2 a 0,9%. Sanda et al. (2001) verificaram que o rendimento de *O. gratissimum* L. em folhas frescas permaneceu relativamente constante, em torno de 0,16%, durante 5 meses de cultivo.

Dois espécies da família Lamiaceae foram estudadas por Li et al. (1996), que avaliaram a produção de óleo essencial sob diferentes condições de sombreamento. Em *Thymus vulgaris*, a produção de óleo foi maior nas plantas crescidas em luminosidade total, diminuindo com o decréscimo dos níveis de luz. Por outro lado, em *Salvia officinalis*, as plantas crescidas no sombreamento parcial apresentaram o maior teor de óleo.

As variações nos percentuais dos teores de óleo essencial em função de alterações na intensidade e qualidade espectral da radiação solar evidenciam que o estabelecimento de condições luminosas específicas é fundamental para maximizar a produção de princípios ativos. As respostas celulares à luz são provavelmente indiretas. Elas devem resultar de mudanças localizadas no equilíbrio dos hormônios e metabólitos, que, por sua vez, podem ser causadas

por mudanças na permeabilidade da membrana mediada pelo fitocromo e mudanças enzimáticas resultantes da atividade de genes-chave (Tanaka et al., 1989).

Na Tabela 1 estão dispostos os resultados da análise dos cromatogramas (Figuras 5 a 8), em que estão em destaque, através de números arábicos, os compostos identificados. Fica evidente a presença de duas classes de metabólitos, terpenos e um fenilpropanóide, o eugenol, sendo este o composto majoritário. A concentração do eugenol no óleo essencial variou entre 83 e 88%. Isto informa que as plantas de *O. gratissimum* L. utilizadas neste experimento são pertencentes ao quimiotipo eugenol, como descreve Matos (1998). Os terpenos identificados podem ser considerados como componentes minoritários.

Estudando *O. gratissimum* L. de diferentes regiões geográficas, Guenter (1943) verificou que o óleo essencial continha eugenol variando de 55 a 89%. Vostrowsky et al. (1990) verificaram que o óleo de *O. gratissimum* cultivado nas condições climáticas da Amazônia brasileira continha 46,38% de metil-eugenol e 19,26% de eugenol. Já o estudo realizado por Colson (1991) destacou o eugenol como principal constituinte do óleo das folhas, com teores variando de 43 a 56%. O horário da coleta das folhas determinou consideravelmente o conteúdo de eugenol, em estudo de Silva et al. (1999), sendo que o maior percentual de eugenol foi obtido na coleta realizada às 12:00 horas, 98%.

TABELA 1. Constituintes do óleo essencial das folhas de *O. gratissimum* L., cultivadas em diferentes condições de luminosidade. O símbolo N° refere-se aos picos destacados nos cromatogramas e **IK** corresponde aos índices de Kovats. UFLA, Lavras, MG.

N°	IK	Composto	Tratamentos			
			Pleno sol (%)	Malha preta (%)	Malha vermelha (%)	Malha Azul (%)
1	1322	Eugenol	83,42	85,97	87,51	88,39
2	1338	Terpinil acetato	1,01	1,16	0,88	1,03
3	1376	Isobornil propionato	5,34	4,52	4,18	4,27
4	1387	β -Elemeno	1,13	1,17	0,86	0,82
5	1408	β -Bourboneno	1,1	0,87	0,67	0,69
6	1436	β -Gurjuneno	1,41	2,46	2,11	1,43
7	1481	β -Selineno	1,84	1,27	1,17	1,14

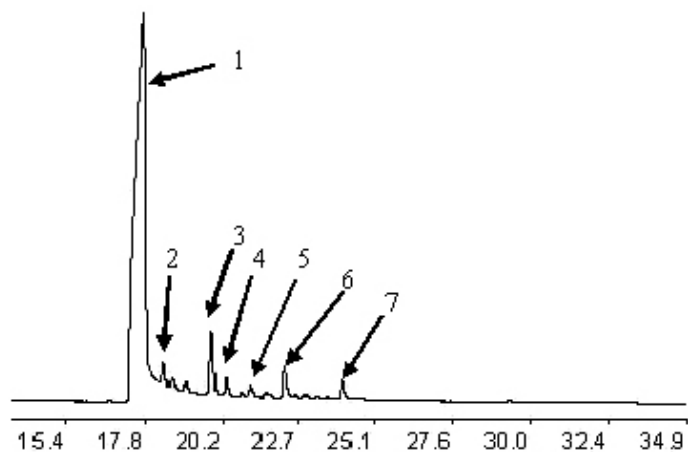


FIGURA 5. Cromatograma do óleo essencial das folhas de plantas de *Ocimum gratissimum* L. crescidas a pleno sol. UFLA, Lavras, MG, 2006.

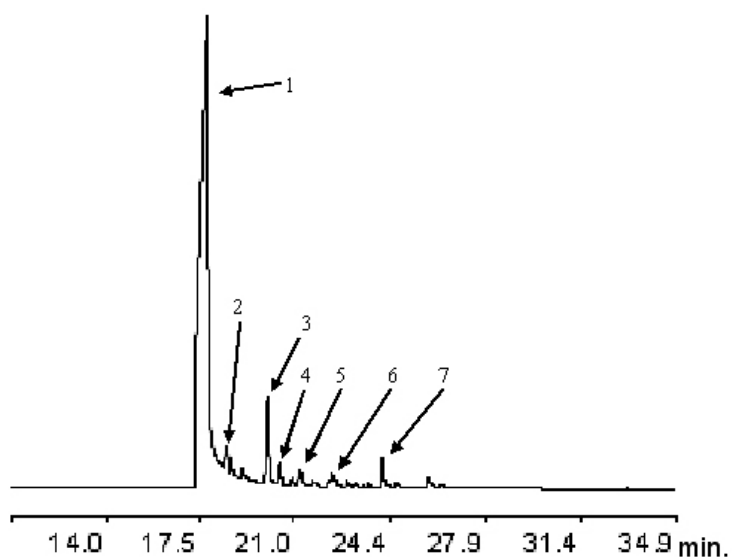


FIGURA 6. Cromatograma do óleo essencial das folhas de plantas de *Ocimum gratissimum* L. crescidas sob malha preta (50%). UFLA, Lavras, MG, 2006.

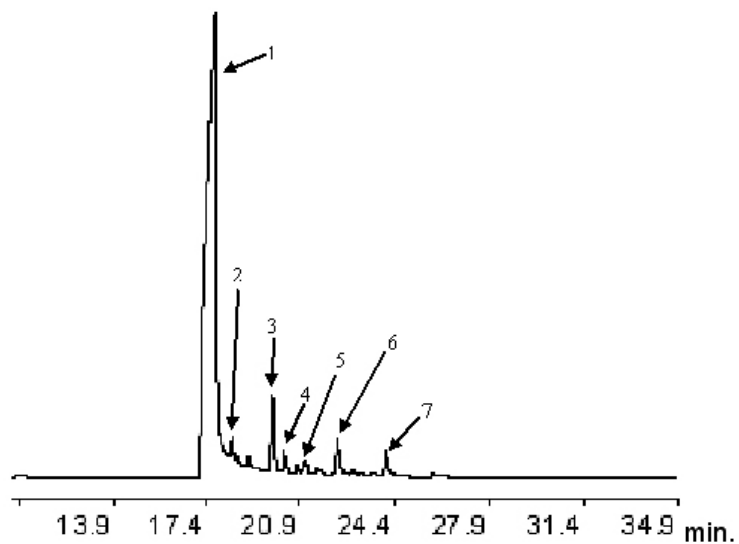


FIGURA 7. Cromatograma do óleo essencial das folhas de plantas de *Ocimum gratissimum* L. crescidas sob malha vermelha (50%). UFLA, Lavras, MG, 2006.

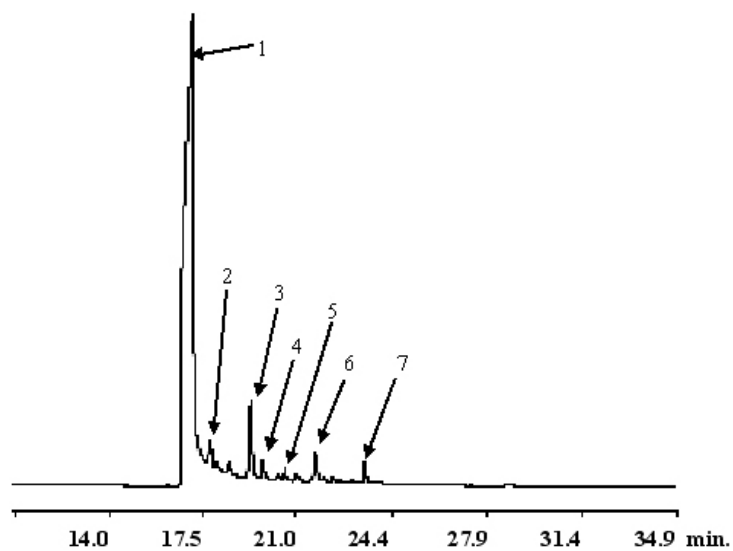


FIGURA 8. Cromatograma do óleo essencial das folhas de plantas de *Ocimum gratissimum* L. crescidas sob malha azul (50%). UFLA, Lavras, MG, 2006.

6 CONCLUSÕES

As folhas das plantas de *Ocimum gratissimum* L. apresentaram, em média, 26,7% de matéria seca.

Os teores percentuais de óleo essencial de *O. gratissimum* L. variaram consideravelmente em função da intensidade e qualidade da luz no ambiente de cultivo.

As plantas de *O. gratissimum* L. crescidas em condições de sombreamento parcial acumularam maior quantidade de óleo essencial que aquelas a pleno sol.

A qualidade espectral da radiação no ambiente sob malha azul proporcionou uma produção 142% maior de óleo essencial por unidade de massa seca em relação às plantas sob pleno sol.

As plantas de *O. gratissimum* L. utilizadas neste experimento são do quimiotipo eugenol, uma vez que este é o composto majoritário do óleo essencial, com concentrações variando entre 83 e 88% nos tratamentos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATTRIDGE, T. H.; SMITH, H. Density-labelling evidence for the blue-light-mediated activation of phenylalanine ammonia lyase in *Cucumis sativus* seedlings. **Biochimica Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 343, n. 3, p. 452-464, 1974.

BRASIL. Normais Climatológicas. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação, Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais Climatológicas – 1960-1991**. Brasília, 1992. 84p.

COLSON, M.; TETENY, P.; PERRIN, A. Characterization of foliar appendages and essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Herba Hungarica**, Budapest, v. 30, n. 1, p. 5-14, 1991.

DAVIES, N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 503, n. 1, p. 1-24, Mar. 1990.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Toronto: Pergamon Press, 1975. 611 p.

GANG, D. R.; WANG, J.; DUDAREVA, N.; NAM, K. H.; SIMON, J. E.; LEWINSOHN, E.; PICHERSKY, E. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 2, p. 539-555, Feb. 2001.

GOTTLIEB, O. R.; SALATINO, A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 39, n. 8, p. 707-716, ago. 1987.

GUENTER, E. **The essential oil**: individual essential oils of the plants family Labiatae. New York: D. Von Nostrand, 1943, v. 3, 777 p.

GULATI, B.; SINHÁ, G. K. Studies on some important species of *Ocimum*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ESSENCIAL OILS, 11., 1989, New Delhi. **Proceeding**. New Dalhi: Aspect Publishing, 1990. p. 49.

HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem e comercialização. Viçosa: UFV, 1998. 220 p.

HOLETZ, F. B.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G.; MORGADO-DÍAZ, J. A.; NAKAMURA, C. V. Effect of Essential Oil of *Ocimum gratissimum* on the trypanosomatid *Herpetomonas samuelpeessoai*. **Acta Protozoologica**, Warsaw, v. 42, n. 4, p. 269-276, Nov. 2003.

JENNINGS, W.; SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography**. New York: Academic Pres, 1980. 472 p.

JORGE, L. I. F.; ROQUE, M. F.; FERRO, V. O. L. *Ocimum micranthum* - manjeriço do Brasil: caracterização histológica e química. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 47-50, jan./jun. 1992.

LEMOS, J. A.; PASSOS, X. S.; FERNANDES, O. F. L.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H.; HASIMOTO E SOUZA, L. K.; LEMOS, A. A.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, São Paulo, v. 100, n. 1, p. 55-58, 2005.

LETCHAMO, W.; GROSSELIN, A. Transpiration, essential oil gland, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. **Journal Horticultural Science**, Ashford, v. 71, n. 1, p. 123-134, jan. 1996.

LETCHAMO, W.; MARQUARD, R. et al. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. **Angewandte Botanik**, Berlin, v. 68, n. 3/4, p. 83-88, Oct. 1994.

LI, Y.; CRAKER, L. E.; POTTER, T. Effect of light on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturiae**, Amsterdam, v. 426, p. 419-426, 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas, São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.

LOSCHKE, D. C.; HADWIGER, L. A.; SCHRODER, L.; HAHLBROCK, K. Effects of light and of *Fusarium solani* on synthesis and activity of Phenylalanine Ammonia-Lyase in peas. **Plant Physiol**, Rockville, v. 68, n. 3, p. 680-685, 1981.

MARTINS, P. M. **Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e da composição química do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf.)**. 2000. 77 p. Tese (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

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

NAKAMURA, C. V.; ISHIDA, K.; FACCIN, L. C.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ROZENTAL, S.; SOUZA, W.; UEDA-NAKAMURA, T. In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 155, n. 7, p. 579-586, Sept. 2004.

NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A. F. N.; CORTEZ, D. A. G.; FILHO, B. P. D. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, São Paulo, v. 94, n. 5, p. 675-678, 1999.

NDOUNGA, M.; OUAMBA, J. M. Antibacterial and antifungal activities of essential oils of *Ocimum gratissimum* and *O. basilicum* from Congo. **Fitoterapia**, Milano, v. 68, p. 190-191, 1997.

OREN-SHAMIR, M.; GUSSAKOVSKY, E. E.; SHPIEGEL, E.; NISSIM-LEVI, A.; RATNER, K.; OVADIA, R.; GILLER, YU. E.; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 76, n. 3, p. 353-361, May 2001.

SANDA, K.; KOKA, K.; AKPAGANA, K.; TCHEPAND, T. Content and chemical composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. at different harvesting dates after planting. **Rivista Italiana Essenze, Profumi, Piante Officinali Olii Vegetali Saporii**, Milano, n. 31, p. 3-7, 2001.

SARTÓRIO, M. L. **Cultivo orgânico de plantas medicinais**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000. 258 p.

SHAHAK, Y.; GUSSAKOVSKY, E. E.; GAL, E.; GANELEVIN, R. Colornets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 659, p. 143-151, 2004.

SILVA, M. G. V.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**, v. 70, n. 1, p. 32-34, 1999.

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

TANAKA, S.; YAMAURA, T.; SHIGEMOTO, R.; TABATA, M. Phytochrome mediated production of monoterpenes in thyme seedling. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 11, p. 2955-2957, Nov. 1989.

UEDA-NAKAMURA, T.; MENDONÇA, R. R.; MORGADO-DIAZ, J. A. et al. Antileishmanial activity of eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. **Parasitology International**, Clare, v. 55, n. 2, p. 99-105, 2006.

VOSTROWSKY, O.; GARBE, W.; BESTMANN, H. J.; MAIA, J. G. S. Essential oil of alfavaca, *Ocimum gratissimum*, from brazilia amazon. **Zeitschrift fur Naturforschung C. Bioscience**, Tubirigen, v. 45, n. 9/10, p. 1073-1076, Sept./Oct. 1990.

WASICKY, R; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339-405, 1969.

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. (Ed.) **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Harlow: Longman Scientific, Technical, 1993. p. 47-61.

YAMAURA, T.; TANAKA, S.; TABATA, M. Light-dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 741-744, Mar. 1989.

YAYI, E.; MOUDACHIROU, M.; CHALCHAT, J. C. Essential oil of *Ocimum gratissimum* from Benin. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Streams, v. 11, p. 529-531, 1999.

ANEXOS

	Pág.
TABELA 1A Análise química do solo utilizado como substrato das mudas de <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	178

TABELA 1A. Análise química do solo utilizado como substrato para cultivo das mudas de *Ocimum gratissimum* L.

Parâmetros	Substrato
pH em água	5,9
P (mg/dm ³)	2,5
K (mg/dm ³)	62
Ca (cmolc/dm ³)	2,2
Mg (cmolc/dm ³)	0,4
Al (cmolc/dm ³)	0,0
H + Al (cmolc/dm ³)	2,6
SB (cmolc/dm ³)	2,8
t (cmolc/dm ³)	2,8
T (cmolc/dm ³)	5,4
V (%)	51,5
MO (dag/kg)	2,9
P-rem (mg/L)	2,6
Zn (mg/dm ³)	3,4
Fe (mg/dm ³)	73,3
Mn (mg/dm ³)	62,1
Cu (mg/dm ³)	5,7
Br (mg/dm ³)	0,4
S (mg/dm ³)	158,7

*Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, Lavras, MG, 2005.