



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE  
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS  
FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L. (LAMIACEAE) SOB INFLUÊNCIA DE TAXAS  
DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE NITROGÊNIO**

**CRISÁLIDA MACHADO VILANOVA**

**São Luís – MA**

**2018**

**CRISÁLIDA MACHADO VILANOVA**

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS  
FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L. (LAMIACEAE) SOB INFLUÊNCIA DE TAXAS  
DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE NITROGÊNIO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Estadual do Maranhão, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Gomes de Moura.

Co-orientadora: Profa. Dra. Denise Fernandes Coutinho.

**São Luís – MA**

**2018**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Vilanova, Crisálida Machado.

Avaliação do crescimento e da produção de óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* L. Lamiaceae sob influência de taxas de aplicação de água e de nitrogênio / Crisálida Machado Vilanova. - 2018. 201 f.

Coorientador(a): Denise Fernandes Coutinho.

Orientador(a): Emanuel Gomes de Moura.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Alfavaca. 2. Capacidade de campo. 3. Compostos aromáticos. 4. Nutriente. I. Coutinho, Denise Fernandes. II. Moura, Emanuel Gomes de. III. Título.

**CRISÁLIDA MACHADO VILANOVA**

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS  
FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L. (LAMIACEAE) SOB INFLUÊNCIA DE TAXAS  
DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE NITROGÊNIO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Estadual do Maranhão, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Conservação.

Aprovada em:    /    /

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Emanuel Gomes de Moura  
(Orientador – Presidente da Banca)

---

Prof. Dr. Fabrício de Oliveira Reis  
(Examinador 2 - UEMA)

---

Prof. Dr. Fábio Afonso Mazzei Moura de Assis Figueiredo  
(Examinador 3 - UEMA)

---

Profa. Dra. Flávia Maria Mendonça do Amaral  
(Examinador 4 - UFMA)

---

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro  
(Examinador 5 - UFMA)

*À todos os meus antepassados, especialmente às  
mulheres fortes e guerreiras da minha família  
que me precederam e as que virão depois de mim.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, pela proteção, luz, coragem, força e determinação concedidas a mim em todos os momentos da minha vida e por ter me concedido a graça de vencer mais essa etapa.

Aos meus amados pais, João e Lúcia, e à todos os meus antepassados paternos e maternos por terem contribuído para fazer de mim o que sou e terem me ajudado a chegar onde cheguei.

Ao meu amado marido, Daniel, pelo apoio e estímulo, pela compreensão às minhas ausências, pelos sonhos sonhados juntos, pela partilha e pelo amor presente em cada gesto.

Aos meus queridos familiares e amigos pelo apoio e orações indispensáveis para a conclusão deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Emanuel Gomes de Moura, pelo exemplo de profissional, por ter me aceito como sua orientanda e por todo apoio, incentivo, paciência, ensinamento e presteza durante a execução deste trabalho.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Denise Fernandes Coutinho, pelo exemplo de profissional, colega, mãe e mulher, pela sua humildade em ter me aceito como sua co-orientanda e por todo auxílio, amparo e contribuição valiosa na execução da parte química deste trabalho.

À Dra. Kátia Pereira Coelho pelas contribuições na análise estatística e na revisão de texto e elaboração do artigo científico deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro pelo profissional prestativo que é, sempre se colocando a disposição para ajudar no que fosse preciso, inclusive disponibilizando seu laboratório e equipamentos para a realização dos estudos químicos deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Almeida pela disponibilidade e presteza na confirmação da identificação da espécie vegetal.

Aos colegas farmacêuticos Tássio Rômulo Silva Araújo Luz e Daniella Patrícia Brandão Silveira pela imensa colaboração na execução dos estudos químicos deste trabalho, especialmente na extração e identificação dos componentes químicos do óleo essencial e por sempre estarem dispostos a ajudar com um sorriso no rosto apesar do cansaço e da correria do dia-a-dia.

Ao “Neto” pela sua disponibilidade, ajuda e presteza durante o cultivo da espécie vegetal no Campo Experimental do Núcleo Tecnológico de Engenharia Rural do Curso de Agronomia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

Aos colegas do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão pelo apoio e estímulo fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos meus alunos do Curso de Farmácia pela compreensão nos momentos difíceis de conciliação do Doutorado com as aulas do Curso de Farmácia sob minha responsabilidade.

Aos colegas do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE pelo apoio, informações partilhadas, risadas, desabafos e todos os bons momentos de convívio durante o curso.

À todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE.

À todos que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

## RESUMO

*Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) é uma planta medicinal popular com vasto potencial para uso nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia. A água e o nitrogênio podem, não apenas afetar o desenvolvimento geral do vegetal, mas alterar sua composição química e, consequentemente, a qualidade de produtos elaborados a partir dessa matéria-prima vegetal. Foram estudados os efeitos de taxas de aplicação de água [60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>), 100% (I<sub>100</sub>) e 110% (I<sub>110</sub>) da capacidade de campo (CC)] e de adubação nitrogenada [0 kg (N<sub>0</sub>), 40 kg (N<sub>2</sub>), 80 kg (N<sub>4</sub>) e 160 kg (N<sub>8</sub>) de nitrogênio/ha] no crescimento e na produção e composição química do óleo essencial das folhas dessa espécie vegetal. O experimento foi conduzido em 2016 por 60 dias em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os constituintes voláteis extraídos por hidrodestilação foram isolados e identificados por CG-EM. A deficiência hídrica foi determinante para o surgimento de murchamento e manchas nas folhas de *Ocimum gratissimum*, enquanto que os sintomas de necrose, necrose apical, abscisão e clorose apresentaram correlação somente com a deficiência de nitrogênio. Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) no crescimento e produção de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* para a taxa de aplicação de água, nitrogênio e interação entre esses dois fatores. Os valores máximos de largura (8,3 cm), comprimento (11,5 cm) e número de folhas (301,3), massa seca foliar (52,5 g/planta), teor de óleo essencial (1,58%) e rendimento de óleo (82,9 mL/planta) foram obtidos no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. Vinte compostos foram identificados em cada óleo essencial com predominância de fenilpropanoides no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> e de monoterpenos nos demais tratamentos. A taxa de aplicação de água acima da capacidade de campo, juntamente com uma dose de nitrogênio mais alta do que o normalmente recomendado, melhora o crescimento do vegetal e aumenta a produção de seu óleo essencial, com modificação da via metabólica.

**Palavras-chave:** Alfavaca. Capacidade de campo. Nutriente. Compostos aromáticos.



## ABSTRACT

*Ocimum gratissimum* L. (clove basil) is a popular medicinal plant with vast potential for use in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. Water and nitrogen can not only affect the overall development of the vegetable, but alter its chemical composition and, consequently, the quality of products made from that vegetable raw material. The effects of different water application rates, 60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>), 100% (I<sub>100</sub>) and 110% (I<sub>110</sub>) of field capacity (FC), and nitrogen fertilisation, 0 (N<sub>0</sub>), 40 (N<sub>2</sub>), 80 (N<sub>4</sub>) and 160 (N<sub>8</sub>) kg of nitrogen/ha, on growth and essential oil of this species were studied. The experiment was carried out in 2006 for 60 days in a greenhouse in a completely randomised design with three replicates. The isolated volatile constituents were analysed by GC–MS. The water deficiency was determinant for the appearance of wilting and staining on the leaves of *cimum. gratissimum*, while the symptoms of necrosis, apical necrosis, abscission and chlorosis presented correlation only with nitrogen deficiency. There was a significant ( $p < 0.05$ ) effect on the growth and production of *Ocimum gratissimum* essential oil for water application rate, nitrogen and the interaction between these two factors. The maximum values of width (8.3 cm), length (11.5 cm) and number of leaves (301.3), leaf dry matter (52.5 g/plant), essential oil content (1.58%) and oil yield (82.9 mL/plant) were obtained in the I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment. Twenty compounds were identified in each clove basil essential oils with predominance of phenylpropanoids in the I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment, and of monoterpenes in the other treatments. The water application rate above field capacity together with nitrogen dose higher than normally recommended improves plant growth and increases the production of its essential oil by modifying the metabolic pathway.

**Key-words:** Clove basil. Field capacity. Nutrient. Volatile oil. Aromatic compounds.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | p. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Capacidade de água disponível, capacidade de campo e ponto de murcha permanente .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 20 |
| Figura 2 - Absorção de nitrogênio pelos vegetais .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 25 |
| Figura 3 - Rotas biossintéticas de espécies vegetais .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 32 |
| Figura 4 - Classificação e estrutura química geral dos terpenos .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 33 |
| Figura 5 - Biossíntese dos terpenos via ácido mevalônico (MEV) e via metileritritol fosfato (MEP) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 34 |
| Figura 6 - Principais classes de compostos fenólicos sintetizados via ácido chiquímico .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 36 |
| Figura 7 - Biossíntese de fenilpropanoides .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 37 |
| Figura 8 - Estrutura básica de alcaloides não heterocíclicos ou protoalcaloides (I) e alcaloides heterocíclicos ou alcaloides verdadeiros (II) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 38 |
| Figura 9 - Esquema da cianogênese a partir do glicosídeo cianogênico em vegetais .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 39 |
| Figura 10 - Estrutura química geral de glucosinolatos .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 39 |
| Figura 11 - Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em uma espécie vegetal .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 41 |
| Figura 12 - Estruturas secretoras observadas em óleos essenciais .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 45 |
| Figura 13 - Hidrodestilação de óleo essencial em aparelho do tipo Clevenger .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 47 |
| Figura 14 - Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 50 |
| Figura 15 - A espécie vegetal <i>Ocimum gratissimum</i> L. (A) com suas flores (B) e folhas (C) em detalhe .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 61 |
| Figura 16 - Estrutura dos principais componentes químicos identificados na espécie <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 78 |
| Figura 17 - Folhas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. submetidas aos tratamentos I <sub>100</sub> N <sub>0</sub> (A) com necrose (seta longa), I <sub>100</sub> N <sub>2</sub> (B) com amarelamento e necrose apical (seta longa) e manchas (seta curta) e I <sub>60</sub> N <sub>4</sub> (C) com raquitismo e manchas (seta curta) decorrentes da variação nas taxas de aplicação de água e de fertilização nitrogenada em comparação com folhas sadias do tratamento I <sub>110</sub> N <sub>8</sub> (D) ..... | 91 |
| Figura 18 - Frequência dos sintomas visuais das folhas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. em função das variações nas taxas de aplicação de água (A) e de fertilização nitrogenada (B) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 92 |
| Figura 19- Distribuição dos tratamentos (a) e constituintes químicos (b) do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. em relação aos dois componentes principais por meio da análise dos principais componentes (PCA) para taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada com tratamento adicional de 110% de capacidade de campo e 8.0 g de nitrogênio por vaso (I <sub>110</sub> N <sub>8</sub> ). ....                                                                                             | 99 |
| Figura 20- Distribuição dos tratamentos (a) e constituintes químicos (b) do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. em relação aos dois componentes principais por meio da análise dos principais componentes (PCA)                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |

|                                                                                                                                                                                            |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>para taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada sem o tratamento adicional de 110% de capacidade de campo e 8 g de nitrogênio por vaso (I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>). .....</b> | <b>101</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                    | p. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Classes de metabólitos secundários identificadas em <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                                                                   | 63 |
| Tabela 2 - Micro-organismos sensíveis à espécie vegetal <i>Ocimum gratissimum</i> L. .                                                                                                             | 66 |
| Tabela 3 - Fungos sensíveis à espécie vegetal <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                                                                                    | 68 |
| Tabela 4 - Componentes identificados no óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                                                                        | 72 |
| Tabela 5 - Bactérias sensíveis ao óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                                                                              | 81 |
| Tabela 6 - Fungos sensíveis ao óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                                                                                 | 83 |
| Tabela 7 - Propriedades químicas do substrato utilizado nos experimentos. ....                                                                                                                     | 86 |
| Tabela 8 - Efeito de taxas de aplicação de água em cada dose de nitrogênio nos parâmetros morfométricos e na produção de óleo essencial das folhas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....            | 94 |
| Tabela 9 - Efeito de diferentes doses de nitrogênio em cada taxa de aplicação de água nos parâmetros morfométricos e na produção de óleo essencial das folhas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. .... | 95 |
| Tabela 10 - Composição química do óleo essencial das folhas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. submetidas à taxas de aplicação de água e de fertilização nitrogenada .....                            | 97 |

## SUMÁRIO

|          |                                                                                                     |      |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
|          |                                                                                                     | p.   |
|          | <b>RESUMO</b> .....                                                                                 | vii  |
|          | <b>ABSTRACT</b> .....                                                                               | viii |
|          | <b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....                                                                   | ix   |
|          | <b>LISTA DE TABELAS</b> .....                                                                       | xi   |
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....                                                                       | 14   |
| <b>2</b> | <b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....                                                                    | 17   |
| 2.1      | CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE ESPÉCIES VEGETAIS .....                                            | 17   |
| 2.1.1    | Influência da água no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais .....                      | 20   |
| 2.1.2    | Influência do nitrogênio no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais .....                | 24   |
| 2.1.3    | Influência da interação água-nitrogênio no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais ..... | 28   |
| 2.2      | METABÓLITOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS DE ESPÉCIES VEGETAIS .....                                      | 30   |
| 2.2.1    | Compostos terpênicos .....                                                                          | 32   |
| 2.2.2    | Compostos fenólicos .....                                                                           | 35   |
| 2.2.3    | Compostos nitrogenados .....                                                                        | 37   |
| 2.2.4    | Fatores extrínsecos que influenciam o metabolismo vegetal .....                                     | 40   |
| 2.3      | ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES VEGETAIS .....                                                         | 43   |
| 2.3.1    | Composição química dos óleos essenciais .....                                                       | 44   |
| 2.3.2    | Localização dos óleos essenciais .....                                                              | 45   |
| 2.3.3    | Métodos de extração dos óleos essenciais .....                                                      | 46   |
| 2.3.4    | Técnicas analíticas para determinação da composição dos óleos essenciais .....                      | 48   |
| 2.3.5    | Efeitos da água na produção e composição dos óleos essenciais .....                                 | 50   |
| 2.3.6    | Efeitos do nitrogênio na produção e composição dos óleos essenciais .....                           | 52   |
| 2.3.7    | Efeitos da interação água-nitrogênio na produção e composição dos óleos essenciais .....            | 54   |
| 2.4      | CRITÉRIOS DE QUALIDADE DE DROGAS VEGETAIS E DE ÓLEOS ESSENCIAIS .....                               | 55   |
| 2.5      | A ESPÉCIE VEGETAL <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                                 | 59   |
| 2.5.1    | Estudos etnofarmacológicos relacionados à <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                         | 59   |
| 2.5.2    | Características morfológicas e anatômicas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                      | 60   |
| 2.5.3    | Características químicas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                       | 63   |
| 2.5.4    | Características farmacológicas de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                 | 66   |
| 2.5.5    | O óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                                               | 72   |
| 2.5.5.1  | Características químicas do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                     | 72   |
| 2.5.5.2  | Características farmacológicas do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....               | 80   |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....                                                                              | 85   |
| 3.1      | OBJETIVO GERAL .....                                                                                | 85   |
| 3.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                                         | 85   |
| <b>4</b> | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                                                                     | 86   |
| 4.1      | INSTALAÇÃO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL NA CASA DE                                                   |      |

|          |                                                                                                                                                                                  |     |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
|          | VEGETAÇÃO .....                                                                                                                                                                  | 86  |
| 4.2      | CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....                                                                                                                                                  | 87  |
| 4.3      | EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....                                                                                                                                                 | 88  |
| 4.4      | ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL .....                                                                                                                                          | 88  |
| 4.5      | IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL .....                                                                                                                   | 88  |
| 4.6      | PARÂMETROS ANALISADOS .....                                                                                                                                                      | 89  |
| 4.7      | AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS .....                                                                                                                                     | 89  |
| 4.8      | AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS QUÍMICOS .....                                                                                                                                          | 89  |
| 4.9      | ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                                                                                                                                        | 90  |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS</b> .....                                                                                                                                                          | 91  |
| 5.1      | SINTOMAS VISUAIS E SUA EVOLUÇÃO NAS FOLHAS DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. DECORRENTES DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA .....          | 91  |
| 5.2      | CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. EM FUNÇÃO DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA .....   | 93  |
| 5.3      | COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. EM FUNÇÃO DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA .....       | 96  |
| <b>6</b> | <b>DISCUSSÃO</b> .....                                                                                                                                                           | 102 |
| 6.1      | SINTOMAS VISUAIS DA INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NAS FOLHAS DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....                            | 102 |
| 6.2      | INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NO CRESCIMENTO E NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. .... | 104 |
| 6.3      | INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Ocimum gratissimum</i> L. ....        | 107 |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÕES</b> .....                                                                                                                                                          | 115 |
|          | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....                                                                                                                                          | 116 |
|          | <b>ANEXOS</b> .....                                                                                                                                                              | 160 |
|          | <b>Anexo A</b> – Artigo 1 publicado na revista <i>Journal of Agricultural Science</i> .....                                                                                      | 161 |
|          | <b>Anexo B</b> – Artigo 2 publicado na revista <i>Industrial Crops and Products</i> .....                                                                                        | 171 |
|          | <b>Anexo C</b> – Artigo de revisão publicado na revista <i>Scientia Amazonia</i> .....                                                                                           | 184 |

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As espécies vegetais podem ser influenciadas por fatores extrínsecos (relacionados ao ambiente no qual vivem), como temperatura, pluviosidade, luminosidade, nutrição, dentre outros, com impacto na fisiologia vegetal e na sua biossíntese metabólica (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Em condições naturais, os vegetais raramente experimentam fatores extrínsecos únicos, um de cada vez, mas são muito mais propensos a serem expostos a múltiplos estressores simultaneamente (CASTRO et al., 2017). A influência de múltiplos fatores de estresse comumente experimentados por plantas em ambientes de campo é frequentemente interativa. O conhecimento de como múltiplos estressores afetam o acúmulo de metabólitos secundários em plantas fornecerá mais informações para avaliar os papéis biológicos desses metabólitos na mitigação do estresse e fornecer critérios para descrever seus rendimentos e qualidade ótimos (NCUBE et al., 2012). Assim, isso proporciona um meio de garantir a qualidade do fitomedicamento, que tem aumentado em importância nas regiões tropicais, não apenas devido à sua força como terapia alternativa, mas também devido à prevalência de doenças negligenciadas nas comunidades locais (CHEUKA et al., 2016).

A maior ou menor disponibilidade de água e de nitrogênio são fatores que podem comprometer a própria sobrevivência do vegetal. A água participa de processos fisiológicos fundamentais da espécie, como a fotossíntese (XU et al., 2015), enquanto o nitrogênio (um nutriente essencial) entra na constituição de componentes básicos, como a clorofila, principal pigmento fotossintetizante do vegetal (NETO & MACEDO, 2017). A água e o nitrogênio podem, não apenas afetar o desenvolvimento geral do vegetal, mas alterar a rota metabólica e a consequente produção de metabólitos, como os óleos essenciais.

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de compostos produzidos pelo vegetal (principalmente terpenos) que estão permanentemente e maciçamente presentes em estruturas específicas de armazenamento internas (como ductos ou cavidades secretoras) e/ou externas (como tricomas) da folha em concentrações da ordem de 1 g/g-mg/g (ORMEÑO et al., 2011). Os óleos essenciais são produzidos para que os vegetais suportem numerosas condições de estresse, além de mediar interações ecológicas com o ambiente biótico (SEIGLER, 1998; ORMEÑO & FERNANDEZ, 2012). No entanto, restrições ambientais podem limitar várias respostas fisiológicas e metabólicas do vegetal, como acúmulo de soluto e antioxidante e expressão de genes específicos de estresse, que interferem na produção de BVOCs (TUTEJA & SINGH GILL, 2013; AHANGER et al., 2017). As quantidades de óleos

essenciais produzidos sob condições de estresse podem ser modificadas, dependendo da espécie e magnitude do estresse (SANGWAN et al., 2001; PRADHAN et al., 2017).

O Brasil, em função de sua grande extensão territorial, possui características edafoclimáticas peculiares e distintas em cada uma de suas cinco regiões, que podem interferir no desenvolvimento das espécies nativas ou introduzidas, mesmo que as condições sejam semelhantes às do local de origem. A falta de domínio tecnológico em todas as etapas de desenvolvimento do vegetal levará, provavelmente, à baixa qualidade da sua biomassa e redução nos teores e rendimento dos seus principais constituintes químicos (MARCHESE & FIGUEIRA, 2005).

O Ministério da Saúde do Brasil tem incentivado o uso racional de vegetais com fins terapêuticos e seus produtos, incluindo a produção agrícola sustentável desses vegetais, através da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006). A partir daí várias legislações e recomendações foram elaboradas no Brasil, objetivando a implantação da fitoterapia racional no território brasileiro, destacando-se a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), que consiste em 71 espécies vegetais de interesse do Ministério da Saúde para o desenvolvimento de pesquisas que levem a produção de produtos que possam ser utilizadas no Serviço Único de Saúde (SUS). A prioridade é para espécies nativas que possam ser cultivadas em pelo menos uma das regiões do país e que permitam a utilização terapêutica para tratamento das doenças mais comuns dos brasileiros (BRASIL, 2009).

Dentre as espécies vegetais do RENISUS presentes no Maranhão, destaca-se *Ocimum gratissimum* L., uma planta arbustiva eudicotiledônea, pertencente à família Lamiaceae, que se destaca pela qualidade, quantidade e diversidade química do seu óleo essencial. Esse óleo essencial é utilizado em aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia e alguns dos seus compostos químicos possuem propriedades antibacterianas, inseticidas e antioxidantes (SANTOS et al., 2016).

Embora existam diversos trabalhos que tratam do efeito do estresse hídrico e nutricional sobre *Ocimum gratissimum* (OSUAGWU et al., 2010; ORMEÑO & FERNANDEZ, 2012; ADE-ADEMILUA et al., 2013), informações sobre a influência de fatores de estresses múltiplos e interativos comumente experimentado por vegetais em campo em circunstâncias tropicais são escassas para essa espécie. Nessas circunstâncias tropicais, com alta taxa de evapotranspiração potencial e solos com baixo teor de matéria orgânica, a produção agrícola é co-limitada tanto pela água quanto pelo nitrogênio disponíveis e pelo manejo inadequado do solo. De tal forma que é estimado que a produção pode ser aumentada em 45 a 70% para a maioria das culturas, seguindo melhorias na gestão da água e do



nitrogênio e entendendo suas interações no rendimento das culturas (MUELLER et al., 2012; SADRAS et al., 2016).

Embora os estresses de água e nitrogênio tenham sido relatados como a principal causa da baixa produção de óleo essencial nas culturas, as interações imprevisíveis são uma causa fundamental de complexidade nos processos de crescimento e produção de óleo essencial quando afetados pelo estresse ambiental (MOHIDIN et al. , 2015; ALVES et al., 2017; BORTOLHEIRO & SILVA, 2017; FAHAD et al., 2017; GONG et al., 2018; KHAN et al., 2018). Isso pode causar resultados contraditórios de estresses de água e nitrogênio na produção de óleo essencial, quando tratados sozinhos, e considerando que o efeito combinado de vários estresses é mais diverso, os esforços de pesquisas voltados para a compreensão dessa diversidade são essenciais.

Com base nisso, este trabalho busca avaliar a influência de taxas de aplicação de água e de doses de nitrogênio no crescimento de *Ocimum gratissimum* e na produção do seu óleo essencial.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Para melhor entendimento da delimitação e do conhecimento atual sobre o tema estudado, o referencial teórico deste trabalho apresenta dados compilados na seguinte ordem: crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais; metabólitos primário e secundário de espécies vegetais; óleos essenciais de espécies vegetais; critérios de qualidade de drogas vegetais e de óleos essenciais; e a espécie vegetal *Ocimum gratissimum* L.

### 2.1 CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE ESPÉCIES VEGETAIS

Os órgãos vegetais possuem características, tamanhos e formas específicas de cada vegetal (BREUNINGER & LENHARD, 2010). Na literatura existem vários critérios diferentes para a determinação das taxas de crescimento dos vegetais, como: altura ou largura do vegetal, massa (fresca ou seca), número de células, proteína ou outro conteúdo de substâncias essenciais (BRUKHIN & MOROZOVA, 2011).

O crescimento e o desenvolvimento de vegetais são processos independentes que podem ocorrer simultaneamente ou não. Enquanto crescimento vegetal se refere a mudanças irreversíveis de dimensões físicas de órgãos vegetais como massa, volume, comprimento e área, desenvolvimento vegetal envolve a diferenciação celular, a morfogênese, o aparecimento e a senescência de órgãos. Assim, um vegetal crescendo não necessariamente está se desenvolvendo e vice-versa (FAGUNDES et al., 2007).

Os vegetais, de modo diferente dos animais, têm um padrão de crescimento indeterminado que é capaz de crescer e produzir novas células durante toda a vida útil e o processo de crescimento vegetal é grande parte o resultado do aumento do número de células e do seu tamanho. Normalmente, o processo de crescimento de cada célula passa por três fases diferentes: divisão celular, aumento de volume e diferenciação. No entanto, em alguns casos, uma dessas fases pode ser ignorada. Cada fase tem suas próprias características moleculares e fisiológicas específicas, embora em alguns estágios de desenvolvimento, duas ou mesmo três fases podem ocorrer simultaneamente (BRUKHIN & MOROZOVA, 2011).

As paredes celulares são características importantes das células vegetais que desempenham uma série de funções essenciais, incluindo proporcionar forma aos muitos tipos de células diferentes necessários para formar os tecidos e órgãos de um vegetal (KEEGSTRA, 2010).

O tamanho, a forma e a estabilidade de um vegetal dependem da flexibilidade e integridade de suas paredes celulares, o que, ao mesmo tempo, precisa permitir expansão

celular para o crescimento, mantendo a estabilidade mecânica. As propriedades mecânicas da parede celular do vegetal são definidas por sua composição bioquímica e interações específicas entre os polímeros de parede individuais (VOGLER et al., 2015).

Com base nas diferenças estruturais e funcionais, as paredes das células do vegetal podem ser caracterizadas em dois tipos: a parede celular primária e a parede celular secundária. A composição e a organização estrutural das paredes celulares primárias e secundárias tem sido uma força motriz importante para a diversificação evolutiva dos vegetais na Terra. A parede celular primária contém celulose, hemicelulose e pectina e é sintetizada durante a fase de crescimento da célula, quando a parede celular se expande devido às forças da pressão de turgor interna que empurram para fora contra a membrana plasmática e a parede celular. A parede celular secundária contém celulose, hemicelulose e lignina, é depositada em tipos celulares específicos após a cessação do crescimento celular e geralmente é mais espessa e mais rígida do que a parede celular primária (LI et al., 2014).

A parede celular do vegetal deve, ao mesmo tempo, ser forte o suficiente para suportar a turgescência e flexível o suficiente para permitir a expansão celular controlada. Para resolver este dilema, é necessária uma coordenação perfeita entre a deformação e modificação da parede existente e a secreção e deposição de material de parede celular nova. O crescimento das células vegetais é uma interação bem ajustada entre a expansão celular de turgor e a resistência proporcionada pela parede celular. A importância da turgescência para o crescimento dos vegetais tem sido conhecida há muito tempo (VOGLER et al., 2015).

Acredita-se que o crescimento rápido dos vegetais gera um alongamento irreversível das paredes celulares primárias devido às cargas mecânicas geradas pela pressão de turgor celular ou turgescência. A pressão de turgor, a pressão hidrostática osmoticamente mantida nas células vegetais vivas e a pressão mecânica da própria parede celular são, sem dúvida, os fatores físicos mais fundamentais que ditarão o crescimento celular e as morfologias celulares nos vegetais (WEI & LINTILHAC, 2007).

A presença das paredes celulares torna as células dos vegetais imóveis e dependentes de sinais móveis para desencadear uma reprogramação tecidual. Os fitohormônios são pequenas moléculas de sinalização endógena que coordenam os processos fisiológicos e de desenvolvimento nos vegetais. Atuam em baixas concentrações, muitas vezes não são sintetizados onde atuam e, em geral, essa síntese não se restringe a um tecido particular e especializado. A plasticidade do desenvolvimento vegetal e sua capacidade de resposta a uma grande quantidade de situações ambientais sugerem que os mecanismos regulatórios são muito complexos (VANNESTE & FRIML, 2009).

Os fitohormônios considerados clássicos são: auxinas, citocinas, giberelinas, ácido abscísico, etileno e ácido salicílico. No entanto, existem outros hormônios vegetais descobertos mais recentes, como: brassinosteroides, jasmonatos e estrigolactonas (WANI et al., 2016). Todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento dos vegetais estão sob controle desses fitohormônios. Um único fitohormônio pode regular uma ampla gama de processos, assim como, um processo único pode ser regulado pela ação de muitos hormônios vegetais (PRINS et al., 2010).

Pode-se citar como exemplos desses processos: a divisão, o alongamento e a diferenciação celulares reguladas principalmente por auxinas (especialmente o ácido indol acético) (LJUNG, 2013); a dominância apical e absorção de nutrientes reguladas por citocinas (KIEBER & SCHALLER, 2014); a expansão foliar controlada por giberelinas (HEDDEN & SPONSEL, 2015); a arquitetura do vegetal coordenada por estrigolactonas (ZWANENBURG et al., 2016); a germinação e reprodução reguladas por brassinosteroides (TANG et al., 2016); as respostas de defesa do vegetal controladas pelo ácido salicílico (WANI et al., 2016); a imunidade e as relações de herbivoria reguladas por jasmonatos (WASTERNAK & HAUSE, 2013); a senescência regulada por citoquininas (KIEBER & SCHALLER, 2014), pelo ácido abscísico (FINKELSTEIN, 2013) e, principalmente, pelo etileno, que também coordena a reciclagem de nutrientes de folhas senescentes para outros órgãos e induz, em vegetais sensíveis, sintomas de senescência prematura, como amarelamento das folhas ou clorose (pela degradação da clorofila), abscisão e dessecação/necrose (IQBAL et al., 2017).

A resposta e a tolerância dos vegetais ao estresse (seca, inundação, salinidade, frio, calor, radiação ultravioleta, ozônio, lesões mecânicas, ataque de patógenos, doenças e deficiência nutricional) também dependem dos hormônios vegetais (PRINS et al., 2010; WASTERNAK & HAUSE, 2013; TANG et al., 2016; WANI et al., 2016).

O crescimento vegetal é altamente influenciado por fatores ambientais. Os estímulos epigenéticos (não genéticos) medeiam a progressão do desenvolvimento vegetal e também a resiliência para acomodar a mudança (BRUKHIN & MOROZOVA, 2011).

Os principais fatores extrínsecos que influenciam o crescimento e o desenvolvimento de espécies vegetais são a água, os elementos minerais na solução do solo, a temperatura e a luz. Os fatores climáticos (como umidade) e edáficos (relacionados às condições do solo) impactam todo o desempenho vegetal, englobando crescimento, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência (TAIZ et al., 2014).

Os dois agentes causadores de maior estresse no vegetal são água e nitrogênio que também são fatores limitantes para seu crescimento. A água é imprescindível para a vida dos vegetais, seja como reagente ou substrato de importantes processos, como a fotossíntese e a

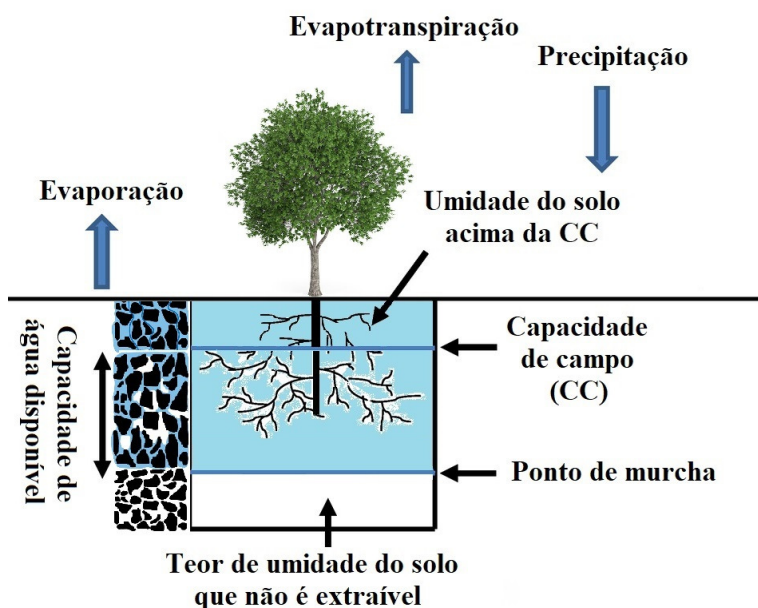
hidrólise do amido em açúcar em sementes na germinação. O nitrogênio, um nutriente essencial do vegetal, é o elemento regulatório mais susceptível às transformações biológicas e é o elemento estrutural de proteínas, nucleotídeos, lipídeos e de alguns sacarídeos (KERBAUY, 2012).

A seguir abordaremos mais detalhadamente o impacto da água e do nitrogênio sobre o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais.

### 2.1.1 Influência da água no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais

O teor de água disponível no solo é definido como a diferença entre a quantidade de água em um solo na capacidade de campo e a quantidade de água em um solo em ponto de murcha permanente (LOPEZ & BARCLAY, 2017) (Figura 1).

**Figura 1 - Capacidade de água disponível, capacidade de campo e ponto de murcha permanente.**



Fonte: adaptado de Gale (2014) e Sohrabi et al. (2015).

A capacidade de campo corresponde ao limite superior máximo de água disponível e representa a umidade do solo após a drenagem da água contida nos macroporos pela ação da gravidade (à -10 kPa). Essa condição de umidade favorece maior absorção de água e nutrientes pelos vegetais e, portanto, tem sido recomendada como conteúdo para o crescimento satisfatório dos vegetais (OLIVEIRA et al., 2015; CLAY & TROOIJEN, 2017). O ponto de murcha permanente é a porcentagem de umidade do solo que induz ao murchamento do vegetal (em torno de -1500 kPa). Essa murcha é irreversível, isto é, o vegetal não se

recupera, mesmo quando colocado em uma atmosfera com uma umidade relativa de 100% (VERSTRAETEN et al., 2008).

A umidade presente na capacidade de campo é considerada como 100% e a umidade presente no ponto de murcha permanente é considerada como zero. O teor de umidade do solo pode então ser expresso como a umidade disponível em termos da porcentagem da capacidade do solo (LEWIS et al., 1934).

Entretanto, segundo Denmead & Shaw (1962), a fração de água disponível crítica é maior quando a demanda evaporativa é mais elevada em função da redução precoce da transpiração. Assim, nas regiões tropicais, há um aumento na capacidade do solo para armazenar água acima da capacidade do campo, devido às taxas de evapotranspiração de alto potencial diminuírem drasticamente a taxa de transpiração do vegetal, mesmo no alto potencial de água (MOURA et al., 2009).

O estresse hídrico por redução da aplicação hídrica ocorre quando a água disponível no solo é reduzida a níveis críticos e as condições atmosféricas aumentam a perda contínua de água (AKULA & RAVISHANKAR, 2011). A frequência e a intensidade desse estresse constituem os fatores mais importantes à limitação da produção agrícola mundial e sua ocorrência em vegetais cultivados afeta acentuadamente alguns processos morfofisiológicos, enquanto outros são relativamente insensíveis. A irreversibilidade dessas alterações no vegetal depende da duração e da severidade da redução hídrica, bem como do genótipo e do estágio de desenvolvimento da espécie (SILVA & ALCÂNTARA, 2009).

Um dos principais efeitos da redução hídrica é a diminuição da fixação de carbono pelo fechamento estomático (na folha) e pela inibição do crescimento (em todo o vegetal). Por isso, as respostas de proteção da folha devem ser desencadeadas rapidamente para evitar que a maquinaria fotossintética seja irreversivelmente danificada pelo estresse hídrico. Os sinais endógenos são os principais intervenientes na resistência dos vegetais a esse estresse. Os sinais endógenos precoces são os de redox que exercem controle sobre o balanço energético da folha, pois regulam a expressão de vários genes ligados à fotossíntese (tanto no cloroplasto como no núcleo) e fornecem a base para a resposta de *feedback* da fotossíntese ao ambiente. O óxido nítrico (NO), uma espécie reativa de nitrogênio, também atua como uma molécula de sinalização, em particular mediando os efeitos de fitohormônios e outras moléculas de sinalização primária em resposta a estímulos ambientais (CHAVES & OLIVEIRA, 2004).

Uma leve deficiência hídrica reduz a absorção de nitrogênio e outros nutrientes absorvidos por meio do processo de fluxo de massa. Essas quantidades reduzidas de nutrientes afetam diretamente todas as características morfogênicas e, indiretamente, as estruturais do dossel. A deficiência hídrica, com consequente redução no aporte de nitrogênio

e outros nutrientes, reduz o crescimento da parte aérea, com efeito marcante na densidade populacional de perfilhos, associado à redução na assimilação de CO<sub>2</sub> e na capacidade fotossintéticas das folhas (VIEIRA & MOCHEL FILHO, 2010).

A divisão e a expansão celulares são diretamente inibidas pela deficiência hídrica. A expansão celular é controlada pelo turgor, que depende da água e da pressão osmótica. A redução hídrica limita o alongamento celular dos vegetais através da redução do turgor celular (BRUKHIN & MOROZOVA, 2011). Essa redução do turgor é o mais precoce efeito biofísico significativo da limitação hídrica, conseqüentemente, a expansão foliar e o desenvolvimento de hastes, que dependem do turgor, são mais sensíveis e são os primeiros efeitos percebidos em um vegetal submetido à seca (TAIZ et al., 2014).

O crescimento mais lento é considerado uma adaptação de sobrevivência dos vegetais sob redução de aplicação hídrica, pois permite que os vegetais desviem assimilados e energia para moléculas protetoras para combater o estresse e melhorar a aquisição de água. Por outro lado, a capacidade de acumular (e mais tarde remobilizar) as reservas do caule é provavelmente uma característica importante para manter o crescimento reprodutivo sob limitação hídrica em várias espécies (CHAVES & OLIVEIRA, 2004).

A resposta à seca é notável, porque os vegetais sob redução hídrica moderada são muitas vezes quase do mesmo tamanho que os vegetais sem deficiência hídrica. Possivelmente, os vegetais não respondem muito fortemente a períodos de seca relativamente curtos, uma vez que a disponibilidade de água depende frequentemente de eventos de chuva imprevisíveis por natureza. Alterar a alocação muito rapidamente pode resultar em um crescimento sub-ótimo após a restauração do abastecimento de água (POORTER et al., 2012).

Nos estudos de Muller et al. (2007) e Zhou et al. (2015) foi constatado que a redução hídrica provoca a repressão da expressão gênica local da expansina, proteína de parede celular considerada como o regulador-chave da extensão da parede celular durante o crescimento do vegetal. Dessa forma, há, em função da limitação hídrica, uma redução significativa de diversos parâmetros de crescimento do vegetal (altura, área foliar, matéria fresca e matéria seca), como observados nos estudos de: Hessini et al. (2008) com *Spartina alterniflora* (capim-marinho); Bettaieb et al. (2009) com *Salvia officinalis* (sálvia); Laribi et al. (2009) com *Carum carvi* L. (alcaravia); Silva et al. (2011) com *Jatropha curcas* L. (pinhão-manso); Kordi et al. (2013) e Sirousmehr et al. (2014) com *Ocimum basilicum* L. (manjerição); Vazin (2013) com *Cuminum cyminum* L. (cominho); Stefanelli et al. (2010), Zsófi et al. (2011) e Niculcea et al. (2013) com *Vitis vinifera* L. (videira).

O vegetal produz folhas pequenas em solo seco para reduzir o aquecimento dos tecidos foliares e a transpiração, assim, o equilíbrio entre a produção de fotoassimilados e a

demanda para o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos é afetada diretamente pela redução na área foliar fotossinteticamente ativa, ocasionando, conseqüentemente, uma limitação na produção de massa seca do vegetal (SCALON et al., 2011; LIMA et al., 2016). Além disso, há uma baixa produção de fotoassimilados com a limitação hídrica ocasionada pela redução do potencial hídrico foliar, da transpiração, da atividade de enzimas do Ciclo de Calvin e da taxa fotossintética, com alteração da partição de assimilados entre as partes do vegetal (FREIRE et al., 2012) e alocação preferencial de produção de biomassa para as raízes (COSENTINO et al., 2007; GOVAHI et al., 2015).

A senescência ou abscisão foliar, que é a responsável pela redução da área fotossinteticamente ativa do vegetal no final da cultura, é um processo menos sensível a limitação hídrica durante o crescimento vegetativo e é considerada uma adaptação a longo prazo do vegetal à redução de água (SIROUSMEHR et al., 2014; TAIZ et al., 2014). Esse controle da senescência e da abscisão foliar é mediada pelos fitohormônios etileno e ácido abscísico (ABA). A síntese do etileno é estimulada pela redução hídrica como um recurso utilizado pelo vegetal para diminuir a transpiração e retardar os sintomas da desidratação (GUINN, 1976; SIROUSMEHR et al., 2014). O ABA também tem sua concentração aumentada na deficiência hídrica e modula os níveis de etileno (GOMEZ-CADENAS et al., 1996), além de produzir mudanças fisiológicas no vegetal que aumentam sua capacidade em manter o turgor celular para suportar a desidratação (FAROOQ et al., 2009). Além disso, segundo Kosma et al. (2009), há um retardo no murchamento em vegetais aclimatados à redução hídrica em comparação com vegetais não aclimatados anteriormente por indução de lipídios cutâneos associados a redução da permeabilidade à cutícula, uma adaptação que pode limitar a transpiração e atrasar o aparecimento do estresse hídrico durante a seca prolongada. Desse modo, os vegetais em resposta à deficiência hídrica podem desenvolver abscisão foliar para reduzir a perda hídrica (GU et al., 2007) a partir da regulação pela interação hormonal entre o etileno e o ABA (KOZLOWSKI, 1997).

Nos estudos de Rivero et al. (2007), foi constatado que a supressão da senescência das folhas em vegetais transgênicos induzida pela seca resulta em uma excelente tolerância a esse estresse. A redução da aplicação hídrica provocou aceleração da senescência com redução da área verde e da atividade fotossintética em: *Glycine max* (L.) Merrill (soja) (BREVEDAN & EGLI, 2003), *Astragalus mollissimus* Torr (erva-doida) (VALLOTTON et al., 2012), *Phoenix dactylifera* L. (tamareira) (ELSHIBLI et al., 2016) e *Oryza sativa* L. (arroz) (GUIMARÃES et al., 2016).

O aumento da limitação hídrica também está relacionado ao surgimento e ao aumento da gravidade de doenças fúngicas em vegetais (DESPREZ-LOUSTAU et al., 2006;



OLIVA et al., 2014) e isso pode causar necrose foliar apical tanto por ação do etileno, cuja produção é estimulada pela infecção de patógenos, quanto por dano celular induzido pelo crescimento intracelular de certas espécies patogênicas decorrente da redução hídrica (BASHAN, 1994; LUND et al., 1998).

Apesar da limitação hídrica ocasionar efeitos negativos nos vegetais de modo geral, o excesso de água também não é benéfica para o vegetal. A saturação hídrica do solo pode afetar o crescimento de raízes e da parte aérea dos vegetais, tanto pela inibição do alongamento dos entrenós, quanto pela inibição da expansão das folhas, podendo também acelerar a senescência e abscisão. Nessa condição, a dinâmica da física do solo é alterada de maneira significativa pela saturação hídrica, uma vez que diminui os espaços aeríferos do solo limitando as trocas gasosas com a atmosfera, trazendo como consequência, alterações no metabolismo das células radiculares (GAZOLA et al., 2014).

O excesso de aplicação hídrica também provoca estresse e leva a alterações no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais. Pravuschi et al. (2010) verificaram que a aplicação excessiva diária de água prejudicou o desenvolvimento de *Ocimum basilicum* L. (manjerição), implicando em menores produtividades. Nos estudos de Azevedo et al. (2011) tanto a redução quanto o excesso de água diminuíram o número de vagens, comprimento e peso da vagem, número de sementes e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp (feijão). Dutra et al. (2012), com *Helianthus annuus* L. (girassol), observaram aumento da altura e diâmetro do colmo em condições de alagamento. Tavares et al. (2017), no entanto, constataram tolerância de *Saccharum spp.* (cana-de-açúcar) ao encharcamento em termos de produção e acúmulo de biomassa.

A tolerância ao estresse hídrico é vista em todos os vegetais, mas sua extensão varia de espécie para espécie (AKULA & RAVISHANKAR, 2011).

### **2.1.2 Influência do nitrogênio no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais**

Os elementos minerais (principalmente nitrogênio, fósforo e nutrientes do solo) são necessários para a construção do corpo vegetal, assim como para as reações bioquímicas por serem constituintes importantes de muitas enzimas e cofatores. A falta desses elementos minerais leva ao comprometimento do crescimento e pode resultar em morte do vegetal (BRUKHIN & MOROZOVA, 2011).

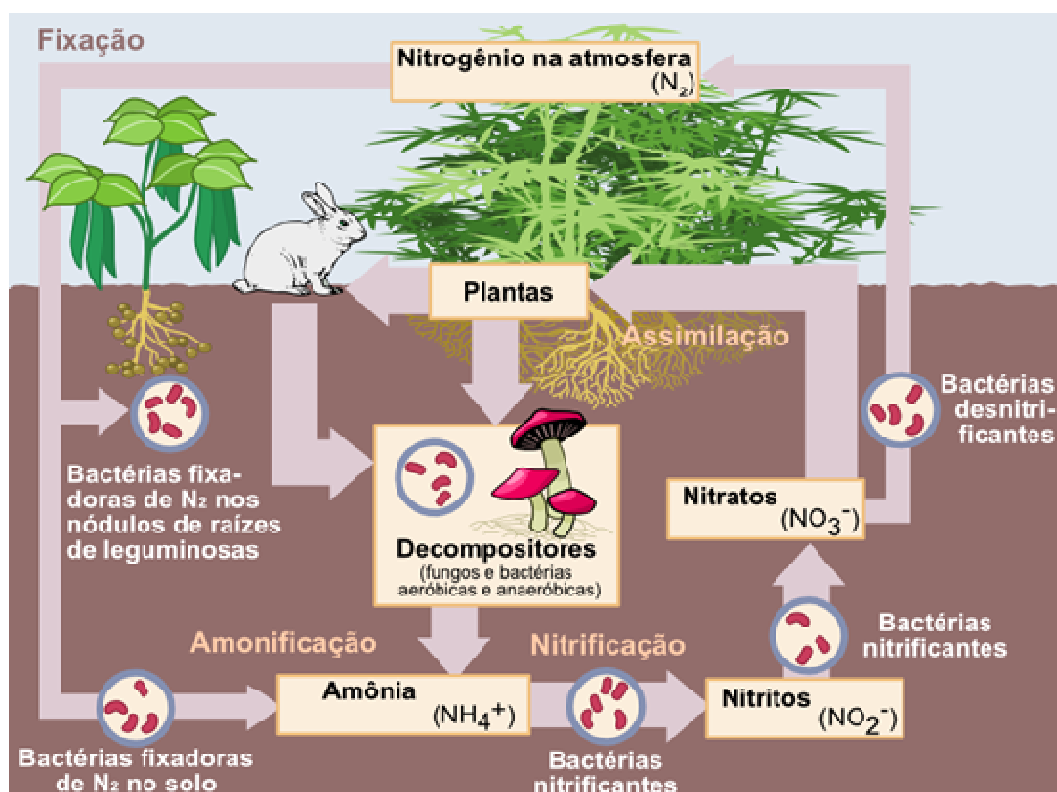
O nitrogênio é um dos elementos minerais mais abundantes nas espécies vegetais e é essencial para a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais, pois está

envolvido na formação de moléculas importantes, como proteínas, ácidos nucleicos e clorofila (NETO & MACEDO, 2017).

Os vegetais, ao contrário dos animais, têm a capacidade de assimilar o nitrogênio inorgânico do ambiente e sintetizar todos os vinte aminoácidos encontrados em proteínas e os outros compostos orgânicos nitrogenados utilizados por elas (STEFANELLI et al., 2010).

O nitrogênio utilizado pelo vegetal geralmente vem da aplicação de fertilizantes e, embora a atmosfera seja composta principalmente de nitrogênio, apenas alguns vegetais podem converter o nitrogênio atmosférico,  $N_2$ , em formas disponíveis para o vegetal por meio de um processo biológico simbiótico envolvendo bactérias diazotróficas e raízes do vegetal. As formas inorgânicas de nitrogênio disponíveis para o vegetal incluem: nitrato,  $NO_3^-$ ; nitrito,  $NO_2^-$ ; e amônia, na forma do íon amônio,  $NH_4^+$  (MOKHELE et al., 2012) (Figura 2).

**Figura 2 - Absorção de nitrogênio pelos vegetais.**



Fonte: Buchanan et al. (2015).

A forma preferencial de absorção é o  $NO_3$  que é fornecido à zona de crescimento foliar na forma de aminoácidos por meio de um processo que envolve uma série de etapas metabólicas e de transporte. Contudo, ainda não estão totalmente esclarecidos: o tempo necessário para que esse processo se conclua, a quantidade de nitrogênio nos diferentes compartimentos relacionados ao crescimento foliar do vegetal e o efeito da deficiência de nitrogênio nesse processo (LEHMEIER et al., 2013).

A ureia,  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ , provavelmente é a fonte de nitrogênio mais utilizada nas fertilizações nitrogenadas (MOKHELE et al., 2012) e a perda de nitrogênio na produção pode ser atribuída aos efeitos combinados de desnitrificação, volatilização e lixiviação. A absorção de nitrogênio pelas culturas está intimamente relacionada às condições de enraizabilidade do solo e quando os fertilizantes nitrogenados são aplicados à superfície sem incorporação, como nos sistemas de plantio direto, as perdas de nitrogênio podem exceder 40%, e essas perdas são geralmente maiores sob condições tropicais (MOURA et al., 2012).

Os níveis de nitrogênio no solo, podem ser classificados segundo o teor de nitrogênio total do solo em: muito baixos (0.3-0.5%), baixos (0.6-1.0%), moderadamente baixos (1.1-1.5%), médios (1.6-2.0%) e moderadamente altos (2.1-2.4%) e as taxas de fertilizantes recomendadas para diferentes culturas com base no nível de disponibilidade de nitrogênio são: 20-200 kg N/ha em nível baixo, 10-100 kg N/ha em nível médio e nenhum-50 kg N/ha em alto nível de disponibilidade de nitrogênio (CHUDE et al., 2012). Segundo Raij et al. (1996) e Chude et al. (2012) a dose de 90 kg/ha pode ser recomendada para culturas medicinais em condições tropicais.

O baixo consumo de nitrogênio reduz a taxa de alongamento da folha pela diminuição na taxa de produção celular e no comprimento final da célula. A deficiência de nitrogênio limita o crescimento foliar aumentando a duração do ciclo celular e diminuindo as taxas de alongamento mitótico e pós-mitótico, atrasando a maturação celular (KAVANOVÁ et al., 2008).

A deficiência de nitrogênio ocorre em diferentes estágios. Na deficiência leve, todo o vegetal aparece uniformemente de cor verde claro. Se a deficiência se torna grave, uma clorose amarela pálida começa na ponta das folhas velhas e prossegue para a base ao longo da nervura central em um padrão em forma de V. Em seguida, a necrose castanha inicia-se a partir da ponta da folha e prossegue em direção à base foliar e, finalmente, as folhas mais velhas afetadas tornam-se castanhas pálidas e morrem (VIECELLI, 2017).

De modo geral, os sintomas de estresse por deficiência de nitrogênio no vegetal são bem caracterizados. O sintoma inicial típico é a clorose de folhas velhas, pois o vegetal, diante da escassez desse nutriente e por ele ser de fácil redistribuição via floema, o transloca das folhas mais velhas e intermediárias para os órgãos ou folhas mais novas para garantir o crescimento e o desenvolvimento satisfatórios. A redução do crescimento é outro sintoma típico observado em vegetais com deficiência nitrogenada (CARMONA, 2015), em razão de o vegetal possuir duas fontes distintas de nitrogênio para o crescimento foliar: o nitrogênio da absorção e assimilação que é transferido diretamente para a folha em crescimento e o nitrogênio da redistribuição de compostos orgânicos (reciclagem) (LEHMEIER et al., 2013).

Além disso, segundo os estudos de Hanaoka et al. (2002), com genoma de *Arabidopsis thaliana*, há um aumento da senescência com a deficiência de nitrogênio a partir da regulação da repartição de nitrogênio. A repartição de nitrogênio contribui significativamente para a eficiência e produtividade do uso de nitrogênio do vegetal e é especialmente necessária durante a senescência da folha e quando os vegetais são cultivados sob baixa disponibilidade de nitrato, pois contribui para a manutenção da homeostase celular, equilíbrio C:N e metabolismo redox (MASCLAUX-DAUBRESSE, 2016).

A necrose foliar apical é um processo fisiológico relacionado à dinâmica do nitrogênio na folha e de acordo com Van Den Berg et al. (2007, 2008) os agentes patogênicos utilizam nutrientes foliares e podem assim acelerar a necrose apical fisiológica e, desde que os benefícios da redução da doença pela necrose apical precoce superem o custo da perda de material foliar saudável, como no caso de alta disponibilidade de nutrientes, o vegetal pode utilizar a necrose como um recurso de defesa a algumas doenças, pois agentes patogênicos biotróficos não crescem em material foliar necrótico.

Já foram constatadas alterações no crescimento provocadas pela deficiência de nitrogênio nos estudos de: Saitoh et al. (2000) com cultivar Nipponbare de *Oryza sativa* L. (arroz); Wang et al. (2012) com *Fraxinus mandshurica* Rupr. (freixo); Maia et al. (2014) com *Jatropha curcas* L. (pinhão-manso); Kovácik & Klejdus (2014) com *Matricaria chamomilla* L. (camomila); Kuşçu et al. (2016) com *Capsicum annuum* L. (pimentão); e Zaghdoud et al. (2016) com *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brócolis).

Contudo, o excesso de nitrogênio também é prejudicial para o vegetal, como: em *Pinus sylvestris* L. (pinheiro-da-escócia) em houve alterações ultraestruturais (cloroplasto e membrana plasmática) e nos tecidos (feixe vascular e esclerênquima) (JOKELA et al., 1995); em *Zea mays* L. (milho) (SANGOI et al., 2001) e em *Triticum aestivum* L. (trigo) (KONG et al., 2017) em que ocorreu diminuição do número de grãos e rendimento; e em *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) em que a altura média, o comprimento e a largura das lâminas foliares diminuíram à medida que a dose desse nutriente aumentou (NURZYŃSKA-WIERDAK et al., 2012).

A saturação nitrogenada leva ao maior crescimento da parte aérea em relação ao sistema radicular, deixando o vegetal mais suscetível às deficiências hídrica e de nutrientes, principalmente fósforo e potássio (FELTRIM, 2010). O aumento exagerado da área foliar pode causar autossombreamento com redução da eficiência e transpiração fotossintética (LARANJEIRA et al., 2016). Em culturas hortícolas, a fertilização nitrogenada exagerada geralmente leva a um crescimento vegetativo excessivo em detrimento ao desenvolvimento de

frutos, com impacto na qualidade, e pode estimular o surgimento de doenças fúngicas (ERNANI, 2003; STEFANELLI et al., 2010).

O ciclo vegetativo com altas concentrações de  $\text{NH}_4^+$  pode levar a morte do vegetal, porém, as concentrações toleradas variam de espécie para espécie (KERBAUY, 2012; TAIZ et al., 2014).

### **2.1.3 Influência da interação água-nitrogênio no crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais**

A compreensão histórica e conceitual da limitação de nutrientes é essencialmente uma limitação de um único nutriente derivada da Lei do Mínimo de Liebig, segundo a qual a adição de um segundo novo recurso limitante aumentará ainda mais o rendimento do vegetal, no entanto, apenas um único recurso é sempre limitante a qualquer momento. A Lei do Mínimo de Liebig foi desenvolvida para descrever as restrições sobre a produção de vegetais de culturas individuais, mas não as comunidades biologicamente diversas de vegetais e ecossistemas. A limitação múltipla que vegetais sofrem (de mais de um nutriente ou outros tipos de interações entre recursos limitantes) é denominada de “co-limitação” (HARPOLE et al., 2011).

O conceito de co-limitação de água e nitrogênio é usado com frequência para descrever como esses recursos competidores são alocados durante o crescimento e a teoria proposta é que o crescimento é maximizado quando a água e o nitrogênio são igualmente limitantes (RIAR et al., 2016). Teoricamente, para um dado nível de nitrogênio ou estresse hídrico, as culturas têm melhor desempenho quando ocorre a co-limitação (COSSANI et al., 2010).

A água e o nitrogênio estão ligados de várias maneiras. Nas situações em que a água limita o crescimento vegetal, a biomassa reduzida diminui a demanda de nitrogênio. Reciprocamente, a limitação de nitrogênio durante o desenvolvimento vegetal reduz o índice de área foliar e aumenta a evaporação do solo: razão de transpiração. A redução hídrica afeta a demanda de nitrogênio impulsionada pelo crescimento (biomassa potencial x concentração crítica de nitrogênio), concentração crítica de nitrogênio e suprimento (disponibilidade de nitrogênio na superfície da raiz) e assimilação e partição de nitrogênio. Enquanto que a deficiência de nitrogênio reduz o rendimento por unidade de evapotranspiração, principalmente reduzindo a biomassa por transpiração de umidade, aumentando a evaporação do solo e diminuindo a transpiração (SADRAS et al., 2016).

Na produção agrícola, as influências da água e do nitrogênio no crescimento dos vegetais não são independentes umas das outras e muitas vezes elas interagem. A deficiência hídrica reduz a absorção de nitrogênio como resultado da diminuição da captação de água e da taxa de transpiração. Por outro lado, a redução de nitrogênio diminui a condutividade hidráulica da raiz, afetando assim o estado da água das folhas e o crescimento foliar (LI et al., 2016). Além disso, pH, teor de cálcio no solo e as características físicas do solo podem influenciar na interação água-nitrogênio (ROCHA JUNIOR et al., 2016) .

A maioria dos modelos de culturas existentes atualmente na agronomia utilizam nitrogênio e água de forma eficiente, mas exibem diferentes pontos de vista sobre sua interação. De modo geral, os fluxos de nitrogênio mineral no xilema são reduzidos sob deficiência hídrica e a assimilação é mais sensível à escassez de água (GONZALEZ-DUGO et al., 2010).

Existe uma tendência a baixa resposta à fertilização nitrogenada no ciclo vegetativo de algumas espécies. A baixa eficiência de utilização do nitrogênio-fertilizante (EUNF) é atribuída: à fixação biológica do nitrogênio atmosférico; às perdas por lixiviação de nitrogênio-fertilizante; às condições climáticas, como temperatura e pluviosidade, dentre outras. Uma possível forma de elevar a EUNF com aumento de produtividade da cultura seria a identificação e exploração do chamado "efeito sinérgico", definido como as interações positivas de elementos que atuam em conjunto, promovendo elevação do crescimento e desenvolvimento vegetal (GAVA et al., 2011).

Segundo Scagel et al. (2011), vários pesquisadores sugerem que o aumento da frequência de aplicação hídrica pode compensar certas deficiências nutricionais, e menores rendimentos de vegetais irrigados com menor frequência podem ser resultado da falta de nutrientes em vez de escassez de água. Inclusive, no estudo desenvolvido por esse autor com cultivares do gênero *Rhododendron* foi comprovado que o aumento da frequência de aplicação hídrica diminui a eficiência de absorção de nitrogênio, aumenta a eficiência de uso do nitrogênio e altera a biomassa com pouca influência na biomassa total do vegetal.

Na literatura já foi constatado o efeito de interação positiva entre nitrogênio e água em culturas de *Cucumis melo* L. (melão), *Saccharum ssp.* (cana-de-açúcar) e *Zea mays* L. (milho) em trabalhos desenvolvidos por Andrade (2006), Quaye et al. (2009) e Kolln (2012), respectivamente. Macedo et al. (2006) obtiveram aumento na produtividade comercial de bulbos de *Allium sativum* L. (alho) com a fertilização nitrogenada feita tardiamente associada à suspensão da aplicação hídrica.

A produção de biomassa em vegetais de ciclo C<sub>4</sub>, por exemplo, é afetada pela limitação de água e de nitrogênio. Há correlação positiva entre a disponibilidade de água e

nitrogênio na atividade das enzimas rubisco e fosfoenolpiruvato carboxilase, na taxa de fixação de carbono e na produção de biomassa. Em contrapartida, foi verificada correlação negativa no fracionamento isotópico de carbono e na saída de gás carbônico da bacia. Há aumento do estoque de nitrogênio no vegetal em função da aplicação hídrica e esse estoque de nitrogênio está diretamente relacionado com a produção de biomassa. O acúmulo de nitrogênio nos tratamentos com maior taxa de aplicação hídrica é maior porque o nitrogênio entra em contato com as raízes quase exclusivamente por fluxo em massa (KOLLN, 2012).

Os efeitos da deficiência hídrica são difíceis de serem dissociados dos efeitos correspondentes de menor disponibilidade de nitrogênio que inevitavelmente se verificam nessas condições. Todavia, é importante considerar que os processos fisiológicos por meio dos quais essas limitações operam são diferentes. A deficiência hídrica limita a absorção de carbono pela limitação das trocas gasosas quando do fechamento dos estômatos, enquanto o nitrogênio limita a resposta fotossintética por limitação na concentração da clorofila (VIEIRA & MOCHEL FILHO, 2010).

Os estudos de Ren et al. (2011, 2013) comprovaram que a longevidade foliar é reduzida pelo aumento da disponibilidade hídrica e de nitrogênio, isolados e em interação, principalmente por meio da alteração da produção de etileno, envolvido no controle da senescência e abscisão na folha.

Além disso, em tecidos vegetais sob redução hídrica há um acúmulo de prolina (um aminoácido nitrogenado osmoprotetor) ocasionado pela rotatividade proteica em função da redução de nitrogênio (FERREIRA et al., 2002). Prolina é um dos osmólitos compatíveis mais comuns em vegetais sob deficiência hídrica e seu acúmulo em vegetais desidratados ocorre tanto pela ativação da sua biossíntese quanto pela inativação da sua degradação (YOSHIBA et al., 1997). Ferreira et al. (2002) demonstraram que enzimas envolvidas na biossíntese e na degradação da prolina, como a redutase do nitrato, a glutamina sintetase e a glutamato sintase dependente de ferredoxina, não sofrem alteração de suas atividades pela deficiência hídrica durante o processo de incorporação de amônia a compostos orgânicos, ocasionando a adaptação de espécies a situações de seca.

## 2.2 METABÓLITOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS DE ESPÉCIES VEGETAIS

O metabolismo dos vegetais pode ser definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprimindo o organismo de energia, renovando suas moléculas e garantindo a continuidade do estado organizado (SILVA & ABREU LIMA, 2016).

O metabolismo vegetal varia de acordo com sua fisiologia e pode ser dividido em primário e secundário (SOUSA & SOUSA, 2017) e os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados recebem o nome de metabólitos (SIMÕES et al., 2017), os quais também são divididos em dois grupos, metabólitos primários e secundários (LATTANZIO, 2013).

Os metabólitos primários estão relacionados com processos de fotossíntese, respiração e transporte de solutos e proporcionam funções essenciais para a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução dos vegetais (SEYFRIED et al., 2016). Proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos, aminoácidos e carboidratos fazem parte desse grupo (KERBAUY, 2012).

Ao contrário dos metabólitos primários, os metabólitos secundários são um grande grupo de fitoquímicos que não estão diretamente envolvidos nos processos vitais do vegetal (GUPTA et al., 2017), mas são componentes importantes no mecanismo de defesa contra parasitas (fungos, insetos, bactérias), nas características atrativas para agentes polinizadores e dispersores de sementes, nas relações de competição entre vegetais e de simbioses entre vegetais e micro-organismos (OLIVOTO et al., 2017) e podem conferir proteção contra estresses ambientais (AKULA & RAVISHANKAR, 2011).

Enquanto os metabólitos primários são de ocorrência ampla e generalizada, os metabólitos secundários são considerados de ocorrência restrita e, podem, inclusive, serem utilizados para a classificação quimiotaxômica de uma espécie vegetal (SINGH, 2016).

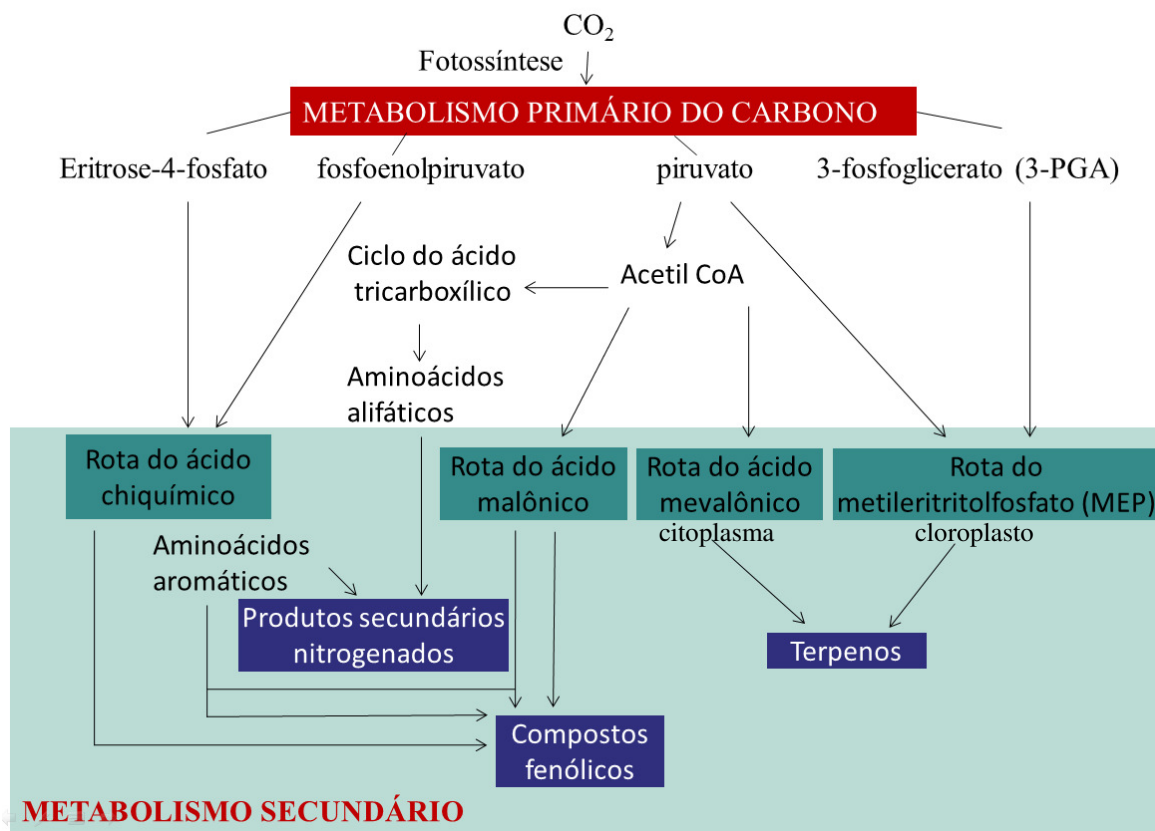
A disponibilidade de recursos de carbono, nitrogênio e enxofre tem um grande impacto na produção de classes específicas de metabólitos primários e, consequentemente, nos níveis e composição de seus metabólitos secundários. Os vegetais sintetizam uma miríade de metabólitos secundários que são derivados do metabolismo central ou primário. Mais de cem mil fitoquímicos foram isolados de diferentes fontes de vegetais até o momento e esses fitoquímicos são sintetizados nos vegetais para uma necessidade especializada em um conjunto específico de condições ecológicas, pois sua biossíntese é altamente consumidora de energia. A biossíntese e a acumulação de metabólitos secundários em vegetais são o resultado de uma regulação rigorosa de suas máquinas biossintéticas (GUPTA et al., 2017) e são controladas no nível de expressão gênica por fatores específicos do desenvolvimento e do tecido ou por sinais externos (FITS & MEMELIN, 2000).

Os metabólitos secundários apresentam estruturas complexas, baixa massa molecular e distintas atividades biológicas (SEYFRIED et al., 2016) e são utilizados pelo homem como produtos farmacêuticos, cosméticos, corantes, flavorizantes, inseticidas, dentre outros (GUPTA et al., 2017). Alguns dos principais grupos de metabólitos secundários incluem glicosídeos, alcaloides, óleos essenciais, flavonoides, fenois e terpenoides (SINGH,



2016) e podem ser divididos em três grupos principais quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (OLIVOTO et al., 2017) (Figura 3).

**Figura 3 - Rotas biossintéticas de espécies vegetais.**

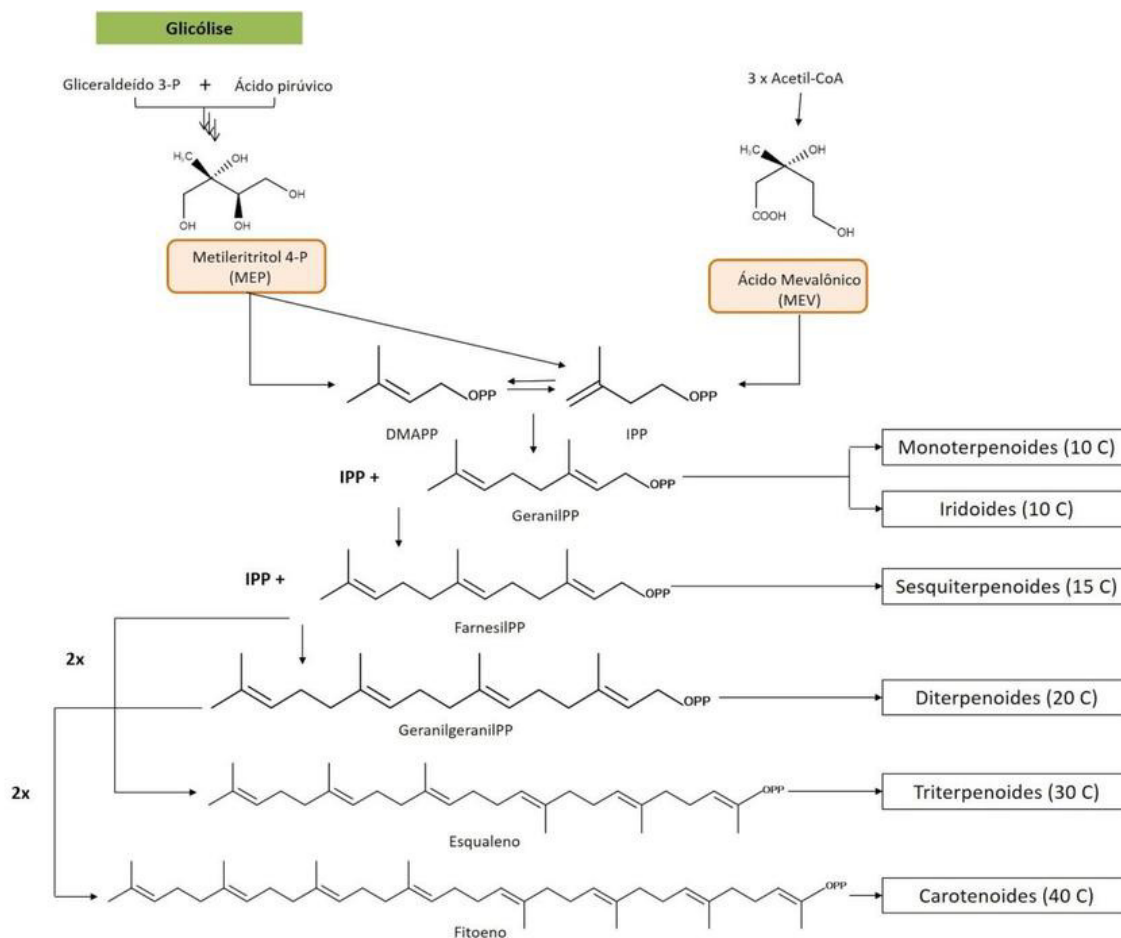


Fonte: adaptado de Taiz et al. (2014).

### 2.2.1 Compostos terpênicos

Os terpenos ou isoprenoides são hidrocarbonetos bastante distribuídos no reino vegetal com grande diversidade estrutural, geralmente insolúveis em água, principalmente cíclicos e classificados de acordo com a quantidade de unidades  $\text{C}_5$  em: hemiterpenos (uma unidade  $\text{C}_5$ ); monoterpenos (duas unidades  $\text{C}_5$ ); sesquiterpenos (três unidades  $\text{C}_5$ ); diterpenos (quatro unidades  $\text{C}_5$ ); sesterpenos (cinco unidades  $\text{C}_5$ ); triterpenos (seis unidades  $\text{C}_5$ ); tetraterpenos ou carotenoides (oito unidades  $\text{C}_5$ ); e politerpenoides (mais de oito unidades  $\text{C}_5$ ) (SINGH & SHARMA, 2015; SOUSA & SOUSA, 2017) (Figura 4).

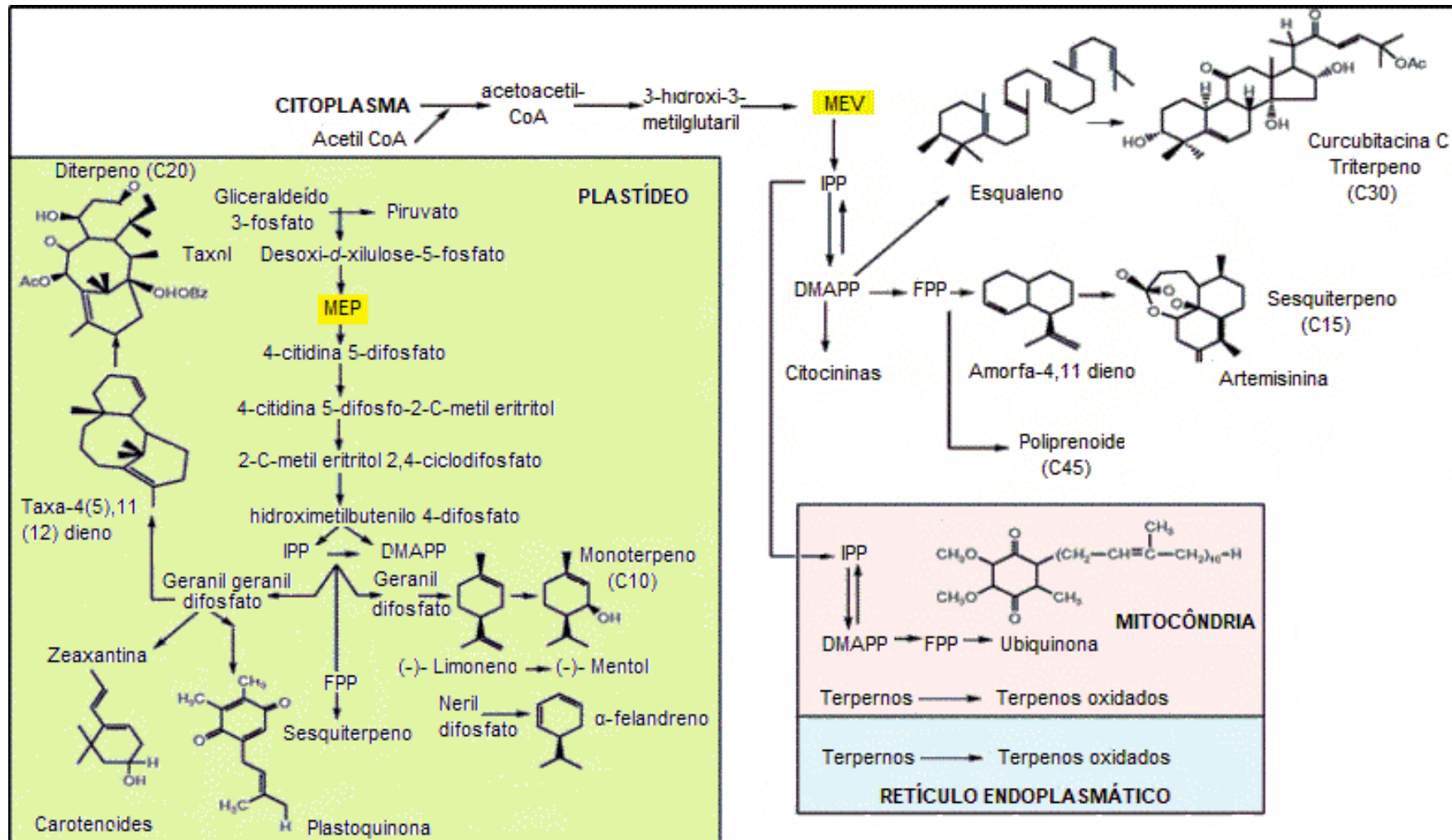
**Figura 4 - Classificação e estrutura química geral dos terpenos.**



Fonte: Raymundo (2017).

O primeiro passo na biossíntese de terpenoides é a formação de unidades C<sub>5</sub> como isopentenil difosfato (IPP) ou dimetilalil difosfato (DMAPP) que são sintetizados por duas vias compartimentadas: do ácido mevalônico (MEV) que ocorre no citoplasma, retículo endoplasmático e peroxissomos; e do metileritritol fosfato (MEP), que ocorre nos plastídeos. No citoplasma ocorre a condensação de três unidades de acetil CoA que resulta na formação de 3-hidroxi-3-metilglutaril, que é reduzido à MEV, que por sua vez é convertido em mevalonato-5-difosfato por fosforilação. O mevalonato-5-difosfato então sofre descarboxilação e é convertido em IPP e posteriormente em DMAPP. Nos plastídeos ocorre a condensação do ácido pirúvico e do gliceraldeído-3-fosfato que leva à síntese do 5-fosfato de 1-desoxi-*D*-xilulose que é reduzido à MEP. A conjugação de MEP e 4-citidina 5-difosfato leva à formação de 4-citidina 5-difosfo-2-C-metil eritritol que é convertido em 2-C-metil eritritol 2,4-ciclodifosfato e depois em hidroximetilbutenilo 4-difosfato. O hidroximetilbutenilo 4-difosfato então forma os compostos IPP e DMAPP (SINGH & SHARMA, 2015) (Figura 5).

Figura 5 - Biossíntese dos terpenos via ácido mevalônico (MEV) e via metileritritol fosfato (MEP).



Fonte: adaptado de Singh & Sharma (2015).

Legenda: IPP = isopentenil difosfato; DMAPP = dimetilalil difosfato; FPP = farnesil pirofosfato.

À medida que o número de unidades de carbono aumenta, a diversidade química dos terpenoides também aumenta. Cerca de mil monoterpênos (onde limoneno e  $\alpha$ -pineno são os mais comuns) e de cinco mil sesquiterpênos (onde o mais universal é  $\beta$ -cariofilina) já foram detectados nos vegetais (ORMEÑO & FERNANDEZ, 2012).

### 2.2.2 Compostos fenólicos

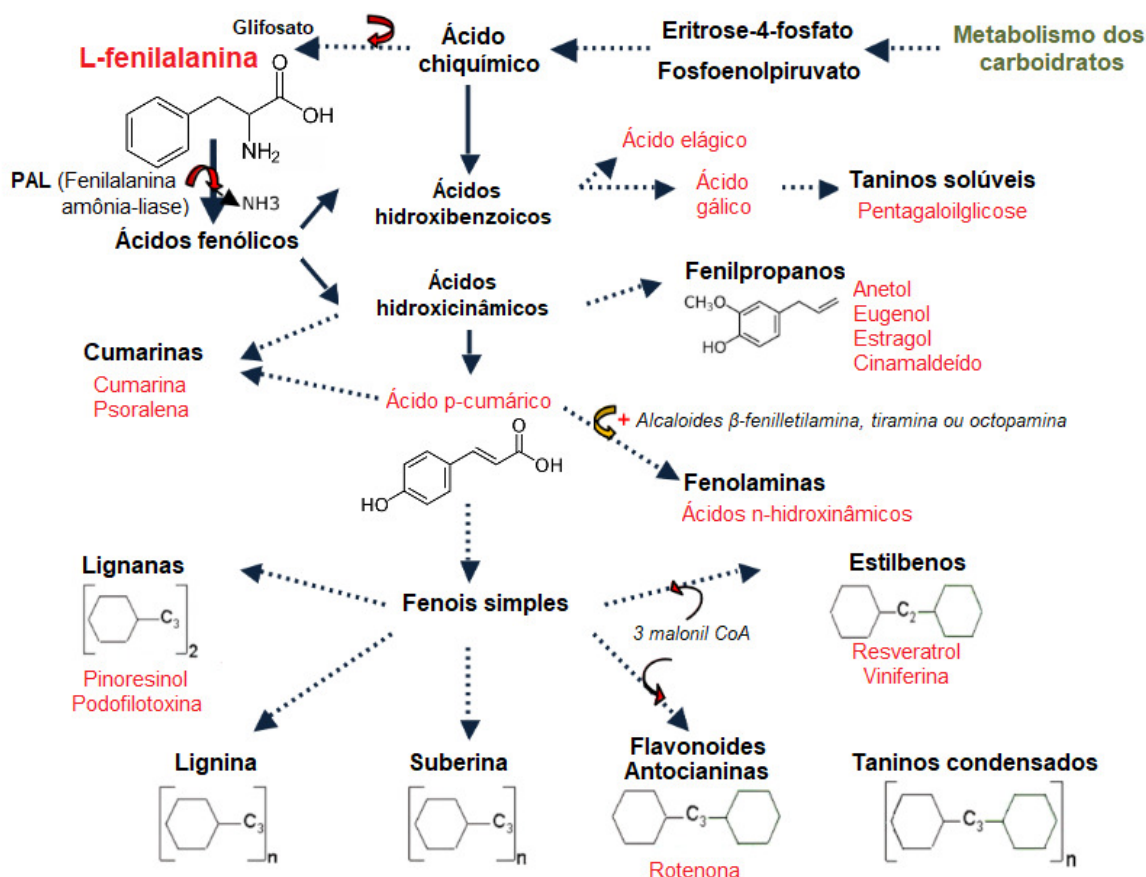
Os compostos fenólicos são assim chamados por possuírem um grupo hidroxila funcional em anel aromático. Esse grupo de metabólitos secundários constitui um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente dez mil compostos. Esses compostos podem ser sintetizados por duas rotas metabólicas: a via do ácido chiquímico e a via do ácido malônico (SOUSA & SOUSA, 2017).

A via do ácido malônico é principal rota biossintética de fenóis em vegetais inferiores, enquanto que nos vegetais superiores a via do ácido chiquímico é a mais importante na formação dos compostos fenólicos. A via do ácido chiquímico começa no citoplasma a partir de carboidratos simples e prossegue para os aminoácidos aromáticos (Figura 6). O passo chave nessa via é a conversão da fenilalanina em ácido cinâmico pela eliminação de uma molécula de amônia catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) (ÖZEKER, 1999). A síntese de fenilalanina começa com carboidratos se transformando em eritrose-4-fosfato (via das pentoses fosfato) e fosfoenolpiruvato (glicólise), que entram na via metabólica do ácido chiquímico. A desaminação da fenilalanina pela PAL é a primeira etapa crucial na biossíntese da grande maioria dos compostos fenólicos. Além de seu envolvimento na produção de compostos fenólicos compostos, a oxidação da fenilalanina também leva à formação de tirosina, o precursor das catecolaminas (EWANÉ et al., 2012). Outras enzimas importantes são a polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD), principais enzimas envolvidas nas reações oxidativas dos compostos fenólicos (VITTI et al., 2011), como na biossíntese de quinonas (NGADZE et al., 2012).

As principais classes dos compostos fenólicos são: fenóis simples (fenol, benzoquinona, pirogalol, pirocatecol); ácidos fenólicos, do tipo ácidos benzoicos ou hidroxibenzoicos (ácidos gálico e elágico) e ácidos cinâmicos ou hidroxicinâmicos (ácidos cafeico, cumárico, ferúlico e clorogênico); flavonoides das subclasses 4-oxoflavonoides e antocianidinas; ligninas; e taninos (formas condensadas). Os vegetais sintetizam também formas fenólicas relacionadas com macromoléculas não fenólicas e ligadas à parede celular

vegetal (como cutina e suberina) e pequenas moléculas fenólicas denominadas de fenilpropanos ou fenilpropanoides (EWANÉ et al., 2012) (Figura 6).

**Figura 6 - Principais classes de compostos fenólicos sintetizados via ácido chiquímico.**

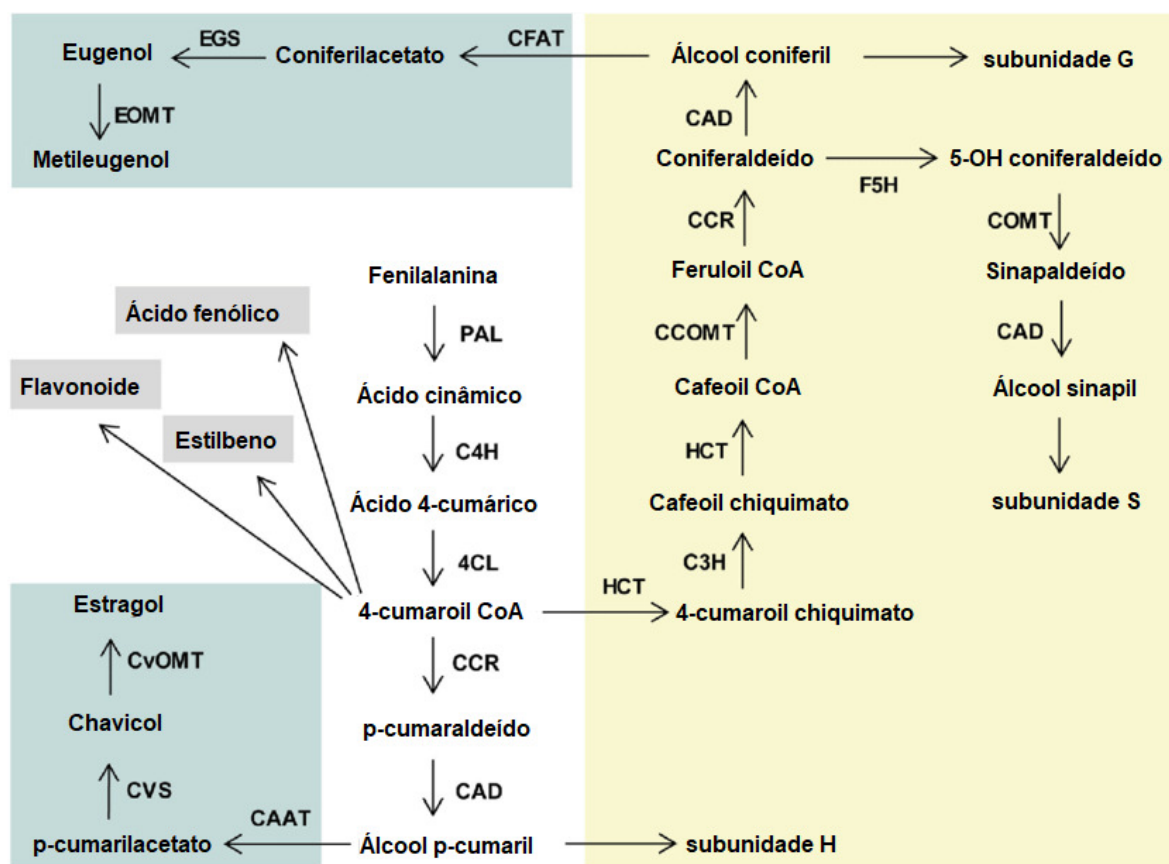


Fonte: adaptado de Ewané et al. (2012).

Fenilpropanoides e fenois compartilham a rota biossintética da via chiquimato (Figura 6). PAL e tirosina amônia liase (TAL) catalisam a desaminação não oxidativa da fenilalanina em trans-cinamato e direcionam o fluxo de carbono da via chiquimato para os vários ramos do metabolismo geral do fenilpropanóide. Os três passos iniciais da via catalisada por PAL, cinamato 4-hidroxilase (C4H) e 4-cumaroil CoA-ligase (4-CL) são obrigatórios e fornecem a base para todos os ramos subsequentes e metabólitos resultantes. Os passos subsequentes à PAL, que levam a monômeros de fenilpropanoides (com exceção do cinamato 4-hidroxilase), são codificados por pequenas famílias de genes em todas as espécies vegetais. No que diz respeito ao seu impacto no metabolismo dos fenilpropanoides, parece surpreendente que entre os cerca de 300 genes funcionais que codificam o citocromo P450, a 4-hidroxilação do trans-cinamato em 4-cumarato seja codificada apenas por um único gene. O passo subsequente, codificado pela pequena família de genes das ligases 4-CL, canaliza os

ésteres de CoA aromáticos resultantes para diferentes vias biossintéticas. O 4-cumaroil-CoA representa provavelmente o ramo mais importante dentro do centro biossintético de fenilpropanoides em vegetais (VOGT, 2010) (Figura 7).

**Figura 7 - Biossíntese de fenilpropanoides.**



Fonte: adaptado de Li et al. (2017).

Legenda: CAAT = álcool cumaril acetil transferase; CAD = álcool cinamil dehidrogenase; CFAT = álcool coniferil acetil transferase; CCOMT = cafeoil-CoA O-metiltransferase; CCR = cinamoil-CoA redutase; C3H = *p*-cumaroilchiquimato 3'-hidroxilase; C4H = cinamato 4-hidroxilase; 4CL = 4-cumaroil CoA ligase; COMT = ácido cafeico O-metiltransferase; CvOMT = chavicol O-metiltransferase; CVS = chavicol sintase; EGS = eugenol sintase; EOMT = eugenol O-metiltransferase; F5H = ferulato-5-hidroxilase; HCT = hidroxicinamoil-CoA chiquimato/cinato hidroxicinamoil transferase; PAL = fenilalanina amônia liase.

### 2.2.3 Compostos nitrogenados

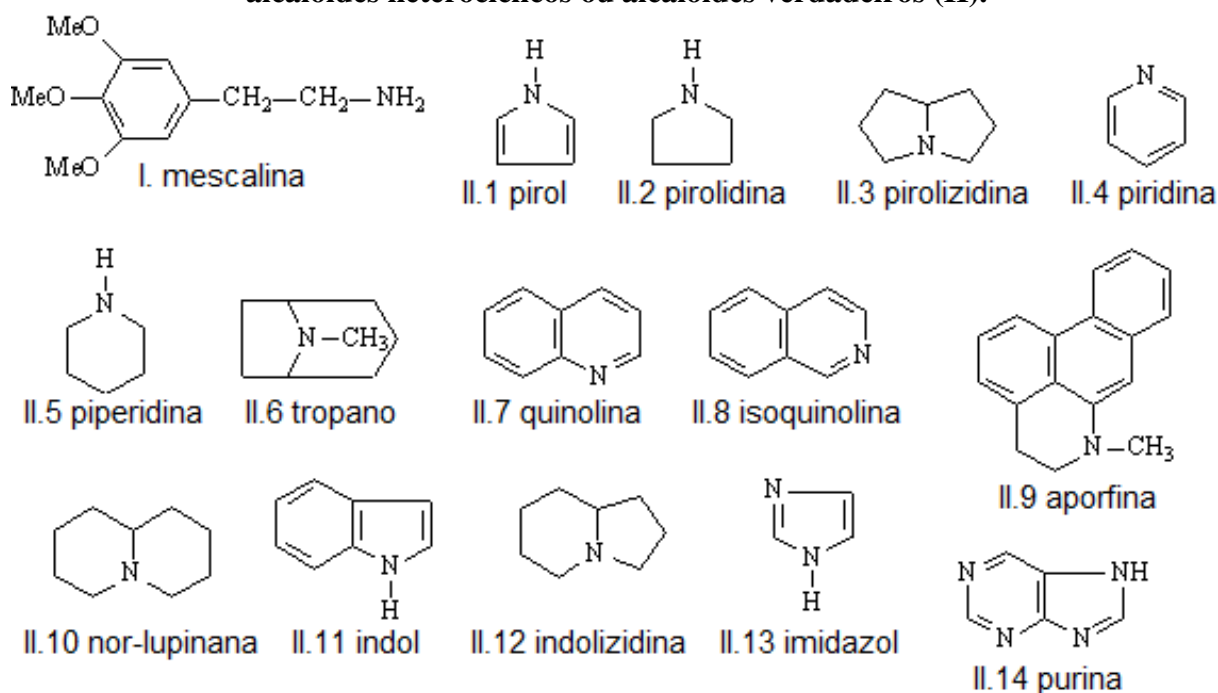
Os metabólitos secundários que possuem nitrogênio em sua estrutura são conhecidos como compostos nitrogenados. Nessa categoria estão substâncias relacionadas com a defesa do vegetal contra herbívoros e também a propriedades tóxicas ou alucinógenas. Os compostos nitrogenados podem ser subdivididos, principalmente, em: alcaloides, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos (TAIZ et al., 2014).

Existem três tipos principais de alcaloides: alcalóides verdadeiros, protoalcaloides e pseudoalcaloides. Os alcaloides verdadeiros (como purina, piridina e quinina) compartilham



o nitrogênio derivado de aminoácidos (ornitina, lisina, fenilalanina, tirosina, triptofano e histidina) com o anel heterocíclico (os aminoácidos descarboxilados são condensados com uma porção estrutural não azotada), enquanto que os protoalcaloides (como hordenina, mescalina e ioimbina) são compostos em que o átomo de nitrogênio derivado de aminoácidos (tirosina e triptofano) não é uma parte do anel heterocíclico (Figura 8). Os pseudoalcaloides (como conina, capsaicina, efedrina, solanidina, cafeína, teobromina e pinidina) são compostos cujos esqueletos básicos de carbono não são derivados de aminoácidos e sim dos precursores dos aminoácidos, do processo de degradação dos aminoácidos ou até mesmo de precursores não-aminoácidos (os pseudoalcaloides podem ser derivados de acetato, fenilalanina e terpenos, bem como alcalóides esteroidais, ácido nicotínico e ácido antranílico) (ANISZEWSKI, 2007).

**Figura 8 - Estrutura básica de alcaloides não heterocíclicos ou protoalcaloides (I) e alcaloides heterocíclicos ou alcaloides verdadeiros (II).**

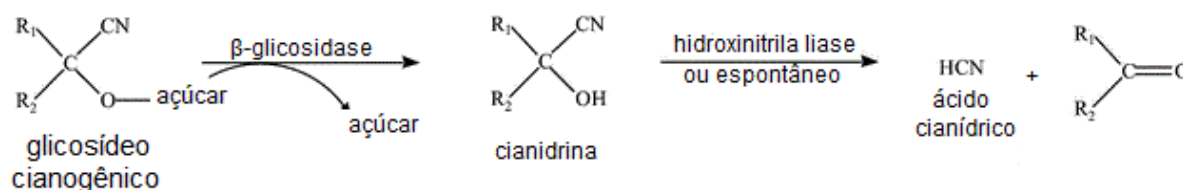


Fonte: Horváth et al. (2014).

Os glicosídeos cianogênicos são um grupo de compostos secundários contendo nitrila que produzem cianeto de hidrogênio (cianogênese) após sua degradação enzimática (BOLARINWA et al., 2016). Estruturalmente, esses compostos são caracterizados como  $\alpha$ -hidroxinitrilos (cianidrinas) que são estabilizados por glicosilação (GLEADOW & MØLLER, 2014) (Figura 9). Apesar da grande diversidade estrutural de glicosídeos cianogênicos, acredita-se que quase todos sejam derivados de apenas seis diferentes aminoácidos: valina,

isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina e ciclopentenila-glicina (um aminoácido não proteico). Os glicosídeos cianogênicos desempenham um papel crucial na organização do sistema de defesa química em vegetais e em interações com insetos (BOLARINWA et al., 2016).

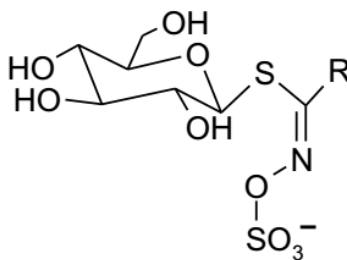
**Figura 9 - Esquema da cianogênese a partir do glicosídeo cianogênico em vegetais.**



Fonte: adaptado de Curtis et al. (2002).

Os glucosinolatos são metabólitos secundários que apresentam enxofre e nitrogênio em sua estrutura e tem a capacidade de controlar o crescimento de micro-organismos patogênicos no vegetal (ARRIAGA-MADRID et al., 2017). Esses compostos possuem uma estrutura central comum caracterizada pela presença de um grupo β-D-tioglucoose ligado a uma aldoxima sulfonada e uma cadeia lateral variável (R) derivada de aminoácidos (YAMANE et al., 2010) (Figura 10). Os glucosinolatos ocorrem naturalmente como sais de sulfato e são, portanto, compostos muito polares classificados como alifáticos, aromáticos e indólicos, dependendo do aminoácido do qual são derivados (SOLEDADE et al., 2010): alifático glucosinolatos derivados de metionina, isoleucina, leucina ou valina; glucosinolatos aromáticos derivados de fenilalanina ou tirosina; e glucosinolatos indólicos derivados do triptofano (REDOVNIKOVIĆ et al., 2008).

**Figura 10 - Estrutura química geral de glucosinolatos.**



Fonte: Redovniković et al. (2008).



#### **2.2.4 Fatores extrínsecos que influenciam o metabolismo vegetal**

Os vegetais podem sintetizar todos os vinte aminoácidos essenciais encontrados em proteínas e os outros compostos orgânicos nitrogenados utilizados por elas (SCHERTL et al., 2017). Direta ou indiretamente, a transaminação é responsável pela formação do grupo 2-amino de todos os vinte aminoácidos do vegetal, tendo como precursores em comum: aspartato, piruvato, eritrose-4-fosfato, glutamato e fosfoglicerato. A regulação dessas vias envolve mecanismos de retroinibição de enzimas alostéricas em pontos-chave da via biossintética e dentre os fatores de indução enzimática tem-se: a) o estresse por injúria e infecção de patógenos, principalmente na produção de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) sintetizados a partir do fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato, importante caminho metabólico na produção de metabólitos secundários; b) e o estresse hídrico que provoca elevados teores de prolina (sintetizada via glutamato) na tentativa de diminuir o potencial hídrico e reter água (KERBAUY, 2012).

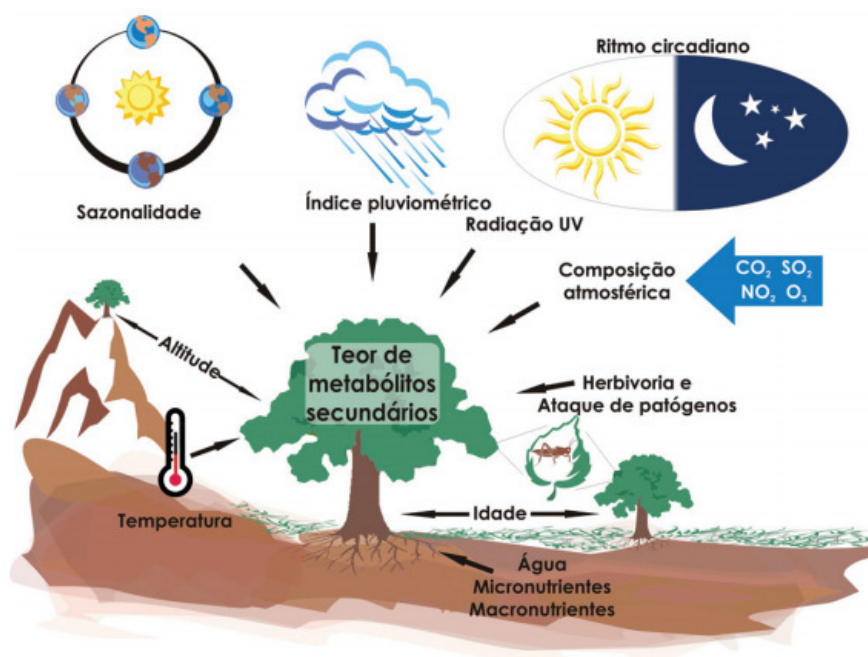
A síntese dos metabólitos secundários depende diretamente da produção dos metabólitos primários resultantes de processos fisiológicos básicos dos vegetais, como fotossíntese e glicólise. Qualquer fator capaz de alterar os mecanismos fisiológicos do vegetal, como luz, temperatura, vento, umidade e potencial hídrico, acarreta na maior ou menor produção de metabólitos primários, como carboidratos e proteínas, e consequentemente, altera a produção de metabólitos secundários, como heterosídeos cianogênicos, resinas, fenóis simples, taninos, terpenos, saponinas, flavonoides, antocianinas, antocianidinas, alcaloides, cumarinas e os componentes de óleos essenciais (TAIZ et al., 2014; OLIVOTO et al., 2017).

Fatores intrínsecos, relacionados à genética do vegetal, como a disponibilidade de pigmentos fotossintetizantes ou de enzimas e cofatores, assim como os fatores extrínsecos, decorrentes do ambiente no qual o vegetal se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Ressalta-se que os fatores extrínsecos podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário do vegetal (MORAIS, 2009; SIMÕES et al., 2017).

Dentre os diversos fatores que influenciam a síntese de metabólitos primários e secundários no vegetal merecem destaque: as interações entre vegetais, vegetais/micro-organismos e vegetais/insetos; idade e estágio de desenvolvimento; luminosidade; temperatura; sazonalidade; pluviosidade; nutrição; época e horário de coleta; bem como técnicas de colheita e pós-colheita (GOBBO-NETO & LOPES, 2007) (Figura 11).

A deficiência hídrica leva a diminuição da fotossíntese pela diminuição da assimilação de carbono gerada pelo fechamento estomático e somente em estresse muito severo é que ocorre a diminuição da atividade da enzima rubisco e do teor de ribulose bifosfato. Os eventos primários da fotossíntese, como a capacidade de transporte de elétrons, são muito resistentes à seca (CHAVES & OLIVEIRA, 2004).

**Figura 11 - Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em uma espécie vegetal.**



Fonte: Gobbo-Neto & Lopes (2007)

A redução na atividade fotossintética pela redução na assimilação do  $\text{CO}_2$  também é um indicador do efeito da deficiência hídrica de um vegetal. A fotossíntese desempenha importante papel na produção de uma cultura, pois o rendimento é potencialmente influenciado pela duração da taxa de acumulação de carboidratos. A deficiência hídrica pode afetar a utilização de carboidratos, por alterar, basicamente, a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o desenvolvimento de partes novas no vegetal (SANTOS & CARLESSO, 1998; NIINEMETS, 2016).

O vegetal, inclusive, é capaz de adotar estratégias adaptativas à deficiência hídrica que mantêm seu rendimento e aumenta a porcentagem de proteínas semelhantes às deidrinhas e enzimas específicas, tais como sacarose sintase e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, que podem exercer papel dominante no metabolismo do açúcar nessas condições (PELAH et al., 1997).

Geralmente, na deficiência hídrica ocorrem alterações na proporção entre as clorofilas “a” e “b” e carotenoides, além de estresse oxidativo com aumento nos teores de flavonoides e antocianinas. Os flavonoides têm funções protetoras durante esse estresse e os tecidos de vegetais que contêm antocianinas são bastante resistentes à seca (AKULA & RAVISHANKAR, 2011). Entretanto, o entendimento da resposta química vegetal à deficiência hídrica é complexa. Nas folhas de *Ocimum basilicum* L (manjeriço) já foi relatado tanto aumento do teor de clorofila com acúmulo de espécies reativas de oxigênio (HEIDARI & GOLPAYEGANI, 2012), quanto redução do teor de clorofila e aumento do antioxidante prolina (KORDI et al., 2013) na deficiência hídrica.

As atividades de enzimas importantes da biossíntese de metabólitos secundários são influenciadas por fatores extrínsecos. Por exemplo, as enzimas chaves na biossíntese de compostos fenólicos e fenilpropanoides, como fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD), são alteradas por diferentes regimes de aplicação hídrica (LUNA et al., 2012; PAYYAVULA et al., 2012). Regimes mais irrigados podem levar ao aumento (LUNA et al., 2012; MACHADO et al., 2013; PEÑA-ESTÉVEZ et al., 2016) ou a diminuição (TOVAR et al., 2002; PHIMCHAN et al., 2014; POPOVIĆ et al., 2016) da atividade da PAL, assim como ao aumento da atividade da PPO (LUNA et al., 2012). Enquanto que a atividade da POD demonstrou ser menos afetada por diferentes tratamentos de aplicação hídrica (LUNA et al., 2012; PEÑA-ESTÉVEZ et al., 2016).

Nas espécies de eucalipto, *Eucalyptus globulus* Labill. e *Eucalyptus viminalis* Labill., a redução hídrica provocou efeitos diferentes nos metabólitos secundários sintetizados via isoprenoide e via chiquimato. Os terpenos (mono ou sesquiterpenos) não foram alterados pela deficiência hídrica, mas a concentração de taninos condensados aumentou e a concentração de intermediários específicos de produtos condensados produzidos via ácido chiquímico e isoprenoide diminuiu (MCKIERNAN et al., 2016).

Em função da redução hídrica houve estímulo da biossíntese de flavonoides nas raízes de *Scutellaria baicalensis* Georgi (escutelária) (YUAN et al., 2012) e nas folhas de *Cuminum cyminum* L. (cominho) (ALINIAN et al., 2016), assim como: alterações nos níveis de alcanos de cadeia longa e de maior peso molecular em folhas de *Gossypium hirsutum* L. (algodão) (BONDADA et al., 1996); aumento nos níveis de ácido betulínico e compostos fenólicos como: quercetina, rutina, 1,5-di-hidroxixantona e isouliginosina B em brotos e raízes de *Hypericum brasiliense* Choisy (alecrim-bravo) (NACIF DE ABREU & MAZZAFERA, 2005); diminuição dos teores de artemisinina, arteanina B, ácido artemisínico

e ácido dihidroartemisínico de *Artemisia annua* L. (artemisia ou absinto) (YADAV et al., 2014).

Contudo, a deficiência hídrica pode levar tanto ao aumento de antocianinas e taninos (ALINIAN et al., 2016), quanto à redução dos compostos fenólicos (ANINBON et al., 2016) e ácidos graxos (BETTAIEB et al., 2009), com destaque para os ácidos linoleico, oleico e petroselinico (LARIBI et al., 2009; MCKIERNAN et al., 2016).

Como há alteração de composição química com incremento de determinados componentes, a atividade farmacológica dos vegetais também pode ser alterada sob deficiência hídrica. A atividade antioxidante nessa situação aumentou, por exemplo, em *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) (CARVALHO et al., 2013), *Ocimum basilicum* L. (manjerição) (KHAKDAN et al., 2016) e *Orthosiphon stamineus* Benth. (javá) (RAHMAN et al., 2014).

Além da água, deficiências nutricionais, como a nitrogenada, geralmente aumentam a síntese de fenilpropanoides e tem um efeito marcante nos níveis de compostos fenólicos nos vegetais. Esse aumento na produção de metabólitos secundários ocorre porque o crescimento é frequentemente mais inibido do que a fotossíntese e o carbono fixado é predominantemente alocado aos metabólitos secundários (AKULA & RAVISHANKAR, 2011). Em *Triticum aestivum* L. (trigo), por exemplo, o excesso de nitrogênio alterou o seu metabolismo secundário de tal modo em que houve 99 metabólitos diferentes entre os tratamentos com fertilização nitrogenada normal e excessiva (KONG et al., 2017).

### 2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES VEGETAIS

Primeiramente, é necessária a distinção entre essência vegetal e óleo essencial. O primeiro termo corresponde às secreções naturais produzidas no vegetal por células secretoras especializadas, enquanto que o segundo termo se refere ao extrato obtido por vapor ou hidrodestilação, o que significa que os óleos essenciais são a essência vegetal destilada (ASBAHANI et al., 2015).

Os óleos essenciais são relatados em plantas aromáticas distribuídas principalmente nos países mediterrânicos e tropicais (PANDEY et al., 2014). Os óleos essenciais e seus compostos isolados são amplamente utilizados nas indústrias cosméticas (SARKIC & STAPPEN, 2018), alimentícia e farmacêutica (ELSHAFIE & CAMELE, 2017).

Os óleos essenciais são líquidos perfumados, geralmente incolores e agradáveis, com alto índice de refração resultado de uma mistura complexa de compostos produzidos pelo

vegetal (ALI et al., 2015). A combinação de diferentes proporções desses compostos nos óleos essenciais, com consequente diferença de volatilidade, conferem características distintas aos óleos essenciais das espécies vegetais (FIGUEIREDO et al., 2008), mas devido à sua natureza hidrofóbica e sua densidade muitas vezes menor que a da água, geralmente os óleos essenciais são lipofílicos, solúveis em solventes orgânicos e imiscíveis em água (ASBAHANI et al., 2015).

Também denominados de óleos etéreos, óleos voláteis ou compostos orgânicos voláteis biogênicos, os óleos essenciais, diferentemente dos óleos graxos, são voláteis, altamente concentrados e extraídos de diferentes áreas do vegetal, como folhas, flores, caules, raízes, sementes ou frutos (ORMEÑO et al., 2011; SIDDIQUE et al., 2016).

### **2.3.1 Composição química dos óleos essenciais**

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis de baixo peso molecular. Essas misturas podem conter mais de 300 compostos diferentes, os quais consistem em compostos orgânicos voláteis normalmente de peso molecular abaixo de 300 (DHIFI et al., 2016) e com proporções variáveis de hidrocarbonetos saturados e insaturados, álcoois, aldeídos, ésteres, éteres, cetonas, óxidos fenóis e terpenos, que podem produzir odores característicos (ALI et al., 2015). Geralmente, os óleos essenciais são constituídos por alguns componentes em altas concentrações (20-70%), sendo considerados compostos majoritários, enquanto os demais componentes são considerados minoritários por estarem presentes em quantidades pequenas ou traços (COSTA et al., 2017).

No entanto, os constituintes dos óleos essenciais dos vegetais dividem-se em duas principais classes químicas completamente distintas: terpenos e fenilpropanoides (BAKKALI et al., 2008; MOGHADDAM & MEHDIZADEH, 2017). Embora os terpenos e seus derivados oxigenados sejam de ocorrência mais frequente e abundante, a presença de fenilpropanoides altera significativamente o valor sensorial do óleo essencial, pois proporciona um odor e sabor indispensáveis e significativos ao óleo essencial e a sua espécie vegetal de origem (MOGHADDAM & MEHDIZADEH, 2017).

Os terpenos dos óleos essenciais em um grande número de vegetais aromáticos são sintetizados nos plastídios via metileritritol fosfato (MEP) e os fenilpropanoides são derivados da fenilalanina e, em menor escala, da tirosina pela via do ácido chiquímico no citoplasma. A síntese dos terpenos é de caráter recessivo ou hipostático, enquanto que a produção de fenilpropanoides, especialmente eugenol e compostos relacionados, baseia-se em

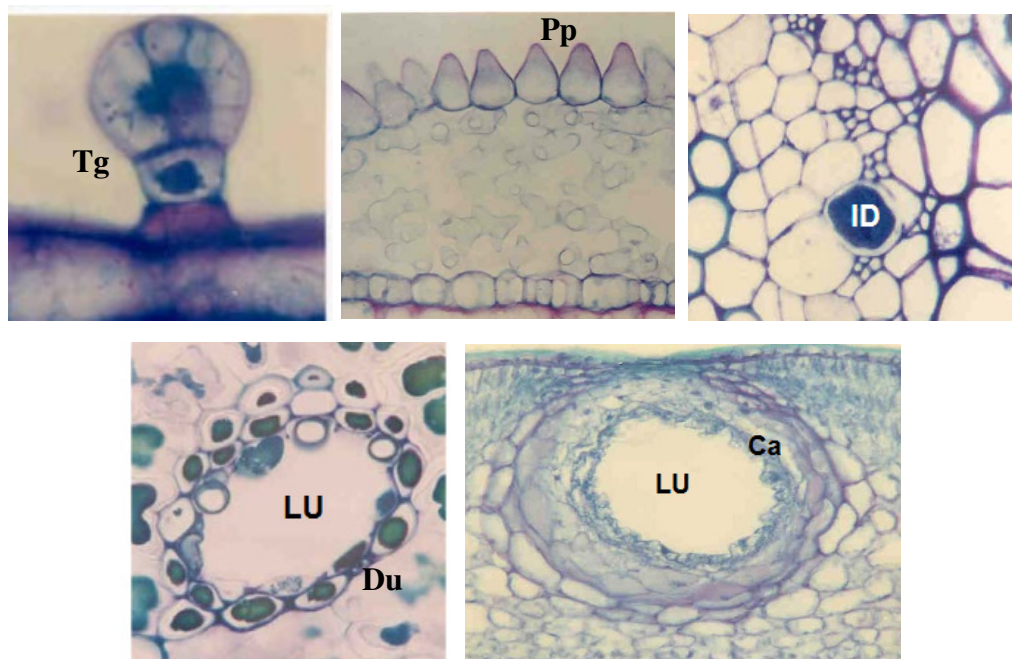
efeitos dominantes ou epistáticos. No entanto, falta delineamento das rotas metabólicas de produção de cada um dos fenilpropanoides presentes nos óleos essenciais (SANGWAN et al., 2001).

### 2.3.2 Localização dos óleos essenciais

Óleos essenciais de vegetais são sintetizados, armazenados e liberados no ambiente por uma variedade de estruturas epidérmicas ou mesófilas, cuja morfologia tende a ser característica do grupo taxonômico (SANGWAN et al., 2001).

Esses compostos estão localizados na superfície do vegetal com secreção exógena (papilas ou tricomas glandulares) e/ou no interior do vegetal em órgãos internos com secreção endógena (células, canais ou cavidades secretoras) ou no citoplasma de algumas células secretoras em um ou mais órgãos do vegetal (ASBAHANI et al., 2015; REHMAN et al., 2016) ou até mesmo nos espaços intercelulares (ALI et al., 2015) (Figura 12).

**Figura 12 - Estruturas secretoras observadas em óleos essenciais.**



Fonte: adaptado de Oliveira & Machado (2009)

Legenda: Tg = tricoma glandular; Pp = papila; ID = idioblasto; Du = ducto; Ca = cavidade; LU = lúmen.

Os tricomas são projeções epidérmicas compostas por estruturas unicelulares ou multicelulares que revestem a maioria dos tecidos vegetais aéreos. Essas estruturas são divididas em duas categorias gerais: glandulares ou não glandulares, conforme sua morfologia e capacidade de secreção. Os tricomas glandulares (Figura 12) são caracterizados pela

presença de células que têm a capacidade de secretar ou armazenar grandes quantidades de metabólitos secundários que contribuem para aumentar a adequação do vegetal ao meio ambiente e são classificados em peltado ou capitato de acordo com o tamanho da cabeça e do comprimento do pedúnculo. Os tricomas glandulares capitados possuem um pedúnculo cujo comprimento é maior que a metade da altura da cabeça, enquanto os tricomas glandulares peltados possuem um pedúnculo curto com uma grande cabeça secretora (HUCHELMANN et al., 2017).

As papilas (Figura 12) são células simples em forma de cone frequentemente encontradas na epiderme das pétalas de flores com a função de atrair agentes polinizadores e também com efeito na molhabilidade da superfície floral (WHITNEY et al., 2011).

Células, canais e cavidades secretoras tem a função de defesa contra a herbivoria de insetos (PICKARD, 2008). As células secretoras (Figura 12) são denominadas de idioblastos secretores (MARINHO et al., 2011) e na maioria dos casos são células individuais que diferem proeminentemente das células vizinhas em tamanho, conteúdo, ontogenia e metabolismo (BOSABALIDIS, 2014).

Os canais secretores (também denominados de ductos) e as cavidades secretoras (também denominadas de bolsas) são diferenciadas morfologicamente pelo tamanho e largura, onde os canais são considerados mais longos e estreitos, enquanto que as cavidades são mais curtas e mais largas (Figura 12). Ambas as estruturas glandulares podem se originar da esquizogênese (separação celular), lisigênese (morte celular) ou esquizolisigênese (uma combinação de ambos os processos) (RODRIGUES et al., 2011) e se caracterizam pela presença de um lúmen delimitado por células epiteliais características denominadas de epitélio, que são os principais locais de síntese e secreção das substâncias que preenchem o lúmen do ducto. (PICKARD, 2008; PALERMO et al., 2017).

### **2.3.3 Métodos de extração dos óleos essenciais**

Atualmente existem diferentes técnicas de extração de óleos essenciais, como destilação, efusão, extração de CO<sub>2</sub>, expressão e extração por solvente. Mas os métodos convencionais mais utilizados são os métodos de destilação como arraste por vapor (hidrodestilação ou a vapor de água) e os métodos de extração por solvente (SIDDIQUE et al., 2016).

No método por destilação, os óleos essenciais são vaporizados quando a matéria-prima é submetida a uma corrente de vapor e a mistura dos vapores de óleo e água, ao condensar, separa-se em camadas, pela diferença de densidade (BORSATO et al., 2008;

RASSEM et al., 2016). No método por hidrodestilação o material a ser destilado permanece diretamente em contato com a água em ebulição, enquanto que no método por arraste de vapor de água a matéria-prima é colocada sobre uma placa perfurada, a certa distância do fundo do extrator, de modo a evitar o contato direto com a água em ebulição; ou ainda, pode-se introduzir vapor de água, gerado a partir de caldeiras ou autoclaves, em uma câmara de expansão do extrator, antes de passar pela placa perfurada, onde é colocada a matéria-prima (BORSATO et al., 2008). A Farmacopeia Brasileira estabelece que o teor de óleos essenciais em drogas vegetais deve ser determinado por destilação por arraste de vapor (BRASIL, 2010) e existem vários tipos de sistemas extratores de óleos essenciais, mas o sistema Clevenger (Figura 13) é o mais conhecido e bastante utilizado em escala laboratorial, podendo operar em circuito aberto ou fechado (SANTOS et al., 2004).

**Figura 13 – Hidrodestilação de óleo essencial em aparelho do tipo Clevenger.**



Fonte: Própria (2018)

O processo de extração utilizando solvente consiste em colocar um solvente orgânico (hexano, benzeno, metanol, etanol, propanol, acetona, pentano e diversos solventes clorados) em contato com a matriz vegetal. Após um intervalo de tempo, suficiente para que ocorra a transferência dos constituintes solúveis presentes no vegetal, efetua-se a separação das fases sólida e líquida. O óleo é obtido pela evaporação do solvente presente na fase líquida. Trata-se de um método em que se obtém um maior rendimento na extração, porém, tem a desvantagem de que, junto com o óleo essencial, o solvente também retira substâncias não voláteis (como ceras e pigmentos) e o solvente residual (cuja retirada é de alto custo), que



além de ser tóxico, pode reagir ou interferir nas propriedades biológicas e organolépticas do óleo essencial (SILVEIRA et al., 2012).

#### **2.3.4 Técnicas analíticas para determinação da composição dos óleos essenciais**

Os métodos empregados rotineiramente para determinar a composição e a qualidade dos óleos essenciais são Cromatografia Gasosa (GC), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), Espectrometria de Massa (MS) e Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Técnicas cromatográficas, como GC e HPLC, são usadas para separar óleos essenciais em seus constituintes individuais, de modo que eles possam ser identificados e potencialmente quantificados por um detector acoplado, como um MS. O método de GC é ideal para compostos voláteis e revolucionou a detecção de constituintes químicos menores, especialmente quando usado em conjunto com MS e RMN (BEALE et al., 2017).

A cromatografia é baseada no princípio em que as moléculas na mistura são aplicadas na superfície ou no sólido, e a fase estacionária fluida (fase estável) é separada uma da outra enquanto se move com o auxílio de uma fase móvel. Os fatores efetivos neste processo de separação incluem características moleculares relacionadas à adsorção (líquido-sólido), partição (líquido-sólido) e afinidade ou diferenças entre seus pesos moleculares. Por causa dessas diferenças, alguns componentes da mistura permanecem mais tempo na fase estacionária, e se movem lentamente no sistema de cromatografia, enquanto outros passam rapidamente para a fase móvel e deixam o sistema mais rápido. A fase estacionária em cromatografia, é uma fase sólida ou uma fase líquida revestida na superfície de uma fase sólida. A fase móvel que flui sobre a fase estacionária é uma fase gasosa ou líquida. Se a fase móvel for líquida, ela é denominada como Cromatografia Líquida (LC) e, se for gás, ela é chamada de GC (COSKUN, 2016).

O método de HPLC (também conhecido como Cromatografia Líquida de Alta Pressão) é uma técnica analítica popular utilizada para a separação, identificação e quantificação de cada constituinte de uma mistura. Trata-se de uma técnica avançada de LC em coluna em que a fase móvel, constituída geralmente por uma mistura de solventes (por exemplo: água, acetonitrilo e/ou metanol), é pressurizada por uma bomba a altas pressões de até 400 atm. A fase movel pressurizada é assim forçada a passar por uma coluna contendo a fase estacionária sólida adsorvente (frequentemente um material granular feito de partículas sólidas, como sílica ou polímeros, de 2  $\mu\text{m}$  a 50  $\mu\text{m}$  de tamanho). A amostra com os

componentes a serem isolados é colocada em pequenos volumes (geralmente microlitros) no fluxo da fase móvel permeando através da coluna. Os componentes da amostra são separados de acordo com a diferença nas afinidades relativas com o adsorvente. A velocidade de cada componente depende de sua natureza e da composição da fase móvel. O tempo em que um determinado analito elui (eleva-se para fora da coluna) é chamado de tempo de retenção (RT). O RT medido sob condições específicas é uma normalidade distinta para um determinado analito (THAMMANA, 2016).

Na GC a fase estacionária é uma coluna que é colocada no dispositivo e contém uma fase estacionária líquida que é adsorvida na superfície de um sólido inerte. A GC é uma cromatografia "gás-líquido". Sua fase móvel consiste de gases como He ou N<sub>2</sub>. A fase móvel, que é um gás inerte, é passada através de uma coluna sob alta pressão. A amostra a ser analisada é vaporizada e entra na etapa de fase móvel gasosa. Os componentes contidos na amostra estão dispersos entre fase móvel e fase estacionária no suporte sólido. A GC é uma técnica simples, multifacetada, altamente sensível e de rápida aplicação com excelente separação de moléculas minúsculas (de grupos álcool, éster, lípido e amino). É empregada na separação de quantidades muito pequenas de analitos e para gases e misturas de líquidos voláteis e material sólido (COSKUN, 2016).

A técnica analítica de MS ioniza espécies químicas e classifica os íons com base em sua relação massa-carga. A aparelhagem consiste de fonte de íons, analisador de massa e detector. A fonte de íons ioniza os componentes de uma amostra analisada. Os íons são subsequentemente transportados para o analisador de massa e separados antes da detecção (PORTYCHOVÁ & SCHUG, 2017).

O comportamento de átomos quando expostos a um campo magnético consiste na fundamentação do método de RMN. Os átomos com um número de massa ímpar, como <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P e <sup>13</sup>C possuem a propriedade quântica de "spin" (quando o núcleo de um átomo gira em torno de seu próprio eixo) e se comportam como dipolos se alinhando ao longo do eixo de um campo magnético aplicado. Durante o relaxamento após a excitação, são gerados sinais de radiofrequência que podem ser expressos como um espectro de frequência. A ressonância nuclear ocorre porque os núcleos de pelo menos um dos isótopos da maioria dos elementos possuem um momento magnético. Um momento magnético surge porque o núcleo pode ter spin e também é carregado. Quando colocados em um campo magnético constante, os núcleos que possuem spin podem ser excitados, a energia do momento magnético depende da orientação do núcleo em relação a esse campo. A aplicação de radiação eletromagnética em uma frequência adequada pode estimular transições entre estados de energia altos e baixos e

essa transição no nível de energia fornece a base para a espectroscopia de RMN, pois a energia absorvida pode ser detectada (TOGNARELLI et al., 2015).

O avanço tecnológico de técnicas analíticas, sobretudo das técnicas hífenadas ou multidimensionais, proporcionou um papel importante na elucidação de composições químicas complexas dos produtos de origem vegetal. O termo técnicas hífenadas ou multidimensionais refere-se ao acoplamento entre duas ou mais técnicas analíticas com o objetivo de obter uma ferramenta analítica mais eficiente e rápida que as técnicas convencionais (unidimensionais) em termos de separação, detecção e identificação de uma amostra (RODRIGUES, M. V. N. et al., 2006; PRATA et al., 2016).

Para análise de compostos voláteis e termicamente estáveis, o método multidimensional mais utilizado é a GC acoplada ao MS sob condições de impacto de elétrons (Figura 14). Nessa técnica, as informações espectrais obtidas pela ionização por elétrons unida ao índice de retenção, muitas vezes são suficientes para a concreta caracterização do analito devido à reprodutibilidade e ao extenso banco de dados de espectros de massas de metabólitos secundários disponíveis na literatura (PRATA et al., 2016).

**Figura 14 – Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas.**



Fonte: Central Analítica IQ-USP (2018).

### **2.3.5 Efeitos da água na produção e composição dos óleos essenciais**

A produção de óleo essencial pode ser influenciada pelo crescimento do vegetal a partir do aumento da produção de folhas e flores ou do aumento geral da biomassa e de estruturas de armazenamento (PRINS et al., 2010). Os óleos essenciais são produzidos para

que os vegetais suportem numerosas condições de estresse, além de mediar interações ecológicas com o ambiente biótico (SEIGLER, 1998).

No entanto, restrições ambientais podem limitar várias respostas fisiológicas e metabólicas do vegetal, como acúmulo de soluto e antioxidante e expressão de genes específicos de estresse, que interferem na produção de compostos orgânicos voláteis biogênicos (TUTEJA & SINGH GILL, 2013).

A diminuição da aplicação hídrica afeta substancialmente a biossíntese de óleo essencial a partir da maior densidade de glândulas secretoras como consequência da redução da área foliar, o que resulta geralmente no aumento do teor de óleo essencial em algumas espécies vegetais (SIMON et al., 1992; SANGWAN et al., 2001).

As quantidades de óleos essenciais produzidos sob condições de deficiência hídrica podem ser modificadas, dependendo da espécie e magnitude do estresse. A restrição hídrica pode comprometer o teor de óleos essenciais:

a) aumentar, como em *Ocimum basilicum* (manjerição), *Ocimum americanum* L. (manjerição americano) (KHALID, 2006), *Petroselinum crispum* [Mill.] Nym. ex A.W. Hill (salsinha) (PETROPOULOS et al., 2008), *Calendula officinalis* L. (margarida) (AZIMI et al., 2012), *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf (capim-limão) (LELIS, 2014; PINTO et al., 2014), *Salvia officinalis* (sálvia) (GOVAHI et al., 2015), *Ocimum africanum* Lour (manjerição-limão) (SANTOS et al., 2016) e *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* (orégano) (MORSHEDLOO et al., 2017);

b) diminuir, como ocorreu com *Dracocephalum moldávica* L. (moldávia) (ABAS, 2006) e *Lippia sidoides* Cham (alecrim-pimenta) (ALVARENGA et al., 2011);

c) ou até mesmo provocar resultados oscilatórios conforme a intensidade e duração da redução na aplicação hídrica, como nas espécies *Cymbopogon nardus*. (L.) Rendle var. *confertiflorus* (Steud.) Bor. (citronela) e *Cymbopogon pendulus* (Steud.) Wats (Jammu lemongrass) (SANGWAN et al., 1993; SINGH-SANGWAN et al., 1994).

Os óleos essenciais podem sofrer alterações qualitativas em sua composição química devido à deficiência hídrica, como nos estudos de Bettaieb et al. (2009) com *Salvia officinalis* L. (sálvia) em que os ácidos esteárico e aracdônico, encontrados nos espécimes produzidos em condições hídricas ótimas foram suprimidos quando houve forte redução da aplicação hídrica.

Porém, em geral, nos óleos essenciais das espécies submetidas à deficiência hídrica há somente alterações quantitativas com aumento do rendimento e do teor de seus componentes majoritários, como em: *Carum carvi* L. (alcaravia) (LARIBI et al., 2009);

*Melissa officinalis* L. (erva-cidreira) (MEIRA et al., 2013); *Eucalyptus globulus* Labill. e *Eucalyptus viminalis* Labill. (espécies de eucalipto) (MCKIERNAN et al., 2016); *Laurus nobilis* L. (louro) (MAATALLAH et al., 2016); *Helichrysum petiolare* Hilliard & B.L. Burt. (sempre-noiva-das-floristas) (CASER et al., 2016).

Essa alteração na composição do óleo essencial varia em função da intensidade da redução da aplicação hídrica e das características de cada espécie. No óleo essencial de *Cuminum cyminum* L. (cominho), por exemplo, o estresse moderado provoca alterações quantitativas com aumento do teor e o estresse severo leva a redução dos ácidos oleico, linolênico e petroselinico e ao desaparecimento dos ácidos palmitoleico e araquidínico (VAZIN, 2013). Em *Artemisia annua* L. (artemisia ou absinto), alguns dos monoterpenos menores, todos os sesquiterpenos e outros componentes voláteis de baixo peso molecular do seu óleo essencial apresentam diminuição de suas concentrações na deficiência hídrica, contudo, o componente majoritário, a cânfora, não sofre alteração (YADAV et al., 2014). No óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) há aumento de linalol e metil chavicol com o aumento do estresse hídrico, enquanto a proporção relativa de sesquiterpenos diminui. (SIMON et al., 1992).

### 2.3.6 Efeitos do nitrogênio na produção e composição dos óleos essenciais

As aplicações de fertilizantes geralmente afetam o rendimento do óleo essencial aumentando a quantidade de rendimento de biomassa por unidade de área, mas as interações de fertilizantes também ocorrem de maneira específica, o que exige um gerenciamento e um ajuste fino das necessidades de cada espécie devido ao alto custo dos fertilizantes (SANGWAN et al., 2001).

Nos estudos de Meneghini et al. (1998), a adição de ureia aumentou significativamente (até cerca de 50%) a taxa de fotossíntese em relação à luz incidente, clorofilas e carotenóides, proteínas e teores de nitrogênio aminado. Entretanto, o estabelecimento de diretrizes de manejo de nitrogênio deve considerar a resposta agrônômica e o risco ambiental potencial (JOHNSON et al., 2018).

De modo geral, nos vegetais há aumento do teor e o rendimento do óleo essencial, assim como modificação na sua composição química em função da taxa de nitrogênio aplicada (NURZYŃSKA-WIERDAK, 2013).

A elevação do teor e do rendimento do óleo essencial em função do aumento dos níveis de nitrogênio na adubação foi constatada nas seguintes espécies: *Nigella sativa* L.

(cominho preto) (ASHRAF et al., 2006); *Ocimum americanum* L. (manjeriço americano) (OMER et al., 2008); *Melissa officinalis* L. (erva-cidreira) (AZIZ & EL-ASHRY, 2009); *Artemisia pallens* Wall. (davana) (KUMAR et al., 2009); *Carum carvi* L. (alcaravia) (EL-DIN et al., 2010); *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) (PUTTANNA et al., 2010); *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) (SIFOLA & BARBIERI, 2006; RAO et al., 2007; TAIE et al., 2010; NURZYŃSKA-WIERDAK et al., 2011); *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats (capim-limão) (ZHELJAZKOV et al., 2011); *Thymus vulgaris* L. (tomilho) (JABBARI et al., 2011); *Foeniculum vulgare* Mill. (erva-doce) (EHSANIPOUR et al., 2012); *Zingiber officinale* Rosc. (SINGH et al., 2016); *Mentha x piperita* L. (hortelã-pimenta) (ZHELJAZKOV et al., 2010; KESHAVARZ & MODARRES-SANAVY, 2018); *Mentha arvensis* (hortelã japonesa) (KESHAVARZ & MODARRES-SANAVY, 2018); *Helianthus annuus* L. (girassol) (SCHULTZ et al., 2018).

Contudo, a aplicação de nitrogênio no desenvolvimento de uma cultura pode não influenciar o teor de óleo essencial, como ocorrido com *Calendula officinalis* L. (margarida) que respondeu fracamente a aplicação de nitrogênio e tem recomendação de não aplicar ou limitar a adubação nitrogenada (JOHNSON et al., 2018) ou pode diminuir as concentrações de óleo essencial à medida que aumenta a quantidade de nitrogênio aplicado, como em *Brassica napus* L. (canola) (BRENNAN, 2016).

O aumento dos níveis de nitrogênio pode ter um efeito marcante em alguns dos componentes do óleo essencial: em *Nigella sativa* L. (cominho preto) *p*-cimeno e ácido palmítico aumentaram, ácido esteárico diminuiu e  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, ácido  $\alpha$ -linolênico, ácido linoléico e o ácido dihomolinoléico não se alteraram (ASHRAF et al., 2006); em *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) houve aumento de acetato de bornilo, eucaliptol (ZHELJAZKOV et al., 2008), metil eugenol (NURZYŃSKA-WIERDAK et al., 2011), linalol e borneol e diminuição de metil chavicol, 1,8-cineol (TAIE et al., 2010), geraniol, eugenol (NURZYŃSKA-WIERDAK, 2012); em *Melissa officinalis* L. (erva-cidreira) ocorreu aumento de citronelal, neral e geraniol e redução das concentrações de acetato de geranila, linalol, citronelol e geraniol (AZIZ & EL-ASHRY, 2009); e em *Salvia sclarea* L. (sálvia moscatável) houve aumento de acetato de linalila e linalol (SHARMA & KUMAR, 2012).

O óleo essencial também pode não sofrer alterações em sua composição química em função da fertilização nitrogenada, como em *Artemisia pallens* Wall. (davana) (KUMAR et al., 2009) ou pode ter alteração nos seus componentes químicos pela redução na quantidade de nitrogênio. Por exemplo, a deficiência de nitrogênio provoca uma diminuição no conteúdo de 1,8-cineol, eugenol e metil chavicol em *Ocimum basilicum* L. (manjeriço)

(NURZYŃSKA-WIERDAK et al., 2011) e forte indução na produção de metabólitos fenólicos e de flavonas em *Matricaria chamomilla* L. (camomila) (KOVÁČIK & KLEJDUS, 2014) e de compostos fenólicos totais, de ácido cafeico e de ácido rosmarínico, com menor atividade antioxidante em *Ocimum basilicum* L. (manjerição) (NGUYEN & NIEMEYER, 2008).

A deficiência de nitrogênio induz mudanças em muitos processos fisiológicos, dentre eles a própria fotossíntese. O estresse por falta de nitrogênio diminui significativamente a capacidade de assimilação fotossintética de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) das folhas, levando a diminuições nas taxas fotossintéticas saturadas de luz e rendimentos quânticos fotossintéticos. Essa diminuição da capacidade de assimilação de CO<sub>2</sub> fotossintético está associada a diminuições no conteúdo e na atividade da enzima rubisco no ciclo de Calvin (JIN et al., 2015).

Há uma relação direta entre os produtos de carbono fotossintético e a biossíntese de terpenoides, por exemplo, com relações positivas entre o nitrogênio da folha ou do solo e a concentração dessa classe de compostos nas folhas (ORMEÑO & FERNANDEZ, 2012).

Assim, uma disponibilidade suficientemente adequada de nitrogênio pode aumentar o conteúdo de óleo essencial devido à promoção de emissões de terpenoides pelo aumento da taxa de transporte de elétrons e fotossíntese foliar que fornecem requisitos de ATP e disponibilidade de substrato de carbono para a síntese de isopreno, como ocorrido com *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) nos estudos de Ormeño et al. (2008) e Ormeño & Fernandez (2012).

### **2.3.7 Efeitos da interação água-nitrogênio na produção e composição dos óleos essenciais**

Nos estudos de Wang et al. (2012) com *Fraxinus mandshurica* Rupr. (freixo), o teor de clorofila foliar e a atividade inicial da rubisco foram dramaticamente aumentados pela adição de nitrogênio, independentemente da condição da água do solo. Enquanto que no ciclo vegetativo de *Panicum virgatum* L. (“switchgrass”) foi verificado um estímulo das taxas fotossintéticas na interação das deficiências de água e de nitrogênio (STROUP et al., 2003).

O efeito de interação dos regimes de umidade e as taxas de nitrogênio indicam que os níveis crescentes de aplicação hídrica no nível mais alto de nitrogênio melhoram o rendimento de óleo essencial, como constatado em *Mentha arvensis* L. (hortelã japonesa) (RAM et al., 2006). Mas é importante ressaltar que pode ocorrer uma diminuição do teor de

óleo essencial por efeito de diluição do nitrogênio em água, como relatado por Azizi et al. (2009) em seus estudos com *Ocimum vulgare* (orégano).

O óleo essencial pode não sofrer alterações em seu teor em função da interação água-nitrogênio, como em *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats (capim-limão) (SINGH, 1999) e *Salvia officinalis* L. (sálvia) (RIOBA et al., 2015), ou pode ocorrer um aumento do teor de óleo essencial em função dessa interação, como ocorrido com *Zea mays* L. (milho) (KAPLAN et al., 2017). O aumento da taxa de aplicação hídrica pode diminuir gradualmente as porcentagens de nitrogênio nas folhas com aumento do teor e do rendimento do óleo essencial (HASSAN & ALI, 2014), da mesma forma que as deficiências concomitantes de água e nitrogênio, como ocorrido com *Ocimum vulgare* (orégano) (SAID-AL AHL et al., 2009) e com *Ocimum basilicum* (manjerição) (AFKARI, 2016).

A redução hídrica em interação com a diminuição da adubação nitrogenada pode também alterar a composição química do óleo essencial: em *Salvia officinalis* L. (sálvia) houve aumento da porcentagem de cânfora acima dos valores recomendados para comercialização (RIOBA et al., 2015); em *Mentha arvensis* L. (hortelã japonesa) ocorreu aumento do mentol, seu principal constituinte (RAM et al., 2006); em *Zea mays* L. (milho) ocorreram variações nos teores de ácido oleico e ácido linoleico (KAPLAN et al., 2017).

## 2.4 CRITÉRIOS DE QUALIDADE DE DROGAS VEGETAIS E DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais geralmente têm um amplo espectro de bioatividade, devido à presença de vários ingredientes ativos que funcionam através de vários mecanismos de ação (LAWAL & OGUNWANDE, 2013) e podem ter diversas aplicabilidades: como matérias-primas na indústria química fina, para aplicação direta em produtos como perfumes, fragrâncias e cosméticos, ou em produtos derivados estruturais com uso nas indústrias de medicamentos (fitoterápicos) ou veterinários e hortícolas (inseticidas, fungicidas, bactericidas, larvicidas) (MAIA & ANDRADE, 2009).

Uma das grandes dificuldades no desenvolvimento e inovação tecnológica, especialmente de fitoterápicos, está na garantia dos parâmetros de segurança, eficácia e qualidade, pelas características de variabilidade quantitativas e qualitativas do metabolismo dos vegetais (SIMÕES et al., 2017).

A segurança de um medicamento, seja qual for sua classe, está intimamente relacionada à sua qualidade, embora esse parâmetro não seja o único a ser levado em conta.



Enquanto a qualidade envolve a comparação com um padrão, a segurança engloba ainda uma série de outros aspectos. A morbi-mortalidade, por exemplo, associados à segurança medicamentosa, são os problemas mais sérios resultantes do uso de medicamentos. Esses desfechos dependem de causas extrínsecas e intrínsecas. As causas extrínsecas ao organismo são aquelas referentes aos processos utilizados na fabricação e capazes de influenciar a qualidade e a composição do medicamento, enquanto que as causas intrínsecas estão relacionadas, por exemplo, a genética, ao polimorfismo enzimático e as reações adversas, e resultam da ineficiência dos testes toxicológicos utilizados na etapa de pré-comercialização do medicamento, como testes realizados em animais, que não garantem a segurança de um medicamento para uso humano. Além disso, o número de pacientes submetidos aos ensaios pré-clínicos e clínicos é limitado, dificultando ou mesmo inviabilizando a identificação de reações raras e de grupos populacionais suscetíveis. Soma-se a isso o pouco conhecimento das interações medicamentosas (BARATA-SILVA et al., 2017).

O termo eficácia é usado para expressar um efeito biológico observado sob condições ideais de estudo controlado, enquanto que efetividade significa que um efeito é detectado não sob circunstâncias ideais, mas sob condições do mundo real em que o indivíduo vive. Quando se estabelece a relação entre a efetividade e os custos monetários tem-se a eficiência, ou seja, quando um produto além de efetivo é economicamente vantajoso (SILVA & VIDOTTI, 2008; PORZSOLT-FRANZ et al., 2015).

Em relação a regulamentação de fitoterápicos, a norma vigente que trata do registro desses medicamentos é a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26, de 13 de maio de 2014 (BRASIL, 2014). Essa norma da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece uma série de critérios a serem atendidos para garantir a segurança, qualidade e eficácia/efetividade desses produtos.

No laudo de análise da droga vegetal, por exemplo, deve constar, segundo a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, além do método utilizado, a especificação e os resultados dos ensaios de: caracterização (cor); identificação macroscópica e microscópica; descrição da droga vegetal em farmacopeias reconhecidas pela ANVISA, ou, em sua ausência, em outra documentação técnico-científica, ou laudo de identificação emitido por profissional habilitado; grau de cominuição, quando se tratar de chás medicinais ou drogas vegetais utilizadas como produto final ao consumidor; testes de pureza e integridade; detalhes da coleta/colheita e das condições de cultivo, quando cultivada; métodos de estabilização, quando empregado, secagem e conservação utilizados, com seus devidos controles, quando aplicável; método para eliminação de contaminantes, quando empregado, e a pesquisa de

eventuais alterações; perfil cromatográfico, acompanhado da respectiva imagem em arquivo eletrônico reconhecido pela ANVISA, com comparação que possa garantir a identidade da droga vegetal; e análise quantitativa do(s) marcador(es) ou controle biológico (BRASIL, 2014).

Muitas das preparações que utilizam espécies vegetais de uso medicinal ainda necessitam de estudos científicos mais detalhados, incluindo padronização química, testes biológicos *in vitro* e em modelos animais e avaliação clínica. Para a etapa de avaliação clínica, o controle de qualidade passa a ser uma prática totalmente indispensável. Métodos de controle de qualidade de algumas espécies vegetais já validados estão presentes em monografias encontradas, como na Farmacopéia dos Estados Unidos, Farmacopéia Chinesa, monografias da Organização Mundial de Saúde, Farmacopéia Japonesa e Farmacopéia Brasileira (SOUZA-MOREIRA et al., 2010).

É comum o reconhecimento dos benefícios das espécies vegetais de uso medicinal pela população e comunidade científica, porém, a comprovação da segurança, eficácia e qualidade necessários ao registro e comercialização de um produto, além de complexo precisa ser criteriosamente planejado e conhecido desde os primeiros experimentos. Esse talvez seja o principal desafio para o desenvolvimento de produtos fitoterápicos, considerando-se o rico acervo de publicações científicas e o reduzido número de produtos disponíveis no mercado (MANFIO & BRUM JUNIOR, 2017).

Ainda existe resistência dos profissionais prescritores quanto ao emprego de fitoterápicos, o que pode ser explicado pela origem extrativa da maioria das espécies vegetais de uso medicinal comercializadas no Brasil, seja da Mata Atlântica, Amazônia, Caatinga ou Cerrado, levando a problemas de risco de extinção da espécie e sustentabilidade, bem como de fraude e contaminação do material. Com a finalidade de aumentar o rendimento do produto a ser vendido ou até mesmo por falta de cuidados na coleta e falta de tratamento do material coletado, é relativamente frequente a presença de materiais estranhos e de outras espécies contaminantes, troca de uma espécie por outra e presença de fungos e bactérias, principalmente, coliformes fecais. Uma provável causa da falta de confiança desses profissionais nesse tipo de produto também se deve à falta de padronização dos extratos, que podem conter ou não o princípio ativo ou compostos tóxicos em quantidade adequada dependendo do plantio e da época do ano, interferindo na reprodutibilidade dos fitoterápicos. É reconhecido que dados de eficácia e segurança de várias espécies vegetais de uso medicinal ainda não são suficientes para dar suporte ao seu uso, por vezes devido à falta de metodologias adequadas de avaliação dessas espécies. E, em se tratando da composição,

muitas vezes não se tem estabelecido o princípio ativo ou tóxico, sua concentração e seu conhecimento farmacológico e toxicológico (SOUZA-MOREIRA et al., 2010).

Há diversas pesquisas visando o estabelecimento de técnicas apropriadas de produção para obtenção de drogas vegetais de melhor qualidade e rendimento. Estudos conduzidos por: Skrebsky et al. (2008) com *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. (ginseng brasileiro); Reimberg et al. (2009) com *Passiflora incarnata* L. (maracujá); Millani et al. (2010) com *Ageratum conyzoides* L. (erva-de-são-jão); e Gama et al. (2012) com *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (erva-cidreira), por exemplo, tiveram como objetivo aumentar a produção dos principais metabólitos, através da otimização de condições agrícolas durante o ciclo vegetativo.

Entretanto, nem sempre condições ideais para o desenvolvimento do vegetal são as mais adequadas para produção de princípios ativos de interesse, pois muitas espécies produzem substâncias ativas apenas quando submetidas a situações de estresse, como uma reduzida disponibilidade de nutrientes no solo. Além disso, geralmente, o princípio ativo desejado está associado ao metabolismo secundário do vegetal que reflete adaptações a condições adversas ou mecanismos de defesa, como a presença de flavonoides, taninos e óleos essenciais nos vegetais que parece estar relacionada a proteção contra raios ultravioleta, herbívoros e perda hídrica, respectivamente (SIMÕES et al., 2017).

A deficiência hídrica geralmente reduz o crescimento da espécie vegetal, mas aumenta a qualidade do óleo essencial pelo aumento das concentrações de constituintes específicos e característicos do óleo essencial. Mas os sistemas agrícolas orgânicos e de baixo insumo podem reduzir significativamente o crescimento do vegetal, sem necessariamente afetar o rendimento ou a qualidade do óleo essencial. Assim, a sustentabilidade dos sistemas de produção de espécies vegetais de uso medicinal pode ser melhorada pela redução da água e fertilizantes convencionais, sem reduções significativas na produção de compostos medicinais (ANDERSON et al., 2016).

Na região da Amazônia Legal (formada pelos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Maranhão, Mato Grosso e Tocantins) a família Lamiaceae destaca-se como a quarta principal família de vegetais aromáticos da região. As espécies de *Ocimum* pertencem a família Lamiaceae e são utilizadas como tempero na culinária amazônica e possuem diferentes sabores de acordo com os principais componentes dos seus óleos essenciais: timol, *o*-cimeno, 1,8-cineol e  $\beta$ -bisaboleno em *Ocimum basilicum* L. (basilicão); metileugenol, eugenol e *p*-cimeno em *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca);  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -cariofileno e isoeugenol em *Ocimum micranthum* Willd. (alfavaca-de-campo);

(*E*)-metilcinamato e linalol no tipo A e metilchavicol do tipo B. em *Ocimum minimo* L. (manjerição) (MAIA & ANDRADE, 2009).

A alteração dos compostos majoritários nos óleos essenciais, seja por fatores genéticos, técnicos (coleta, estabilização e armazenamento), bióticos ou abióticos, pode, dessa forma, influenciar diretamente na qualidade e, conseqüentemente, nos resultados de tratamentos e de testes biológicos sobre patógenos humanos ou fitopatógenos. A identificação dessas interferências, bem como da relação entre as mesmas, favorece a obtenção de matérias-primas vegetais de melhor qualidade, o que possibilita a obtenção de óleos essenciais com composição química mais constante, acarretando resultados de atividades biológicas mais confiáveis (MORAIS, 2009).

## 2.5 A ESPÉCIE VEGETAL *Ocimum gratissimum* L.

Discorre-se sobre a espécie *Ocimum gratissimum* L., expondo-se os estudos etnofarmacológicos relacionados à espécie, as características morfológicas e anatômicas da espécie, assim como características químicas e farmacológicas da espécie e do seu óleo essencial.

### 2.5.1 Estudos etnofarmacológicos relacionados à *Ocimum gratissimum* L.

A investigação de espécies vegetais de uso medicinal tem como uma de suas estratégias a etnofarmacologia, que tem como objetivo resgatar e avaliar a eficácia das técnicas ditas “tradicionais” sobre a utilização de vegetais para fins terapêuticos, combinando informações adquiridas junto às comunidades específicas que fazem uso da flora medicinal com estudos etnodirigidos, ou seja, com estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos que visam contribuir na descoberta de novos fármacos (BORCARD et al., 2015).

Nesse contexto, *Ocimum gratissimum* é citada em vários estudos etnofarmacológicos tanto no Brasil quanto em outros países, especialmente no seu continente de origem, a África, onde suas folhas destacam-se como a principal parte do vegetal utilizada na medicina tradicional, nas formas de: infuso, decocto ou essência alcoólica no tratamento de diabetes na Nigéria (GBOLADE, 2009); decocto contra o sarampo na Nigéria (SONIBARE et al., 2009); infuso no tratamento de câncer colorretal no Quênia (OCHWANG'I et al., 2014); infuso ou decocto em casos de diarreia crônica e *Herpes simplex* em pacientes com HIV/AIDS na Tanzânia (KISANGAU et al., 2007); decocto no tratamento de infecções

fúngicas e bacterianas em Uganda (KAMATENESI-MUGISHA et al., 2008) e como biopesticidas no Quênia (GAKUYA et al., 2013).

No Brasil, diversas comunidades também utilizam predominantemente as folhas de *Ocimum gratissimum*, como: infuso, decocto, lambedor e suco para tratar catarro no peito, febre, sinusite, dores de ouvido, afecções dos olhos, diarreia, cólicas menstruais, transtornos do sistema nervoso e afecções gênitourinárias pela comunidade rural de Inhamã, situada no município de Abreu e Lima, Pernambuco (RODRIGUES & ANDRADE, 2014); infuso no alívio dos sintomas de gripe e como calmante por moradores de São João da Ponte, Minas Gerais (SILVA et al., 2012); infuso e decocto como diurético e no tratamento de gripes e micose pela comunidade de Santa Rita, Ituiutaba, Minas Gerais (ALVES & POVH, 2013); decocto no alívio de gripes por feirantes em São Luís, Maranhão (CUNHA et al., 2015) e no combate à indisposição pela comunidade do Sisal no município de Catu, Bahia (NETO et al., 2014).

Além das folhas, a parte aérea e a raiz dessa espécie são utilizadas por algumas comunidades nas preparações medicamentosas para alívio de sintomas de determinados males, como a comunidade do Itamaraty, próximo a Anápolis, Goiás, que emprega o infuso da parte aérea como antiespasmódico (SOUSA et al., 2010) e a comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, que utiliza a raiz na forma de banhos no combate a gripes (SILVA et al., 2015).

### **2.5.2 Características morfológicas e anatômicas de *Ocimum gratissimum* L.**

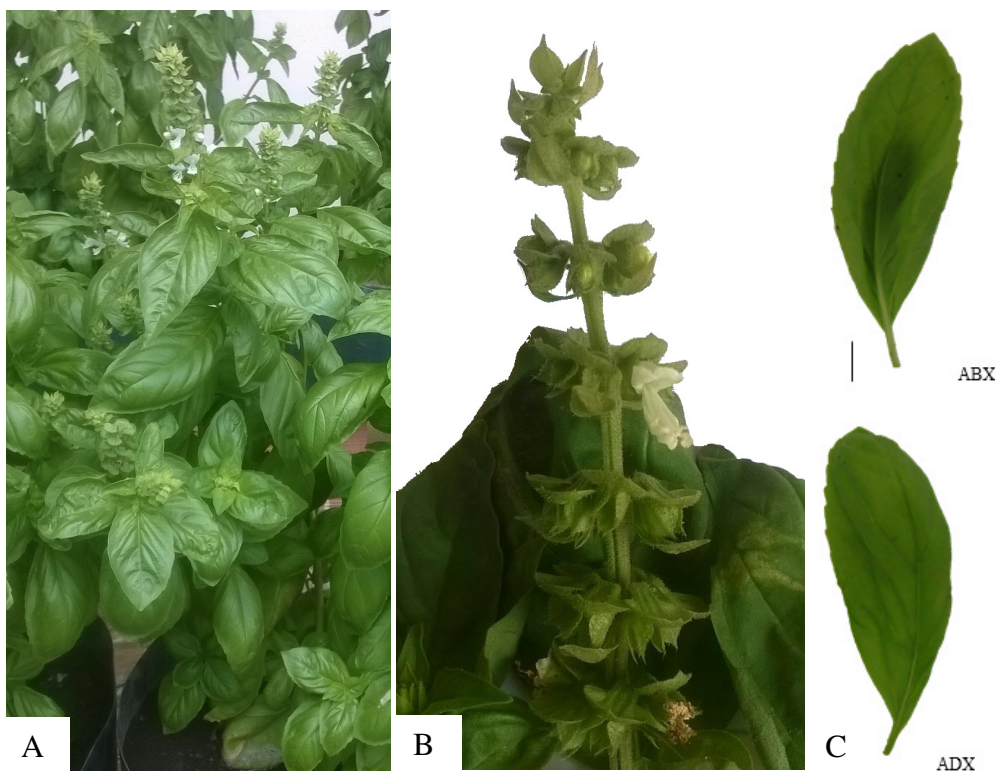
A espécie *Ocimum gratissimum* L. pertence à família Lamiaceae que possui 236 gêneros e acima de 7.000 espécies, muitas de grande utilidade para a humanidade por suas propriedades terapêuticas e aromáticas (BRITANNICA ACADEMIC, 2015).

O número de espécies do gênero *Ocimum* é incerto variando entre 30 a 300 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, da Ásia, África e América do Sul (SHARMA et al., 2011; REWERS & JEDRZEJCZYK, 2016), com ocorrência subespontânea em todo o território brasileiro (LORENZI & MATOS, 2002), incluindo a presença de espécies do gênero nas regiões Pré-Amazônica, Chapadões e Baixada do estado do Maranhão (REGO, 2008).

*Ocimum gratissimum* L. (Figura 15A-C) é nativa da Ásia e África e naturalizada no continente americano (GRIN-GLOBAL, 2016). No Brasil essa espécie é encontrada nos estados das regiões Norte (Acre, Amazonas, Roraima), Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí, Sergipe), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso), Sudeste

(Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina) do Brasil (FLORA DO BRASIL, 2017).

**Figura 15 – A espécie vegetal *Ocimum gratissimum* L. (A) com suas flores (B) e folhas (C) em detalhe.**



Fonte: Própria (2018).

Legenda: ABX = face abaxial; ADX = face adaxial. Barra = 1 cm

As sinonímias científicas dessa espécie são: *Ocimum suave* Willd., *Ocimum viride* Willd. e *Ocimum guineense* Schumach. & Thonn. Existem algumas variedades descritas: *Ocimum gratissimum* var. *hildebrandtii* Briq., *Ocimum gratissimum* var. *gratissimum*, *Ocimum gratissimum* var. *macrophyllum* Briq., *Ocimum gratissimum* var. *mascarenarum* Briq., *Ocimum gratissimum* var. *suave* (Willd.) Hook. F. e *Ocimum gratissimum* var. *subdentatum* Briq. Além de duas subespécies: *Ocimum gratissimum* subsp. *gratissimum* e *Ocimum gratissimum* subsp. *iringense* Ayob. ex A. J. Paton (GRIN-GLOBAL, 2016; TROPICOS, 2017)

Essa espécie é conhecida popularmente no Brasil pelos nomes de: alfavaca, alfavaca-cheirosa, alfavaca-cravo, alfavacão, alfavaca-da-america, alfavaca-de-cheiro, alfavaca-do-mato, alfavaca-do-para, alfavaca-moruna, alfavaca-vaqueiro, alfavaca-silvestre, basilico-grande, canelinha-de-casa, chá-da-índia, clavo-de-madagascar, cravo, cravo-da-terra,

erva-real, favaca, manjeriço, manjeriço-cheiroso, manjeriço-da-folha-miúda, manjeriço-dos-cozimentos, manjeriço-grande e remédio-de-vaqueiro (RIOS & PASTORE JR., 2011).

*Ocimum gratissimum* é uma herbácea aromática, perene, anual e de base lenhosa (SHARMA et al., 2011). Pode atingir até três metros de altura e possui talos eretos, de secção arredondada ou quadrangular, densamente ramificados e glabros na base. As suas folhas (Figura 15A,C) são ovaladas a elípticas ou lanceoladas, pecioladas, membranáceas, inteiras, glabras ou pilosas, de bordos serrados, denteados ou crenados, de ápice agudo a cuspidado e base cuneada (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998; LORENZI & MATOS, 2002; VIANNA, 2009; GUPTA et al., 2011; YVETTE et al., 2014).

As inflorescências (Figura 15B) dessa espécie são do tipo racemo paniculado, podendo ser delgadas ou robustas, ramificadas com ramos laterais não ultrapassando o ramo principal e com verticilos separados e as vezes adjacentes compostos por 6 a 10 flores em cada. Essa espécie possui pedicelos pubescentes, eretos, ligeiramente achatados e levemente curvados, com brácteas pilosas, ovais ou triangulares, persistentes ou não, eretas, inteiras, com ápice agudo ou cuspidado e base cuneada ou cordada (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998; LORENZI & MATOS, 2002; VIANNA, 2009; YVETTE et al., 2014).

As flores de *Ocimum gratissimum* (Figura 15B) são pequenas com cálice horizontal, pontado-glanduloso, glabro ou piloso, com lábio superior arredondado ou acuminado e decurrente até a metade superior e lábio inferior acuminado ou cuspidado com lóbulos médios e laterais curtos. A corola dessa espécie é branca ou branca-esverdeada, com tubo reto, glabro, infundibuliforme, com pelos curtos no interior do tubo, lóbulos do lábio superior arredondados e lábio inferior oval, inteiro ou sinuoso, côncavo com poucos pelos o dorso, apresentando ou não glândulas (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998; YVETTE et al., 2014).

Essa espécie vegetal apresenta flores hermafroditas compostas por um ovário súpero com dois carpelos bicelulados e por quatro estames, declinados em dois pares, insertos no tubo da corola. Os seus frutos consistem de quatro núculas marrons, subesféricas, inclusas no cálice persistente, com pericarpo pontado, sem mucilagem ou com uma capa incolor e delgada (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998; VIANNA, 2009).

Anatomicamente, as folhas dessa espécie possuem epiderme uniestratificada e são anfiestomáticas com estômatos diacíticos (ALVAREZ et al., 2013). Nas faces abaxial e adaxial do limbo foliar há tricomas tectores unisseriados, multicelulares, glandulares peltados e capitados, especialmente sobre as nervuras. A nervura central apresenta feixe vascular colateral e colênquima angular. O mesofilo é dorsiventral, com uma camada de parênquima

paliçádico e três a quatro camadas de parênquima esponjoso (COSTA et al., 2009; GUPTA et al., 2011; FÉLIX-SILVA et al., 2012; SANTOS, 2013). Nas suas folhas também é descrita a presença de cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas (SANTOS, 2013).

*Ocimum gratissimum* pode ser propagada a partir de sementes e por meio de estacas no espaçamento de 0,80 m entre fileiras e 0,40 m entre espécies. Adapta-se bem a qualquer tipo de solo e necessita de aplicação hídrica diária até o período da floração que ocorre em torno de sessenta dias (PEREIRA & MOREIRA, 2011).

### 2.5.3 Características químicas de *Ocimum gratissimum* L.

Nas partes aéreas de *Ocimum gratissimum* L. já foram identificados: ácido cinâmico; ácido rosmarínico; ácido *p*-cumarínico; ácido hidroxibenzoico; ácido ferulico e ácido litospérmico (BORA et al., 2011).

Contudo, as folhas destacam-se como a parte do vegetal mais pesquisada nos estudos químicos dessa espécie vegetal, nas quais já foram relatadas as presenças de: ácido ascórbico (OBOH et al., 2008); ácido sinápico (NANGIA-MAKKER et al., 2007; PEREIRA & MAIA, 2007; VENUPRASAD et al., 2014); apigenina (NANGIA-MAKKER et al., 2007; VENUPRASAD et al., 2014); ácido *L*-caftárico; ácido *L*-chicórico; eugenil- $\beta$ -*D*-glucopiranosídeo; vicenina-2 (CASANOVA et al., 2014); metil-eugenol; apigenina-7,4,'-dimetil-éter; himenoxina; luteolina; nevadensina; salvigenina; xantomicrol; basilimosídeo (VENUPRASAD et al., 2014); quercetina; ácido protocatecuico; epigallocatequina galato; ácido gálico; naringina (CHIU et al., 2012); rutina; catequina; epicatequina; ácido cafeico (CHIU et al., 2012; LI et al., 2012); glicosídeo cardiotônico (AKINMOLADUN et al., 2010; AKPAN et al., 2014) e glicosídeo cianogênico (NWEZE & EZE 2009; OKOLI et al., 2010).

Nos estudos de *screening* fitoquímico, os compostos fenólicos são preponderantes nessa espécie vegetal, com destaque para a classe dos taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas, terpenos, esteroides, polifenóis e triterpenos (Tabela 1).

**Tabela 1 – Classes de metabólitos secundários identificadas em *Ocimum gratissimum* L.**  
(continua)

| Classe de metabólitos | Preparação | Parte usada | Referência                                                                         |
|-----------------------|------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Alcaloide             | EA         | F           | Aziba et al. (1999); Tanko et al. (2008); Gupta et al. (2011); Akpan et al. (2014) |
|                       | EC         | F           | Gupta et al. (2011)                                                                |
|                       | EE         | F           | Nweze & Eze (2009); Koubala et al. (2013); Dasmadhu & Harindran (2014)             |
|                       |            | PA          | Mann (2012)                                                                        |



Tabela 1 – Classes de metabólitos secundários identificadas em *Ocimum gratissimum* L.

(continuação)

| Classe de metabólitos | Preparação | Parte usada | Referência                                                                                                                            |
|-----------------------|------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       | EP         | F           | Gupta et al. (2011)                                                                                                                   |
|                       | EM         | F           | Braga et al. (2007); Akinmoladun et al. (2010); Okoli et al. (2010); Coutinho et al. (2011); Gupta et al. (2011); Kumar et al. (2011) |
|                       |            | I           | Braga et al. (2007)                                                                                                                   |
|                       |            | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                 |
| Antraquinona          | EA         | F           | Akpan et al. (2014)                                                                                                                   |
|                       | EE         | PA          | Mann (2012)                                                                                                                           |
| Aurona                | EH/EM      | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |
| Açúcar redutor        | EE         | F           | Nweze & Eze (2009)                                                                                                                    |
| Aglicona esteroidal   | EE         | F           | Nweze & Eze (2009)                                                                                                                    |
| Carboidrato           | EA         | F           | Offiah & Chikwendu (1999); Gupta et al. (2011); Akpan et al. (2014)                                                                   |
|                       | EE         | F           | Dasmadhu & Harindran (2014)                                                                                                           |
|                       |            | PA          | Mann (2012)                                                                                                                           |
|                       | EM         | F           | Okoli et al. (2010)                                                                                                                   |
| Catequina             | EH/EM      | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |
| Chalcona              | EH/EM      | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |
| Esteróide             | EA         | F           | Offiah & Chikwendu (1999); Tanko et al. (2008)                                                                                        |
|                       | EE         | F           | Dasmadhu & Harindran (2014)                                                                                                           |
|                       |            | PA          | Mann (2012)                                                                                                                           |
|                       | EP         | F           | Okoli et al. (2010)                                                                                                                   |
|                       | EM         | F           | Braga et al. (2007); Akinmoladun et al. (2010); Kumar et al. (2011); Gupta et al. (2015)                                              |
|                       |            | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                 |
| Fenol                 | EA         | F           | Akpan et al. (2014)                                                                                                                   |
|                       | EE         | PA          | Mann (2012)                                                                                                                           |
|                       |            | F           | Koubala et al. (2013)                                                                                                                 |
|                       | EM         | F           | Akinmoladun et al. (2010)                                                                                                             |
|                       |            | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                 |
| Flavona               | EM         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |
| Flavonoide            | EA         | F           | Oboh et al. (2008); Tanko et al. (2008); Gupta et al. (2011); Lee et al. (2013); Gontijo et al. (2014)                                |
|                       | EC         | F           | Gupta et al. (2011)                                                                                                                   |
|                       | EE         | PA          | Bora et al. (2011); Mann (2012)                                                                                                       |
|                       |            | F           | Koubala et al. (2013)                                                                                                                 |
|                       | EP         | F           | Gupta et al. (2011)                                                                                                                   |
|                       | EH         | F           | Oboh et al. (2008)                                                                                                                    |
|                       | EM         | F           | Braga et al. (2007); Akinmoladun et al. (2010); Okoli et al. (2010); Gupta et al. (2011); Kumar et al. (2011); Gupta et al. (2015)    |
|                       |            | I           | Braga et al. (2007)                                                                                                                   |
| Flavonol              | EM         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |
| Flavononol            | EH/EM      | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |
| Leucoantocianidina    | EH/EM      | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                |

**Tabela 1 – Classes de metabólitos secundários identificadas em *Ocimum gratissimum* L.**  
(conclusão)

| Classe de metabólitos | Preparação | Parte usada | Referência                                                                                                                                                 |
|-----------------------|------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Polifenol             | EA         | F           | Oboh et al. (2008); Chiu et al. (2013); Lee et al. (2013); Ze-Long et al. (2013)                                                                           |
|                       |            | PA          | Chiu et al. (2013)                                                                                                                                         |
|                       | EE         | F           | Dasmadhu & Harindran (2014)                                                                                                                                |
|                       |            | PA          | Bora et al. (2011)                                                                                                                                         |
|                       | EH         | F           | Oboh et al. (2008)                                                                                                                                         |
|                       | EM         | F           | Gupta et al. (2015)                                                                                                                                        |
|                       |            | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                                      |
|                       | EM         | F           | Okoli et al. (2010)                                                                                                                                        |
|                       | EA         | F           | Tanko et al. (2008); Akpan et al. (2014); Gontijo et al. (2014)                                                                                            |
|                       |            | EE          | Nweze & Eze (2009); Koubala et al. (2013); Dasmadhu & Harindran (2014)                                                                                     |
| Resina Saponina       |            | PA          | Mann (2012)                                                                                                                                                |
|                       | EM         | F           | Braga et al. (2007); Okoli et al. (2010); Gupta et al. (2011); Kumar et al. (2011)                                                                         |
|                       | EA         | F           | Offiah & Chikwendu (1999); Tanko et al. (2008); Gupta et al. (2011); Akpan et al. (2014); Gontijo et al. (2014)                                            |
|                       |            | EE          | Nweze & Eze (2009); Koubala et al. (2013)                                                                                                                  |
|                       |            | PA          | Mann (2012)                                                                                                                                                |
|                       | EH         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                                     |
|                       | EM         | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                                      |
|                       |            | F           | Braga et al. (2007); Akinmoladun et al. (2010); Okoli et al. (2010); Coutinho et al. (2011); Gupta et al. (2011); Kumar et al. (2011); Gupta et al. (2015) |
|                       | EA         | I           | Braga et al. (2007)                                                                                                                                        |
|                       |            | F           | Offiah & Chikwendu (1999); Tanko et al. (2008); Gupta et al. (2011)                                                                                        |
| Tanino                | EC         | F           | Gupta et al. (2011)                                                                                                                                        |
|                       | EE         | F           | Nweze & Eze (2009); Koubala et al. (2013)                                                                                                                  |
|                       |            | PA          | Bora et al. (2011); Mann (2012)                                                                                                                            |
|                       | EP         | F           | Okoli et al. (2010); Gupta et al. (2011)                                                                                                                   |
|                       | EH         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                                     |
|                       | EM         | F           | Akinmoladun et al. (2010); Coutinho et al. (2011); Gupta et al. (2011); Kumar et al. (2011); Gupta et al. (2015)                                           |
|                       |            | I           | Braga et al. (2007)                                                                                                                                        |
|                       |            | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                                      |
|                       | EA         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                                     |
|                       |            | I           | Braga et al. (2007)                                                                                                                                        |
| Terpeno               | EA         | F           | Offiah & Chikwendu (1999); Tanko et al. (2008); Gupta et al. (2011)                                                                                        |
|                       | EC         | F           | Gupta et al. (2011)                                                                                                                                        |
|                       | EE         | F           | Nweze & Eze (2009); Koubala et al. (2013)                                                                                                                  |
|                       |            | PA          | Bora et al. (2011); Mann (2012)                                                                                                                            |
|                       | EP         | F           | Okoli et al. (2010); Gupta et al. (2011)                                                                                                                   |
|                       | EH         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                                     |
|                       | EM         | F           | Akinmoladun et al. (2010); Coutinho et al. (2011); Gupta et al. (2011); Kumar et al. (2011); Gupta et al. (2015)                                           |
|                       |            | I           | Braga et al. (2007)                                                                                                                                        |
|                       |            | PA          | Djeussi et al. (2013)                                                                                                                                      |
|                       | EA         | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                                     |
| Xantona               | EH/EM      | F           | Coutinho et al. (2011)                                                                                                                                     |

Fonte: Própria (2018).

Legenda: EE = extrato etanólico; EA = extrato aquoso; EM = extrato metanólico; EH = extrato hexânico; EC = extrato clorofórmico; EP = extrato em éter de petróleo; F = folha; I = inflorescência; PA = parte aérea.

### 2.5.4 Características farmacológicas de *Ocimum gratissimum* L.

*Ocimum gratissimum* tem atividade antibacteriana de amplo espectro, destacando-se na literatura a ação bacteriostática das folhas dessa espécie contra as bactérias *Bacillus subtilis* (Gram positiva) e *Escherichia coli* (Gram negativa) (Tabela 2), com efeito potencializador dos efeitos da norfloxacin (COUTINHO et al., 2011).

**Tabela 2 - Micro-organismos sensíveis à espécie vegetal *Ocimum gratissimum* L.**

(continua)

| Micro-organismo                 | Extrato | Parte usada | Ação  | Referência                                                                                      |
|---------------------------------|---------|-------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Gram positivo</b>            |         |             |       |                                                                                                 |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | EM      | F           | BT    | Saha et al. (2013)                                                                              |
|                                 | EA      | F           | BT    | Nwinyi et al. (2009); Ishiwu et al. (2014); Stanley et al. (2014)                               |
|                                 | EM      | F           | BT    | Prasannabalaji et al. (2012)                                                                    |
|                                 | EH      | F           | BT    | Coutinho et al. (2011)                                                                          |
|                                 | EE      | F           | BT    | Nwinyi et al. (2009); Amengialue et al. (2013); Stanley et al. (2014); Omodamiro & Jimoh (2015) |
|                                 |         | PA          | BT    | Mann (2012)                                                                                     |
|                                 | DC      | F           | BT    | Amengialue et al. (2013)                                                                        |
|                                 |         | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                                                                            |
|                                 | HA      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                                                                            |
|                                 | AL      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                                                                            |
| <i>Streptococcus faecalis</i>   | EA      | F           | BT    | Stanley et al. (2014)                                                                           |
|                                 | EE      | F           | BT    | Stanley et al. (2014)                                                                           |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | EE      | F           | BT    | Omodamiro & Jimoh (2015)                                                                        |
| <b>Gram negativo</b>            |         |             |       |                                                                                                 |
| <i>Enterobacter cloacae</i>     | EM      | PA          | BT    | Djeussi et al. (2013)                                                                           |
|                                 | EM      | PA          | BT    | Djeussi et al. (2013)                                                                           |
|                                 | EA      | F           | BT    | Nwinyi et al. (2009); Ishiwu et al. (2014); Stanley et al. (2014)                               |
| <i>Escherichia coli</i>         | EM      | F           | BT    | Saha et al. (2013)                                                                              |
|                                 |         | PA          | BT/BC | Djeussi et al. (2013)                                                                           |
|                                 | EE      | F           | BT    | Nwinyi et al. (2009); Amengialue et al. (2013); Stanley et al. (2014); Omodamiro & Jimoh (2015) |
|                                 | EE      | F           | BT    | Nwinyi et al. (2009); Amengialue et al. (2013); Stanley et al. (2014); Omodamiro & Jimoh (2015) |
|                                 |         | PA          | BT    | Mann (2012)                                                                                     |
|                                 | DC      | F           | BT    | Amengialue et al. (2013)                                                                        |
|                                 |         | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                                                                            |
|                                 | HA      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                                                                            |
|                                 | AL      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                                                                            |
|                                 | EE      | PA          | BT    | Mann (2012)                                                                                     |
| <i>Klebsiella pneumonia</i>     | EM      | PA          | BT    | Djeussi et al. (2013)                                                                           |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>    | EE      | PA          | BT    | Mann (2012)                                                                                     |
| <i>Proteus mirabilis</i>        | EE      | F           | BT    | Omodamiro & Jimoh (2015)                                                                        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | EA      | F           | BT    | Stanley et al. (2014)                                                                           |

**Tabela 2 - Micro-organismos sensíveis à espécie vegetal *Ocimum gratissimum* L.**

(conclusão)

| Micro-organismo                | Extrato | Parte usada | Ação  | Referência                                         |
|--------------------------------|---------|-------------|-------|----------------------------------------------------|
|                                | EE      | F           | BT    | Stanley et al. (2014); Omodamiro & Jimoh (2015)    |
|                                |         | PA          | BT    | Mann (2012)                                        |
| <i>Salmonela ssp.</i>          | EE      | F           | BT    | Amengialue et al. (2013); Omodamiro & Jimoh (2015) |
|                                | DC      | F           | BT    | Amengialue et al. (2013)                           |
| <i>Salmonella enteritidis</i>  | DC      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                               |
|                                | HA      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                               |
|                                | AL      | PA          | BT    | Passos et al. (2009)                               |
| <i>Salmonella paratyphi</i>    | EM      | F           | BT    | Prasannabalaji et al. (2012)                       |
| <i>Salmonella typhi</i>        | EM      | F           | BT    | Prasannabalaji et al. (2012)                       |
|                                | EE      | PA          | BT    | Mann (2012)                                        |
| <i>Shigella ssp.</i>           | EE      | F           | BT    | Amengialue et al. (2013)                           |
|                                | DC      | F           | BT    | Amengialue et al. (2013)                           |
| <i>Vibrio cholerae</i>         | EE      | PA          | BT    | Mann (2012)                                        |
| <i>Providencia stuartii</i>    | EM      | PA          | BT    | Djeussi et al. (2013)                              |
| <i>Vibrio alginolyticus</i>    | EA/ET   | F           | BT/BC | Igbinosa & Idemudia et al. (2016)                  |
| <i>Vibrio fluvialis</i>        |         |             |       |                                                    |
| <i>Vibrio mimicus</i>          |         |             |       |                                                    |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |         |             |       |                                                    |
| <i>Vibrio vulnificus</i>       |         |             |       |                                                    |

Fonte: Própria (2018).

Legenda: AL = alcoolatura; DC = decocto; HA = hidroalcoholatura; EE = extrato etanólico; EA = extrato aquoso; EM = extrato metanólico; EH = extrato hexânico; ET = extrato acetônico; F = folha; PA = parte aérea; BT = bacteriostático; BC = bactericida.

A atividade fungicida dessa espécie também já foi comprovada em pesquisas com extratos aquosos, etanólicos e metanólicos, principalmente de suas folhas e da parte aérea (Tabela 3). Alguns desses fungos são fitopatógenos, mas podem provocar toxicidade e infecções oportunistas em humanos, especialmente em pacientes imunodeprimidos, como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* (DAGENAIS & KELLER, 2009; MANISHA & PANWAR, 2012), *Aspergillus tamaritii* (AL-FAKIH, 2014), *Bipolaris sorokiniana* (SHAFII et al., 2006), *Botryosphaeria rhodina* (POUNDER et al., 2007), *Cladosporium sphaerospermum* (YANO et al., 2003; MANISHA & PANWAR, 2012), *Colletotrichum gloeosporioides* (GUARRO et al., 1998; OGAWA et al., 2014; CHO et al., 2015), *Fusarium compactum* (PINCELLI et al., 2008; MIRHENDI et al., 2010), *Fusarium oxysporum* (MANISHA & PANWAR, 2012), *Fusarium proliferatum*, *Penicillium citrinum* (AL-FAKIH, 2014), *Penicillium oxalicum* (CHOWDHARY et al., 2014), *Rhizopus nigricans* (MANISHA & PANWAR, 2012) e *Rhizopus oryzae* (RIBES et al., 2000).

**Tabela 3 - Fungos sensíveis à espécie vegetal *Ocimum gratissimum* L.**

| Fungo                                   | Preparação | Parte usada | Referência                                      |
|-----------------------------------------|------------|-------------|-------------------------------------------------|
| <i>Aspergillus flavus</i> *             | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Aspergillus niger</i> *              | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Aspergillus tamarii</i> *            | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Bipolaris sorokiniana</i> *          | EA         | F           | Rodrigues, É. A. et al. (2006)                  |
| <i>Candida albicans</i>                 | EM         | F e FL      | Braga et al. (2007)                             |
| <i>Cladosporium sphaerospermum</i> *    | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> * | EA         | F           | Silva et al. (2009); Orji et al. (2015)         |
|                                         | EE         | F           | Andrade-Pinto et al. (2010); Orji et al. (2015) |
|                                         | EM         | F           | Orji et al. (2015)                              |
| <i>Cryptococcus neoformans</i>          | EM         | F e FL      | Braga et al. (2007)                             |
| <i>Epidermophyton ssp.</i>              | EE         | F           | Mbakwem-Aniebo et al. (2012)                    |
| <i>Fusarium compactum</i> *             | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Fusarium oxysporum</i> *             | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Fusarium proliferatum</i> *          | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Malassezia furfur</i>                | EE         | F           | Mbakwem-Aniebo et al. (2012)                    |
| <i>Microsporum ssp.</i>                 | EE         | F           | Mbakwem-Aniebo et al. (2012)                    |
| <i>Penicillium citrinum</i> *           | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Penicillium oxalicum</i> *           | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Rhizopus nigricans</i> *             | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Rhizopus oryzae</i> *                | EA         | F           | Bankole & Somorin (2010)                        |
| <i>Trichophyton ssp.</i>                | EE         | F           | Mbakwem-Aniebo et al. (2012)                    |

\* Fitopatógenos oportunistas em humanos.

Fonte: Própria (2018)

Legenda: EE = extrato etanólico; EA = extrato aquoso; EM = extrato metanólico; F = folha; FL = flor.

As folhas dessa espécie em extrato etanólico apresentam ação repelente e eficácia adulticida contra *Anopheles gambiae* (AFOLABI et al., 2018) e, em estudos com extratos hexânico, metanólico e em acetato de etila, demonstraram ação moderada contra insetos vetores da filariose, *Culex gelidus* e *Culex quinquefasciatus*, tanto na fase de larva quanto adulta desses insetos (KAMARAJ & RAHUMAN, 2010).

Estudos indicam ainda que *Ocimum gratissimum* possui atividade contra protozoários causadores de algumas das doenças endêmicas que mais preocupam a saúde pública do Brasil: leishmaniose e malária. A ação contra os protozoários *Leishmania chagasi*, causador da leishmaniose visceral (calazar) e *Leishmania amazonenses*, agente etiológico da leishmaniose cutânea foi demonstrada pelo extrato metanólico das folhas de *Ocimum gratissimum* (BRAGA et al., 2007); enquanto que a atividade antiparasitária contra *Plasmodium falciparum*, causador da malária, foi exibida pelas folhas dessa espécie vegetal em extratos hexânico, acetato de etila (ABIODUN et al., 2011), metanólico (ABIODUN et al., 2011; KAMARAJ et al., 2012) e etanólico (TABA et al., 2012).

Além disso, *Ocimum gratissimum* foi eficiente contra subespécies do protozoário causador da doença do sono: *Trypanosoma brucei rhodesiense*, que se mostrou sensível às

folhas em extratos hexânico, metanólico e em acetato de etila (ABIODUN et al., 2012); e *Trypanosoma brucei brucei*, sensível às folhas desse vegetal em extrato aquoso (ADAMU et al., 2009) e em extrato etanólico (KPADONOU-KPOVIESSI et al., 2014).

*Ocimum gratissimum* possui uma forte atividade antioxidante, o que foi exibido nas pesquisas com extrato aquoso do caule desse vegetal (CHIU et al., 2013) e com extratos etanólico (PEREIRA & MAIA, 2007; VENUPRASAD et al., 2014), aquoso (OBOH et al., 2008; CHIU et al., 2013), metanólico (AKINMOLADUN et al., 2010), clorofórmico (AKINRINDE et al., 2016) e hexânico (OBOH et al., 2008) das suas folhas.

A ação antioxidante desse vegetal é atribuída a polifenóis (OBOH et al., 2008; AKINMOLADUN et al., 2010; CHIU et al., 2013; VENUPRASAD et al., 2014; HZOUNDA et al., 2016), eugenol (PEREIRA & MAIA, 2007), taninos (GONTIJO et al., 2014), flavonoides (OBOH et al., 2008; AKINMOLADUN et al., 2010; GONTIJO et al., 2014; VENUPRASAD et al., 2014), carotenoides, vitamina C (OBOH et al., 2008), esteroides, terpenos e alcaloides (AKINMOLADUN et al., 2010).

Inclusive, a atividade hepatoprotetora dessa espécie vegetal é atribuída à propriedade antioxidante dos compostos fenólicos desse vegetal, como demonstrado por estudos com extrato aquoso das folhas (CHIU et al., 2012; ADETUTU & OLORUNNISOLA, 2013) e com extratos metanólicos das folhas (SALEMCITY et al., 2014) e da parte aérea (GEORGE & CHATURVEDI, 2009; GEORGE et al., 2011). Gupta et al. (2015) também citam o efeito hepatoprotetor das folhas de *Ocimum gratissimum* em extrato metanólico e o atribuem à propriedade antioxidante dos flavonoides, com indicação de uma possível aplicação de seus extratos foliares na melhoria da lesão hepática. O extrato aquoso das folhas dessa espécie vegetal tem potencial de uso para a prevenção e tratamento de hepatopatias, como fibrose hepática (CHIU et al., 2014), e como adjuvante terapêutico na toxicidade da cisplatina, um agente antineoplásico citotóxico (ARHOGHRO et al., 2012).

A atividade antioxidante é considerada a responsável por outras propriedades exibidas por *Ocimum gratissimum*, como: protetor de lesões cerebrais, como isquemia cerebral, pelo extrato etanólico da sua parte aérea (BORA et al., 2011); redutor da pressão sanguínea em estudos com extrato clorofórmico (AKINRINDE et al., 2016); e antimutagênica e antígenotóxica (GONTIJO et al., 2014) com extrato aquoso das folhas dessa espécie. A ação curativa de colite exibida por esse vegetal também é atribuída a propriedade antioxidante associada a anti-inflamatória (ALABI et al., 2018).

Além dessas propriedades, essa espécie vegetal demonstra potencial para aplicabilidade nos tratamentos de diabetes em razão do efeito hipoglicêmico de suas folhas,

tanto em extratos aquosos (OGUANOBI et al., 2012; AKPAN et al., 2014) quanto etanólicos (OGUANOBI et al., 2012) e, segundo Casanova et al. (2014, 2017) quatro derivados de ácido cinâmico (ácido cafeárico, cafeico, chicórico e rosmarínico) e o flavonoide C-glucosilado (vicenina-2) são os responsáveis por essa ação hipoglicêmica pela promoção do aumento da secreção de insulina. Inclusive, essa planta é capaz de reverter a anemia secundária ao *Diabetes mellitus* (SHITTU et al., 2016) também pelo extrato aquoso das folhas desse vegetal.

Em relação a anemias, recentemente, o ácido ursólico, triterpeno isolado das folhas de *Ocimum gratissimum*, demonstrou atividade também contra a falcização de hemácias, um dos sintomas característicos da anemia falciforme (TSHILANDA et al., 2015).

O extrato etanólico das folhas dessa espécie vegetal provoca redução nas alterações bioquímicas, radiológicas e histopatológicas provocadas por artrite induzida por colágeno (MADHU & HARINDRAN, 2014). Há relatos também das atividades anti-inflamatória do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* (TANKO et al., 2008; ZE-LONG et al., 2013) e antinociceptiva com ação benéfica contra dores inflamatórias, neurogênicas e neuropáticas de suas folhas em extrato aquoso (AZIBA et al., 1999; TANKO et al., 2008), extrato metanólico (KUMAR et al., 2011).

Pesquisas apontam o extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* ainda como um agente antitumoral, contra: adenocarcinoma pulmonar (CHEN et al., 2011); tumor mamário (NANGIA-MAKKER et al., 2007, 2013); câncer de próstata (EKUNWE et al., 2013); osteosarcoma (LIN et al., 2014).

As pesquisas indicam diversas outras propriedades farmacológicas para *Ocimum gratissimum*: ansiolítica, em ensaios com as folhas em extrato metanólico (OKOLI et al., 2010) e extrato etanólico (VENUPRASAD et al., 2014); antiemética, em estudos com as folhas em extrato metanólico (IHEKWEREME et al., 2016); antiúlcera, em pesquisas da parte aérea em extrato etanólico (ONASANWO et al., 2012); antiurolítica, em ensaios com extrato etanólico da parte aérea dessa espécie (AGARWAL & VARMA, 2014); anticonvulsivante de suas folhas mediante estudos em extratos aquoso (AZIBA et al., 1999) e em éter de petróleo (OKOLI et al., 2010); antidiarreica (OFFIAH & CHIKWENDU, 1999) e protetor de tecidos cardíacos contra cirrose por hipertrofia cardíaca (LI et al., 2012) e de cardiomiócitos do estresse oxidativo (LEE et al., 2013) em análises das folhas em extrato aquoso.

*Ocimum gratissimum* pode ser empregada também em tratamentos fitopatológicos e veterinários. Pragas que atacam outros vegetais são combatidos igualmente por essa espécie, como o inseto *Callosobruchus maculatus* (caruncho-do-feijão) que demonstrou ser suscetível ao extrato etanólico (MIAFO et al., 2014) das folhas desse vegetal. De modo semelhante, o

hidrolato e o extrato aquoso (HOCAYEN & PIMENTA, 2013) das folhas desse vegetal demonstraram seu potencial carrapacticida em bovinos, especificamente no combate de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Quanto à toxicidade, pesquisas indicam que o extrato aquoso das folhas desse vegetal induz alterações neurocomportamentais com interferência no sistema colinérgico, como diminuição da frequência de locomoção (IBIRONKE & MODUPE, 2015), e hematológicas com discrasias sanguíneas de eritrócitos, plaquetas e leucócitos (OFEM et al., 2012). O consumo prolongado das suas folhas *in natura* provoca redução significativa de parâmetros hematológicos (como a hemoglobina) e bioquímicos, como proteína sérica, colesterol e peroxidação lipídica (IWEALA & OBIDOA, 2010). Em relação a essa ação de *Ocimum gratissimum* sobre o colesterol, é importante frisar que apesar do efeito cardiovascular benéfico gerado pela diminuição do nível sérico dessa substância no organismo, há indícios de que a redução intensa dos níveis séricos de colesterol aumenta a incidência de quadros de ansiedade pela diminuição de serotonina cerebral (THOMAS et al., 2014), o que justifica a necessidade de se evitar ou monitorar o consumo prolongado de alfavaca (especialmente *in natura*).

Ademais, estudos demonstram que essa espécie vegetal provoca alterações na fertilidade masculina e feminina. Houve diminuição da fertilidade masculina em testes feitos com extrato aquoso de folhas (OBIANIME et al., 2010) e da fertilidade feminina em ensaios realizados com extrato acetônico de caule (SRIPRIYA et al., 2011) e extrato metanólico de folhas (EGBA et al., 2015) de *Ocimum gratissimum*.

Outros estudos sobre a toxicidade dessa espécie vegetal relatam ausência de genotoxicidade, espermatotoxicidade e citotoxicidade de suas folhas (AKINBORO & BAKARE, 2013; HERNÁNDEZ et al., 2006). Contudo, Akinboro & Bakare (2013) sugerem uma possível atividade mutagênica do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* e Hernández et al. (2006) citam efeitos tóxicos agudos e significativos de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade na dose 3 g/kg de extrato fluido das folhas dessa espécie.

Apesar de sua comprovada atividade hipoglicêmica (OGUANOBI et al., 2012; AKPAN et al., 2014; CASANOVA et al., 2014, 2017), Olabanji et al. (2014) sugerem, para prevenir complicações, que pacientes diabéticos evitem o uso dessa espécie em razão da presença de arsênio (As), cromo (Cr) e cobre (Cu) nas suas folhas acima da recomendação diária de ingestão.



### 2.5.5 O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.

A seguir serão relatadas a composição química e as atividades farmacológicas do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.

#### 2.5.5.1 Características químicas do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.

Os componentes dos óleos essenciais são os compostos mais estudados quimicamente em *Ocimum gratissimum*, onde os monoterpenos sobressaem-se como a classe química mais abundante, seguidos pelos sesquiterpenos (Tabela 4).

**Tabela 4 - Componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(continua)

| Componente                           | Parte usada | Referência                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fenilpropanoide</b>               |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| eugenol                              | F           | Vasconcelos Silva et al. (1999); Vieira et al. (2001); Lahlou et al. (2004); Lemos et al. (2005); Faria et al. (2006); Freire et al. (2006); Ueda-Nakamura et al. (2006); Pereira & Maia (2007); Matasyoh et al. (2007, 2008); Oliveira et al. (2009); Borges, A. M et al. (2012); Saha et al. (2013); Boijink et al. (2016); Oliveira et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Smitha & Tripathy (2016); Chimnoi et al. (2018) |
|                                      | I           | Silva et al. (2010); Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|                                      | PA          | Faria et al. (2006); Joshi (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| metil-eugenol                        | F           | Matasyoh et al. (2007, 2008)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| metil-iso-eugenol                    | F/I         | Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Monoterpeno</b>                   |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 1.3.8- <i>p</i> -metatrieno          | F           | Nguemtchouin et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 1.8-cineol                           | F           | Vasconcelos Silva et al. (1999); Vieira et al. (2001); Ngassoum et al. (2003); Lahlou et al. (2004); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Tatsadjieu et al. (2008); Oliveira et al. (2009); Boijink et al. (2016); Oliveira et al. (2016); Ribeiro et al. (2016)                                                                                                                                              |
|                                      | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 3,9-epoxi- <i>p</i> -menta-1.8-dieno | F           | Ngassoum et al. (2003); Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 4-terpineol                          | F           | Vasconcelos Silva et al. (1999); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| $\alpha$ -felandreno                 | F           | Ngassoum et al. (2003); Tchoumboungang et al. (2005); Nguemtchouin et al. (2013); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                      | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| $\alpha$ -pineno                     | F           | Vasconcelos Silva et al. (1999); Lahlou et al. (2004); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Saha et al. (2013); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                            |
|                                      | PA          | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| $\alpha$ -terpineno                  | F           | Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

**Tabela 4 – Componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(continuação)

| Componente                     | Parte usada  | Referência                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\alpha$ -terpineol            | PA<br>F      | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Vasconcelos Silva et al. (1999); Ngassoum et al. (2003); Lahlou et al. (2004); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                              |
| $\alpha$ -terpinoleno          | PA           | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| $\alpha$ -tujeno               | F<br>F       | Ngassoum et al. (2003)<br>Tchoumboungang et al. (2005); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Smitha & Tripathy (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                             |
| $\beta$ -3-careno              | I            | Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| $\beta$ -felandreno            | PA<br>F      | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                                                                                                                                         |
| $\beta$ -ocimeno               | F<br>PA<br>F | Tchoumboungang et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008)<br>Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Nguemtchouin et al. (2013); Oliveira et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                            |
| $\beta$ -pineno                | PA<br>F      | Tchoumboungang et al. (2005); Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Lahlou et al. (2004); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Matasyoh et al. (2007, 2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Saha et al. (2013); Boijink et al. (2016); Oliveira et al. (2016); Ribeiro et al. (2016) |
| $\beta$ -terpineno             | PA           | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| $\beta$ -terpineol             | F            | Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| $\beta$ -tujono                | F            | Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| $\delta$ -3-careno             | F            | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| $\delta$ -terpineol            | PA           | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| $\gamma$ -terpineno            | F            | Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016)                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| $\gamma$ -terpineol            | F            | Vieira et al. (2001); Ngassoum et al. (2003); Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Hounda et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                                                        |
| $\gamma$ -terpinoleno          | PA<br>F      | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Vieira et al. (2001)                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <i>p</i> -cimeneno             | F<br>PA      | Bonou et al. (2016)<br>Joshi (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <i>p</i> -cimeno               | F<br>PA      | Lemos et al. (2005)<br>Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <i>p</i> -cimen-7-ol           | PA           | Vieira et al. (2001); Ngassoum et al. (2003); Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Bonou et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                               |
| <i>p</i> -cimen-8-ol           | PA           | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <i>p</i> -mentano-1.3.8-trieno | F            | Nguemtchouin et al. (2013); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| borneol                        | PA           | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                                | F            | Tamgue et al. (2011); Lima et al., 2018                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                | PA           | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

**Tabela 4 – Componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(continuação)

| <b>Componente</b>         | <b>Parte usada</b> | <b>Referência</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| canfeno                   | F                  | Vieira et al. (2001); Tchoumboungang et al. (2005); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                 |
| cânfora                   | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                           | F                  | Tchoumboungang et al. (2005); Matasyoh et al. (2007, 2008); Tamgue et al. (2011); Saha et al. (2013)                                                                                                                                                                                                     |
| carvacrol                 | F                  | Lemos et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                      |
|                           | PA                 | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                           |
| cineol                    | F                  | Saha et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| cis-4-caranono            | P                  | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| cis-ocimeno               | F                  | Lahlou et al. (2004); Matasyoh et al. (2007, 2008); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                |
| citral                    | F                  | Saha et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| citral A                  | F                  | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| citral B (neral)          | F                  | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| citronelal                | F                  | Tchoumboungang et al. (2005); Saha et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                           | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| dehidro- <i>p</i> -cimeno | F                  | Ngassoum et al. (2003); Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                                                                                                                                         |
| estragol (metil-chavicol) | F                  | Vieira et al. (2001)                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|                           | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| geraniol                  | F                  | Vieira et al. (2001); Saha et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| hidrato cis-sabineno      | F                  | Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                           | PA                 | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                           |
| hidrato trans-sabineno    | F                  | Tamgue et al. (2011); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                           | PA                 | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                           |
| limoneno                  | F                  | Ngassoum et al. (2003); Tchoumboungang et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013)                                                                                                                                                                         |
|                           | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| linalol                   | F                  | Vasconcelos Silva et al. (1999); Lahlou et al. (2004); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Tatsadjieu et al. (2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Saha et al. (2013); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Sumitha & Thoppil (2016); Chimnoi et al. (2018) |
|                           | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| metil-ester-timol         | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| metil-éter-timol          | F                  | Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| timol                     | F                  | Lima et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| $\beta$ -mirceno          | F                  | Vasconcelos Silva et al. (1999); Lahlou et al. (2004); Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Tatsadjieu et al. (2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016); Bonou et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Chimnoi et al., 2018      |
|                           | PA                 | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                           |
| neo-alo-ocimeno           | F                  | Nguemtchouin et al. (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| nerol                     | F                  | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| sabineno                  | F                  | Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Tatsadjieu et al. (2008); Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Lima et al.                                                                                                                                      |

**Tabela 4 - Componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(continuação)

| Componente                                                                                        | Parte usada | Referência                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                   |             | (2018)                                                                                                                                                        |
| terpinen-4-ol                                                                                     | PA<br>F     | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Tchoumboungang et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008);<br>Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013) |
| terpin-4-ol                                                                                       | F           | Vieira et al. (2001); Lemos et al. (2005)                                                                                                                     |
| terpinoleno                                                                                       | PA<br>F     | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)<br>Vieira et al. (2001); Tchoumboungang et al. (2005);<br>Tatsadjieu et al. (2008); Lima et al. (2018)         |
| trans-4-caranono                                                                                  | PA          | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                |
| trans-ocimeno                                                                                     | PA<br>F     | Joshi (2013)<br>Matasyoh et al. (2007, 2008); Boijink et al. (2016);<br>Ribeiro et al. (2016); Chimnoi et al. (2018)                                          |
| trans- <i>p</i> -ocimeno                                                                          | F           | Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                      |
| trans-tujono                                                                                      | F           | Nguemtchouin et al. (2013)                                                                                                                                    |
| umbelulone                                                                                        | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                              |
| <b>Diterpeno</b>                                                                                  | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                              |
| fitol                                                                                             | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                      |
| <b>Triterpeno</b>                                                                                 |             |                                                                                                                                                               |
| 6.10.14.18.22-tetracosapentaeno-2-ol.3-bromo-2.6.10.15.19.23-hexametil-(all-e)-megastigmatrienono | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                      |
| <b>Sesquiterpeno</b>                                                                              |             |                                                                                                                                                               |
| 1.2-epóxidohumuleno                                                                               | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                              |
| (1à.4aà.8aà)-1.2.3.4.4a.5.6.8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-naftaleno             | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                      |
| 6-isopropenil-4.8a-dimetil-1.2.3.5.6.7.8.aoctahidronaftalen0-2.3-diol                             |             |                                                                                                                                                               |
| 7-epi- $\alpha$ -selineno                                                                         | F           | Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016);<br>Ribeiro et al. (2016)                                                                                   |
| $\alpha$ -amorfenol                                                                               | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                              |
| (Z)- $\alpha$ -bisaboleno                                                                         | F           | Tamgue et al. (2011)                                                                                                                                          |
| $\alpha$ -bourboneno                                                                              | F           | Lemos et al. (2005)                                                                                                                                           |
| $\alpha$ -cadinol                                                                                 | F           | Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016)                                                                                                                  |
| $\alpha$ -cariofeleno                                                                             | F           | Tchoumboungang et al. (2005); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                           |
| $\alpha$ -copaeno                                                                                 | F           | Tamgue et al. (2011); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                   |
|                                                                                                   |             | Vieira et al. (2001); Lemos et al. (2005);<br>Tchoumboungang et al. (2005); Tamgue et al. (2011);<br>Smitha & Tripathy (2016); Chimnoi et al. (2018)          |
|                                                                                                   | I           | Silva et al. (2010); Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                 |
| $\alpha$ -cubebeno                                                                                | PA          | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                |
| $\alpha$ -farnesol                                                                                | F           | Nguemtchouin et al. (2013); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                             |
| $\alpha$ -farneseno                                                                               | F           | Matasyoh et al. (2007, 2008)                                                                                                                                  |
|                                                                                                   | F           | Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                         |

**Tabela 4 - Componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(continuação)

| <b>Componente</b>           | <b>Parte usada</b> | <b>Referência</b>                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\alpha$ -humuleno          | F                  | Lahlou et al. (2004); Lemos et al. (2005); Freire et al. (2006); Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                                       |
|                             | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                    |
| $\alpha$ -muuroleno         | F                  | Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                               |
| $\alpha$ -selineno          | F                  | Lahlou et al. (2004); Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016); Oliveira et al. (2016); Ribeiro et al. (2016)                                                               |
|                             | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                    |
| $\alpha$ -trans-bergamoteno | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                             |
| $\alpha$ -cis-bergamoteno   | F                  | Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                               |
| $\beta$ -bisaboleno         | F                  | Matasyoh et al. (2007, 2008); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                 |
| $\beta$ -bourboneno         | F                  | Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                                               |
| $\beta$ -cariofileno        | F                  | Vasconcelos Silva et al. (1999); Ngassoum et al. (2003); Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016); Oliveira et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Chimnoi et al. (2018) |
|                             | I                  | Silva et al. (2010)                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                             | PA                 | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                      |
| $\beta$ -copaeno            | F                  | Tatsadjieu et al. (2008); Nguemtchouin et al. (2013); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                         |
|                             | PA                 | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| $\beta$ -cubebeno           | F                  | Tatsadjieu et al. (2008); Nguemtchouin et al. (2013); Smitha & Tripathy (2016); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                               |
|                             | PA                 | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| $\beta$ -elemeno            | F                  | Vasconcelos Silva et al. (1999); Lahlou et al. (2004); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Nguemtchouin et al. (2013); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Chimnoi et al. (2018); Lima et al. (2018)                                                      |
|                             | I                  | Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                             | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                    |
| $\beta$ -farneseno          | F                  | Lemos et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                |
| $\beta$ -selineno           | F                  | Lahlou et al. (2004); Freire et al. (2006); Tamgue et al. (2011); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Lima et al. (2018)                                                                                                                                                  |
|                             | I                  | Oliveira et al. (2016)                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                             | PA                 | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                                                                                                    |
| $\gamma$ -cadineno          | F                  | Tchoumboungang et al. (2005); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                                                                                 |
| $\gamma$ -cariofileno       | F                  | Vieira et al. (2001)                                                                                                                                                                                                                                                                |
| $\gamma$ -muuroleno         | F                  | Vieira et al. (2001); Tchoumboungang et al. (2005); Boijink et al. (2016); Ribeiro et al. (2016); Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                             |
|                             | I                  | Silva et al. (2010)                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                             | PA                 | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| $\delta$ -cadineno          | F                  | Tchoumboungang et al. (2005); Tamgue et al. (2011); Nguemtchouin et al. (2013)                                                                                                                                                                                                      |
|                             | I                  | Silva et al. (2010)                                                                                                                                                                                                                                                                 |

**Tabela 4 - Componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(conclusão)

| Componente                   | Parte usada | Referência                                                                                                                                                                                          |
|------------------------------|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                              | PA          | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                        |
| $\delta$ -elemeno            | F           | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                        |
| $\lambda$ -selineno          | F           | Vieira et al. (2001)                                                                                                                                                                                |
|                              | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                    |
| alo-aromadendreno            | F           | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                        |
| ar-turmerono                 | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                                                            |
| bergamoteno                  | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                                                            |
| bisaboleno                   | F           | Tatsadjieu et al. (2008)                                                                                                                                                                            |
| cariofileno                  | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                                                            |
| cis- $\beta$ -guaieno        | F           | Lemos et al. (2005)                                                                                                                                                                                 |
| cis-muurola-4-(14).5-dieno   | PA          | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                        |
| copaeno                      | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                                                            |
| curlono                      | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                                                            |
| epi-cubebol                  | PA          | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                        |
| espatulenol                  | F           | Vieira et al. (2001); Lemos et al. (2005); Lima et al. (2018)                                                                                                                                       |
| germacreno A                 | F           | Freire et al. (2006)                                                                                                                                                                                |
| germacreno D                 | F           | Lahlou et al. (2004); Lemos et al. (2005); Tchoumboungang et al. (2005); Freire et al. (2006); Matasyoh et al. (2007, 2008); Nguemtchouin et al. (2013); Oliveira et al. (2016); Lima et al. (2018) |
|                              | PA          | Joshi (2013); Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                      |
| germacrene D-4-ol            | F           | Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                                                                               |
| isolongifoleno               | F           | Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                                                                            |
|                              | I           | Smitha & Tripathy (2016)                                                                                                                                                                            |
| nerolidol                    | F           | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                        |
| óxido-cariofileno            | F           | Lemos et al. (2005); Tatsadjieu et al. (2008); Nguemtchouin et al. (2013); Sumitha & Thoppil (2016); Chimnoi et al. (2018); Lima et al. (2018)                                                      |
|                              | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al. (2014)                                                                                                                                                                    |
| T-cadinol                    | F           | Tchoumboungang et al. (2005)                                                                                                                                                                        |
| trans-cariofileno            | F           | Lahlou et al. (2004); Freire et al. (2006); Matasyoh et al. (2007, 2008); Lima et al. (2018)                                                                                                        |
| turmerono                    | F           | Sumitha & Thoppil (2016)                                                                                                                                                                            |
| trans-muurola-4-(14).5-dieno | PA          | Joshi (2013)                                                                                                                                                                                        |

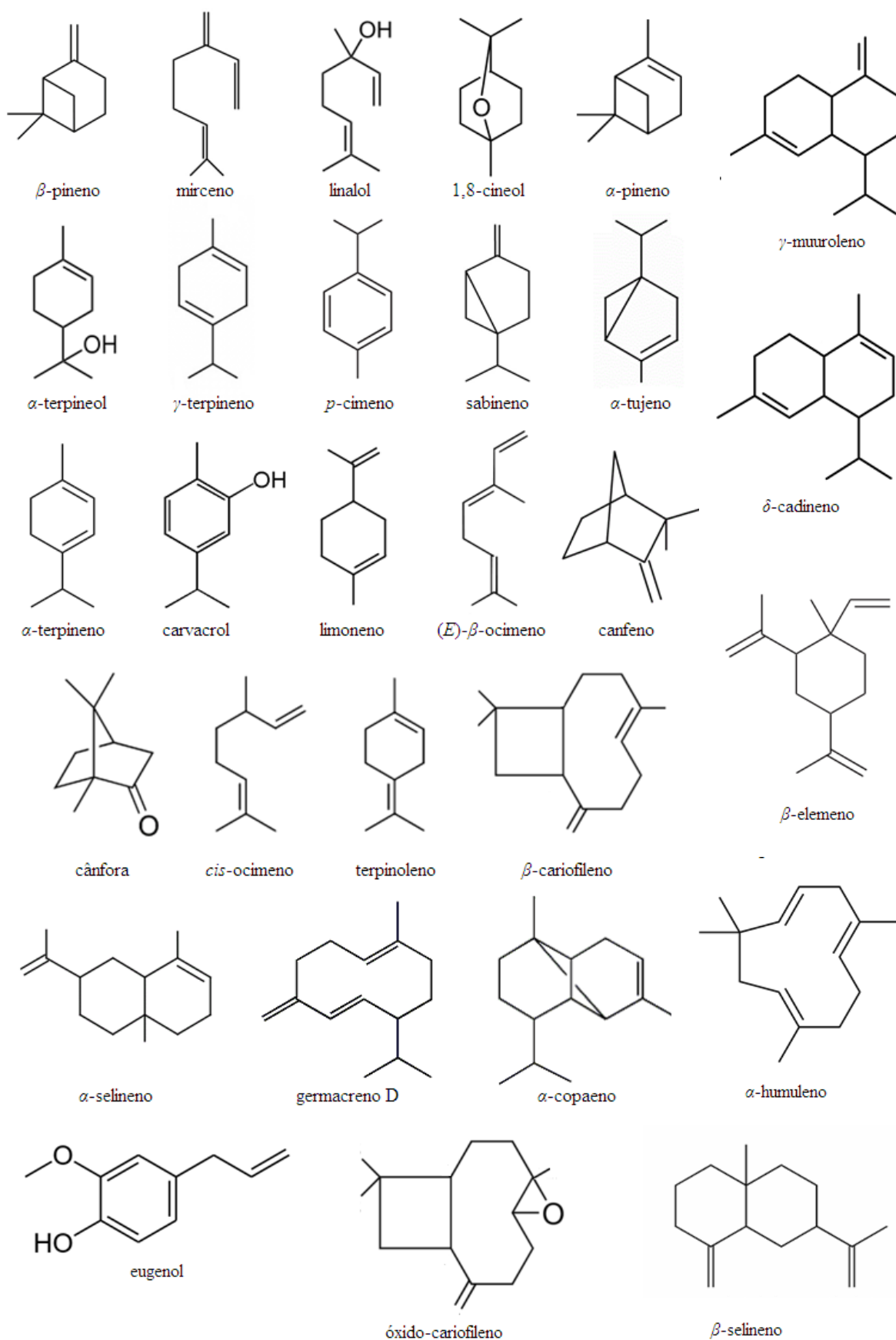
Fonte: Própria (2018)

Legenda: F = folha; I = inflorescência; PA = parte aérea

Em geral, os terpenoides são predominantes nos óleos essenciais das espécies vegetais, mas muitos desses óleos são constituídos também por fenilpropanoides (SANGWAN et al., 2001), como no caso de *Ocimum gratissimum*, que apresenta, inclusive, o fenilpropanoide eugenol como um dos compostos mais identificados no seu óleo essencial (Tabela 4).

As estruturas químicas dos componentes mais isolados e identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. estão dispostas na Figura 16 a seguir.

**Figura 16 - Estrutura dos principais componentes químicos identificados na espécie *Ocimum gratissimum* L.**



Fonte: Própria (2018).

É importante frisar que terpenos e fenilpropanoides possuem rotas biossintéticas distintas: os terpenos são originados pelas vias do ácido mevalônico e do metileritritol-fosfato (DUDAREVA et al., 2013), enquanto que os fenilpropanoides são formados pela via do ácido chiquímico (TAN & NISHIDA, 2012).

A composição química do óleo essencial das folhas e da inflorescência de *Ocimum gratissimum* apresenta grandes alterações dependendo da localização geográfica, fase de crescimento e época de coleta (SMITHA & TRIPATHY, 2016).

Os componentes majoritários do óleo essencial das folhas dessa espécie podem variar de zero a 98,02% devido apenas a diferenças na hora de coleta (VASCONCELOS SILVA et al., 1999), sendo recomendada a colheita das suas folhas pela manhã ou entre 11 e 13 horas, período em que o teor de eugenol é mais elevado (PEREIRA & MOREIRA, 2011).

Os óleos essenciais são tão importantes em *Ocimum gratissimum* que até os seus componentes majoritários são utilizados na identificação de quimiotipos da espécie. Verma et al. (2013), por exemplo, citam um quimiotipo caracterizado pela presença de eugenol, (*Z*)- $\beta$ -ocimeno, germacreno D e (*E*)-cariofileno, como constituintes majoritários do óleo essencial da parte aérea dessa espécie. No entanto, existem até três quimiotipos para *Ocimum gratissimum*, estabelecidos em função do principal componente majoritário do óleo essencial das suas folhas: eugenol, geraniol e timol (VIEIRA et al., 2001; VIANNA, 2009; CAROVIÉ-STANKO et al., 2011). Outrossim, estudos de variabilidade química do óleo essencial em relação aos fatores ambientais podem fornecer informações sobre o que determina seu polimorfismo químico (ZOUARI et al., 2012).

Outros compostos identificados no óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum*: vanilina (JOSHI, 2013; SAHA et al., 2013); ácido palmítico (VENUPRASAD et al., 2014); *p*-menta-1,3,8-trieno (LIMA et al., 2018); octan-3-one (KPADONOU-KPOVIESSI et al., 2014; CHIMNOI et al., 2018); 1-octen-3-ol; 3-octanol;  $\alpha$ -3-hexenil acetato; *allo*-ocimeno; 2,6-dimetil-1,3,5,7-octatetraene, *E,E*; *cis*-cadina-1(6),4-dieno; *trans*-cadina-1(6),4-dieno; cadina-3,9-dieno;  $\beta$ -sesquifelandreno (CHIMNOI et al., 2018); vitamina E; metil-éster-iso-palmítico; anidrido palmítico; ácido metil-éster 7,10-octadecadienoico; ácido metil-éster 7,10,13-hexadecatrienoico; ácido metil-éster 6,9,12,15-docosatetraenoico; 1,3,7,7-tetrametil-; murolano-3,9(11)-dieno-10-peroxi; 1-(2,5-dimetoxifenil)-propanol; 2-(4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidro-naftalen-2-il)-prop-2-en-1-ol; 2-metil-5-(1)-ciclopenteno-1-metanol; cardol; 4,4,11,11-tetrametil-7-tetraciclo [6.2.1.0(3.8)0(3.9)] undecanol; 4-bromo-2-adamantanol; 2-benzil-2-metil-1,3-oxatiolano; ledeno; spirio-10-(2,11-dioxabicyclo[4.4.1]undeca-3,5-dieno)-2'-(oxirano); spatulenol; 4-(dimetoximetil)-1,2-



dimetoxi-benzeno (ddb); 4-hidroxi-2-metoxibenzaldeído;  $\alpha$ -canfolenal; coniferil; ácido verátrico; 1-(4-isopropoxi-3-metoxifenil)-propan-2-ona; 4-hidroxi-2-metilacetofenona; metil-veratril; (*E*)-metil cinamato; 1,3,3-trimetil-6-azabicyclo[3.2.1]octano; 4-(5-etenil-1-azabicyclo(2,2,2)octano-2); 3,9-epoxipregn-16-en-20-one, 3-metoxi-7,11,18-triacetoxi; 3 $\beta$ -(acetiloxi)-5-hidroxi-6 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dimetilpregnan-20-one;  $\gamma$ -sitosterol; 3-alil-6-metoxifenol; 2-etenil-benzofurano; ácido metil-éster-diidroorotato; 3-metoximetil-2,5,5,8a-tetrametil-6,7,8,8a-tetrahidro-2h-cromeno; 1-(1-hidroxibutil)-2,5-dimetoxibenzeno; 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-1-; benzotiofeno-3-carbonitrila (SUMITHA & THOPPIL, 2016); 1-metil-4(1-metiletenil)-benzeno (mmb); acetato de bornila (TAMGUE et al., 2011), hexanal-2 (TATSADJIEU et al., 2008); acetato de linalil (TCHOUMBOUGNANG et al., 2005); metil-salicilato (JOSHI, 2013); metoxibenzeno (VIEIRA et al., 2001);  $\beta$ -curcumenol; viridifloreno (LIMA et al., 2018).

Ressalta-se ainda que os compostos  $\alpha$ -tujeno,  $\alpha$ -pineno, canfeno, sabineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno, *m*-menta-1(7),8-dieno, *p*-menta-1(7),8-dieno,  $\alpha$ -terpineno, *p*-cimeno,  $\beta$ -felandreno, limoneno, (*E*)- $\beta$ -ocimeno,  $\gamma$ -terpineno, hidrato de *cis*-sabineno, terpinoleno, *p*-cimeneno, linalol, hidrato de *trans*-sabineno,  $\delta$ -terpineol, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, metil-timol, timol, carvacrol, eugenol,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D,  $\beta$ -selineno, biciclogermacreno,  $\delta$ -cadineno, óxido-cariofileno (ALVAREZ et al., 2013), estragol, (*Z*)-metil-cinamato,  $\alpha$ -bergamoteno e 1,8-cineol (CAROVIÉ-STANKO et al., 2011) também já foram identificados no óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* var. *macrophyllum*.

#### 2.5.5.2 Características farmacológicas do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.

O óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* predomina nos estudos microbiológicos, com ação bacteriostática e bactericida, principalmente contra a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus* e contra as bactérias Gram negativas *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (Tabela 5).

**Tabela 5 - Bactérias sensíveis ao óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(continua)

| Micro-organismo                   | Parte usada | Ação  | Referência                                                                                                                                      |
|-----------------------------------|-------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Gram positivo</b>              |             |       |                                                                                                                                                 |
| <i>Bacillus cereus</i>            | F           | BT    | Ngassoum et al. (2003)                                                                                                                          |
|                                   | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                                                                                                             |
| <i>Bacillus subtilis</i>          | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Bacillus ssp</i>               | F           | BT    | Matasyoh et al. (2007, 2008)                                                                                                                    |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> | F           | BT    | Ngassoum et al. (2003)                                                                                                                          |
| <i>Enterococcus faecalis</i>      | F           | BT    | Ngassoum et al. (2003)                                                                                                                          |
|                                   | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                                                                                                             |
| <i>Micrococcus luteus</i>         | F           | BT    | Saha et al. (2013)                                                                                                                              |
|                                   | F           | BC    | Bonou et al. (2016)                                                                                                                             |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Micrococcus flavus</i>         | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Staphylococcus aureus</i>      | F           | BT    | Ngassoum et al. (2003); Adebolu & Oladimeji (2005); Matasyoh et al. (2007, 2008); Nweze & Eze (2009)                                            |
|                                   |             | BC    | Orafidiya et al. (2001); Bonou et al. (2016); Chimnoi et al. (2018)                                                                             |
|                                   |             | BT/BC | Nakamura et al. (1999)                                                                                                                          |
|                                   | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                                                                                                             |
|                                   | PA          | BT    | Mann (2012); Joshi (2013)                                                                                                                       |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | F           | BT    | Ngassoum et al. (2003)                                                                                                                          |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Staphylococcus faecalis</i>    | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <b>Gram negativo</b>              |             |       |                                                                                                                                                 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>     | F           | BT    | Pereira et al. (2004)                                                                                                                           |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Escherichia coli</i>           | F           | BT    | Ngassoum et al. (2003); Pereira et al. (2004); Adebolu & Oladimeji (2005); Matasyoh et al. (2007, 2008); Nweze & Eze (2009); Saha et al. (2013) |
|                                   |             | BC    | Chimnoi et al. (2018)                                                                                                                           |
|                                   |             | BT/BC | Nakamura et al. (1999)                                                                                                                          |
|                                   | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                                                                                                             |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
|                                   | PI          | BT/BC | Adesegun et al. (2013)                                                                                                                          |
| <i>Klebsiella ssp.</i>            | F           | BT/BC | Nakamura et al. (1999)                                                                                                                          |
| <i>Klebsiella pneumonia</i>       | F           | BT    | Pereira et al. (2004); Matasyoh et al. (2007, 2008)                                                                                             |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Morganella morganii</i>        | F           | BT    | Pereira et al. (2004)                                                                                                                           |
| <i>Proteus mirabilis</i>          | F           | BT    | Pereira et al. (2004); Matasyoh et al. (2007, 2008); Nweze & Eze (2009)                                                                         |
|                                   |             | BC    | Bonou et al. (2016)                                                                                                                             |
|                                   |             | BT/BC | Nakamura et al. (1999)                                                                                                                          |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | F           | BT    | Nakamura et al. (1999); Matasyoh et al. (2007, 2008); Nweze & Eze (2009); Saha et al. (2013)                                                    |
|                                   |             | BC    | Orafidiya et al. (2001); Bonou et al. (2016)                                                                                                    |
|                                   | PA          | BT    | Joshi (2013)                                                                                                                                    |
| <i>Salmonella ssp.</i>            | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                                                                                                             |

**Tabela 5 - Bactérias sensíveis ao óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

(conclusão)

| Micro-organismo                | Parte usada | Ação  | Referência                                         |
|--------------------------------|-------------|-------|----------------------------------------------------|
| <i>Salmonella choleraesuis</i> | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                |
| <i>Salmonella enteritidis</i>  | F           | BT    | Adeola et al. (2014)                               |
|                                |             | BT/BC | Nakamura et al. (1999)                             |
| <i>Salmonella typhi</i>        | F           | BT    | Adebolu & Oladimeji (2005); Matasyoh et al. (2008) |
| <i>Salmonella typhimurium</i>  | F           | BT    | Adebolu & Oladimeji (2005); Matasyoh et al. (2007) |
|                                |             | BC    | Chimnoi et al. (2018)                              |
|                                | PA          | BT    | Joshi (2013)                                       |
| <i>Shigella</i> ssp.           | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                |
| <i>Shigella dysenteriae</i>    | F           | BT    | Saha et al. (2013)                                 |
| <i>Shigella flexneri</i>       | F           | BT    | Saha et al. (2013)                                 |
|                                |             | BC    | Chimnoi et al. (2018)                              |
|                                |             | BT/BC | Nakamura et al. (1999)                             |
|                                | I           | BT/BC | Silva et al. (2010)                                |
| <i>Vibrio cholerae</i>         | F           | BT    | Saha et al. (2013)                                 |
| <i>Proteus</i> ssp.            | F           | BC    | Orafidiya et al. (2001)                            |
| <i>Proteus vulgaris</i>        | PA          | BT    | Joshi (2013)                                       |
| <i>Serratia marcescens</i>     | PA          | BT    | Joshi (2013)                                       |

Fonte: Própria (2018).

Legenda: F = folha; I = inflorescência; PA = parte aérea; PI = planta inteira; BT = bacteriostático; BC = bactericida.

Outrossim, o óleo essencial das folhas desse vegetal intensifica os antimicrobianos ciprofloxacino, ampicilina e septrina (NWEZE & EZE, 2010), o que demonstra o potencial de *Ocimum gratissimum* como agente antisséptico em formulações de uso tópico contendo o óleo essencial (ORAFIDIYA et al., 2001), inclusive, atribuindo-se ao eugenol a responsabilidade por essa atividade no óleo (NAKAMURA et al., 1999).

A atividade fungicida do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* também já foi demonstrada (Tabela 6). Frisa-se, entretanto, que alguns desses fungos são essencialmente fitopatógenos e que sua importância está no fato de serem considerados patógenos oportunistas em humanos debilitados, como é o caso dos fungos *Alternaria* ssp. (PASTOR & GUARRO, 2008; MANISHA & PANWAR, 2012), *Aspergillus ochraceus* (AL-FAKIH, 2014), *Penicillium chrysogenum* (MANISHA & PANWAR, 2012), *Penicillium expansum* (PÁDUA & MACHINSKI JUNIOR, 2005), *Penicillium verrucosum* (AL-FAKIH, 2014) e *Rhizoctonia* ssp. (MANISHA & PANWAR, 2012), além dos fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Botryosphaeria rhodina* e *Colletotrichum gloeosporioides* já relatados anteriormente no item 2.5.4.

**Tabela 6 – Fungos sensíveis ao óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.**

| <b>Fungo</b>                           | <b>Parte usada</b> | <b>Referência</b>                                                                                              |
|----------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Alternaria ssp.*</i>                | PA                 | Faria et al. (2006)                                                                                            |
| <i>Aspergillus flavus*</i>             | F                  | Tatsadjieu et al. (2008, 2010); Kouassi et al. (2018)                                                          |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>           | PA                 | Joshi (2013); Kouassi et al. (2018)                                                                            |
| <i>Aspergillus niger*</i>              | PA                 | Faria et al. (2006); Joshi (2013)                                                                              |
| <i>Aspergillus ochraceus*</i>          | F                  | Nguefack et al. (2009)                                                                                         |
| <i>Botryosphaeria rhodina*</i>         | PA                 | Faria et al. (2006)                                                                                            |
| <i>Candida albicans</i>                | F                  | Matasyoh et al. (2007); Nweze & Eze (2009); Bonou et al. (2016); Oliveira et al. (2016); Kouassi et al. (2018) |
| <i>Candida parapsilosis</i>            | F                  | Oliveira et al. (2016)                                                                                         |
| <i>Candida tropicalis</i>              | F                  | Oliveira et al. (2016)                                                                                         |
| <i>Colletotrichum gloeosporioides*</i> | PA                 | Silva et al. (2009)                                                                                            |
| <i>Cryptococcus neoformans</i>         | F                  | Lemos et al. (2005)                                                                                            |
| <i>Penicillium chrysogenum*</i>        | PA                 | Faria et al. (2006); Joshi (2013)                                                                              |
| <i>Penicillium expansum*</i>           | F                  | Nguefack et al. (2009); Tamgue et al. (2011); Nguefack et al. (2012)                                           |
| <i>Penicillium verrucosum*</i>         | F                  | Nguefack et al. (2009)                                                                                         |
| <i>Rhizoctonia ssp.*</i>               | PA                 | Faria et al. (2006)                                                                                            |

\* Fitopatógenos oportunistas em humanos.

Fonte: Própria (2018)

Legenda: F = folha; PA = parte aérea

O óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* exibe, também, atividades: repelente (USIP et al., 2006; OPARAOCHA et al., 2010; NGUEMTCHOUIN et al., 2013), com ação larvicida contra o vetor secundário de viroses como dengue, *Aedes albopictus* Skuse (SUMITHA & THOPPIL, 2016); e antiprotozoária contra: *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas (BORGES, A. R. et al., 2012); *Plasmodium berghei*, causador da malária (TCHOUMBOUGNANG et al., 2005); e *Leishmania chagasi* (OLIVEIRA et al. (2009) e *Leishmania amazonenses* (UEDA-NAKAMURA et al., 2006), agentes etiológicos da leishmaniose visceral (calazar) e leishmaniose cutânea, respectivamente. O óleo essencial da parte aérea desse vegetal demonstrou eficiência ainda contra o protozoário causador da doença do sono, *Trypanosoma brucei brucei* (KPADONOU-KPOVIESSI et al., 2014).

Outras atividades demonstradas pelo óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* foram: antioxidante e citotóxico (KOUASSI et al., 2018); inibidor da tirosinase, envolvida na síntese de melanina, provavelmente decorrente da atividade antioxidante (SAEIO et al., 2011); efeitos cardiovasculares, provocando bradicardia e hipotensão por ação vasodilatadora direta na musculatura lisa vascular do seu constituinte químico majoritário, eugenol (LAHLOU et al., 2004); atividade anticonvulsivante (FREIRE, et al, 2006); antinociceptivo (PAULA-FREIRE et al., 2013) por ação de trans-cariofileno (PAULA-FREIRE et al., 2014), eugenol e mirceno (PAULA-FREIRE et al., 2015); e efeitos

anticonvulsivante e sedativo por ação sinérgica entre eugenol, 1.8-cineol e trans-cariofileno (GALINDO et al., 2010).

Outrossim, estudos recentes demonstraram que o óleo essencial dessa espécie vegetal pode ser empregado contra doenças de bovinos e peixes. O óleo essencial das folhas (HOCAYEN & PIMENTA, 2013; HÜE et al., 2015) exibiram potencial contra o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; enquanto que o óleo essencial da parte aérea (BENOVIT et al., 2012; LIMA et al., 2018) e das folhas (BOIJINK et al., 2016; RIBEIRO et al., 2016) manifestou ação anestésica em peixes, com ausência de efeitos indesejáveis e de mortalidade durante o manejo desses animais. Também foram comprovados os efeitos anti-helmíntico (BOIJINK et al., 2016) e de aumento da capacidade imunológica e resistência a doenças em peixes de viveiro pelo óleo essencial das folhas dessa espécie vegetal (BRUM et al., 2018).

Além disso, segundo Kouninki et al. (2007) o óleo essencial desse vegetal é um eficiente biopesticida, especialmente contra: *Sitophilus zeamais* Motsch (gorgulho-do-milho) (TATSADJIEU et al., 2010), *Callosobruchus maculatus* (caruncho-do-feijão) (KOUBALA et al., 2013) e *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) (gorgulho-do-feijão) (BERNARDES et al., 2018).

Em relação a toxicidade, o óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* nas doses a 1,5 g/kg de peso corporal não provoca danos estomacais e hepáticos (FANDOHAN et al., 2008). Mas, o uso interno de monopreparados a base do óleo essencial das inflorescências dessa espécie para o tratamento de infecções microbianas não é aconselhado devido à toxicidade observada para *Artemia salina* e aos altos valores de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima quando comparado a ampicilina, utilizada como antibiótico padrão, tendo-se como alternativa o emprego associado a antibióticos ou em preparações de uso tópico (SILVA et al., 2010), desde que se evite o emprego concomitante com estreptomicina (NWEZE & EZE, 2010), amicacina e gentamicina (AGUIAR et al., 2015), por seu efeito antagonista a esses antibióticos.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os impactos das variações nas taxas de aplicação hídrica e na fertilização nitrogenada no crescimento de *Ocimum gratissimum* L. e na produção de óleo essencial das suas folhas, contribuindo para otimização da qualidade dessa espécie.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar possíveis sintomas visuais nas folhas de *Ocimum gratissimum* L. decorrentes das variações nas taxas de aplicação hídrica e na fertilização nitrogenada durante o ciclo vegetativo dessa espécie vegetal;
- Analisar o efeito combinado das variações nas taxas de aplicação hídrica e na fertilização nitrogenada durante o ciclo vegetativo de *Ocimum gratissimum* L. sobre as características morfométricas dessa espécie vegetal;
- Avaliar o efeito combinado das variações nas taxas de aplicação hídrica e na fertilização nitrogenada durante o ciclo vegetativo de *Ocimum gratissimum* L. sobre o teor e o rendimento do óleo essencial das folhas dessa espécie vegetal;
- Identificar e quantificar os componentes químicos do óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* L. sensíveis às variações nas taxas de aplicação hídrica e na fertilização nitrogenada durante o ciclo vegetativo dessa espécie vegetal;
- Fornecer subsídios para melhoramento da produção de *Ocimum gratissimum* L. e da qualidade e do rendimento do óleo essencial de suas folhas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 INSTALAÇÃO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL NA CASA DE VEGETAÇÃO

Os experimentos foram instalados na casa de vegetação do Campo Experimental do Núcleo Tecnológico de Engenharia Rural do Curso de Agronomia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), no interior da ilha de São Luís-MA, situado na região do meio-norte brasileiro, entre a Amazônia úmida e o Nordeste seco, a 2°30'S de latitude e 44°18'W de longitude, e de clima tropical chuvoso (AW), segundo classificação de Koppen, com duas estações bem definidas: uma estação chuvosa que se estende de janeiro a junho e uma estação seca de julho a dezembro.

A condução dos experimentos ocorreu no período de setembro a novembro de 2016, durante o período seco da região, com média mensal de 16,2 mm de precipitação pluvial. A temperatura média durante os experimentos foi de 28°C, com a temperatura máxima de 33,8°C e a temperatura mínima de 24,9°C. A umidade relativa do ar foi de 71,4%, com as médias máximas e mínimas de 77,3% e 68,2%, respectivamente (NUGEO/UEMA, 2016).

As propriedades químicas do substrato utilizado no estudo foram determinadas de acordo com Carter & Gregorich (2008), como disposto na Tabela 7:

**Tabela 7 – Propriedades químicas do substrato utilizado nos experimentos.**

| Parâmetro                               | Unidade                            | Valor |
|-----------------------------------------|------------------------------------|-------|
| Ca <sup>2+</sup>                        | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 32.0  |
| Mg <sup>2+</sup>                        | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 49.0  |
| K <sup>+</sup>                          | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 3.30  |
| Al <sup>3+</sup>                        | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 1.00  |
| H <sup>+</sup>                          | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 4.00  |
| Na <sup>+</sup>                         | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 5.70  |
| SB                                      | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 90.0  |
| CTC                                     | mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> | 95.0  |
| MO                                      | mg/dm <sup>3</sup>                 | 20.0  |
| P                                       | mg/dm <sup>3</sup>                 | 25.0  |
| Ph (CaCl <sub>2</sub> )                 |                                    | 8.30  |
| Na <sup>+</sup> /CTC                    | %                                  | 6.00  |
| Al <sup>3+</sup> /Al <sup>3+</sup> + SB | %                                  | 1.10  |
| V                                       | %                                  | 94.7  |

Fonte: Própria (2018)

## 4.2 CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram realizados em vasos plásticos pretos (furados na parte inferior) com capacidade para 10 dm<sup>3</sup> em um delinamento experimental completamente randomizado com três repetições e esquema fatorial 3 x 5, que consistiu de cinco regimes hídricos, estabelecidos de acordo com a porcentagem da capacidade de campo do solo e três doses de nitrogênio.

Os vasos foram pesados uniformemente com 10 kg de solo peneirado, homogeneizado e corrigido pela aplicação de 1.0 mg/ha de calcário composto por CaCO<sub>3</sub> e MgCO<sub>3</sub> (4:1), trinta dias antes da semeadura. Foram semeadas quatro sementes de *Ocimum gratissimum* em cada vaso. Para garantir um desenvolvimento satisfatório, em todas as plantas houve completa aplicação hídrica até 14 dias após a semeadura, quando os tratamentos de variação das taxas de aplicação de água e de fertilização nitrogenada foram iniciados mantendo-se duas plantas por vaso.

Foram usados 60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>) e 100% (I<sub>100</sub>) da Capacidade de Campo (CC). O teor de umidade volumétrica do solo na CC foi determinado coletando-se, antes do plantio, três repetições de amostras de solo em anéis volumétricos com capacidade de 100 cm<sup>3</sup>. A capacidade de água disponível foi calculada a partir da diferença de massa de solo entre -10 kPa (capacidade de campo) e -1500 kPa (ponto de murcha permanente). As amostras foram saturadas, pesadas, colocadas em uma mesa de tensão e equilibradas a -10 kPa (THOMASSON, 1978). Esse teor volumétrico de umidade do solo foi considerado 100% CC (I<sub>100</sub>). Os tratamentos I<sub>100</sub> foram utilizados como controles para a adição de água nas outras taxas de aplicação de água. Para manter o solo em diferentes regimes de água, todos os vasos foram pesados e ajustados diariamente na mesma hora.

O nitrogênio [tendo como fonte a ureia, (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO] foi aplicado nas raízes nas doses de 0.0 g (N<sub>0</sub>), 2.0 g (N<sub>2</sub>) e 4.0 g (N<sub>4</sub>) de nitrogênio (N) por vaso, equivalentes a 0, 40 e 80 kg de N/ha, divididas em quatro frações iguais aos 0, 15, 30 e 45 dias após a emergência (DAE). Também avaliamos um tratamento adicional com 110% de CC (I<sub>110</sub>) e 8.0 g (N<sub>8</sub>) de N por vaso, equivalente a 160 kg de N/ha.

Todos os espécimes foram coletados entre às 10h e 12h aos 60 DAE, período em que apresentaram o máximo crescimento vegetativo, ou seja, na inflorescência. Uma exsicata foi preparada e depositada no Herbário do Maranhão – MAR do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), sob número 9.037, confirmando-se a espécie como *Ocimum gratissimum* L. da família Lamiaecae.



#### 4.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo essencial de todos os tratamentos foi realizada no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Farmácia da UFMA. Todas as folhas frescas de cada tratamento foram secas em estufa com circulação de ar a 40° C por 10 dias, trituradas e depois submetidas a hidrodestilação por três horas usando aparelho tipo Clevenger, acoplado a balão de fundo redondo com capacidade para dois litros e a um sistema de refrigeração, tendo como fonte de calor uma manta aquecedora. O volume de cada óleo essencial obtido foi determinado por aferição direta na escala volumétrica do tubo separador do aparelho e, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, o óleo essencial foi coletado e transferido para um tubo de ensaio, onde foi adicionada uma pequena quantidade de sulfato de sódio anidro (Merck Chemical Co., Alemanha) para desidratação da amostra. Em seguida, o óleo essencial de cada tratamento foi submetido à centrifugação para separação da mistura e obtenção do óleo essencial puro, o qual foi transferido para um frasco de vidro âmbar de 2 mL, com tampa de baquete, e conservado ao abrigo da luz e sob refrigeração a -4°C até a análise química (BRASIL, 2010).

#### 4.4 ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

As análises químicas de todos os óleos essenciais de cada tratamento foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A GCMS-QP5050A acoplado a um espectrômetro de massa HP5972 e equipado com coluna BPX5 (5% fenil polisilfenileno-siloxano, 30 m x 0.25 mm de dimensões internas e 0.25 µm de espessura) usando gás hélio como gás de arraste na vazão de 2.7 mL/min. A temperatura foi programada para permanecer a 50 °C com as temperaturas do injetor e do detector em 280 °C. Foi injetado um total de alíquota de 1 µL de acetato de etila, com pressão da coluna de 150 kPa, velocidade linear de 59.1, com fluxo total de arraste 30 mL/min e modo de varredura 0.5 s.

#### 4.5 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL

Os componentes químicos de todos os óleos essenciais foram identificados por comparação dos seus espectros de massa e índices de retenção (IR) com os de substâncias autênticas existentes em biblioteca computadorizada de referência (NIST, 2005; ADAMS,

2007). A porcentagem relativa dos componentes foi calculada usando a área do pico de cada substância no cromatograma.

#### 4.6 PARÂMETROS ANALISADOS

Para as análises morfométricas consideraram-se como parâmetros: tamanho das folhas (comprimento e largura), número de folhas e massa seca das folhas por espécime. A análise química foi avaliada quanto ao rendimento e ao teor do óleo essencial e à presença e/ou ausência de componentes químicos no óleo essencial das folhas de cada tratamento.

#### 4.7 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS

Os espécimes foram observados diariamente, registrando-se possíveis sintomas visuais e sua evolução nas folhas decorrentes da variação da taxa de aplicação de água e de fertilização nitrogenada.

Todos os parâmetros morfométricos foram determinados no período da colheita aos 60 DAE. O comprimento e a largura das folhas foram medidos nas folhas adultas de maior extensão de cada espécime por meio de uma régua graduada em centímetros, onde o comprimento foi medido do ápice à base da folha e a largura foi medida no terço médio da folha. A massa seca das folhas por espécime, expressa em gramas por planta, foi estabelecida por pesagem após secagem de todas as folhas do espécime em estufa com circulação de ar a 40° C até peso constante.

#### 4.8 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS QUÍMICOS

O teor e o rendimento do óleo essencial de cada tratamento foram calculados primeiramente a partir da determinação da umidade de cada amostra, segundo Coutinho et al. (2007).

A umidade presente na massa vegetal foi avaliada por meio do analisador de umidade por infravermelho Gehaka IV2500 e, em seguida, foi calculado o teor e o rendimento do óleo essencial a partir das equações 1 e 2 a seguir:

Equação 1:

$T = \frac{V_o}{M - \left[ \frac{M \times U}{100} \right]} \times 100$ , onde:

$$M - \left[ \frac{M \times U}{100} \right]$$

T = teor do óleo essencial (%)

V<sub>o</sub> = volume de óleo essencial extraído (mL)

M = massa vegetal (g)

U = umidade presente na massa vegetal (%)

100 = fator de conversão para porcentagem

Equação 2:

$R = T \times MS$ , onde:

R = rendimento do óleo essencial (mL/planta)

T = teor de óleo essencial (%)

MS = massa seca total das folhas (g)

#### 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados pelos programas R (R CORE TEAM, 2015) e Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011). A análise de variância (ANOVA) foi realizada e as médias comparadas pelo teste LSD, com nível de significância de 5%. A Análise dos Principais Componentes (PCA) foi determinada por R (R CORE TEAM, 2015) para investigar similaridades entre os componentes do óleo essencial dos tratamentos. Todos os gráficos foram feitos pelo programa Sigma Plot 10.0 (Systat Software, San Jose, CA).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 SINTOMAS VISUAIS E SUA EVOLUÇÃO NAS FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L. DECORRENTES DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA

A variação nas taxas de aplicação de água e de nitrogênio provocou sintomas visuais nas folhas de *Ocimum gratissimum* L. como: murchamento, manchas esbranquiçadas e amareladas, abscisão, clorose (amarelamento), necrose e necrose apical (Figura 17A-C), sem, entretanto, ter ocorrido relevância significativa sobre o aparecimento desses sintomas na interação desses dois recursos.

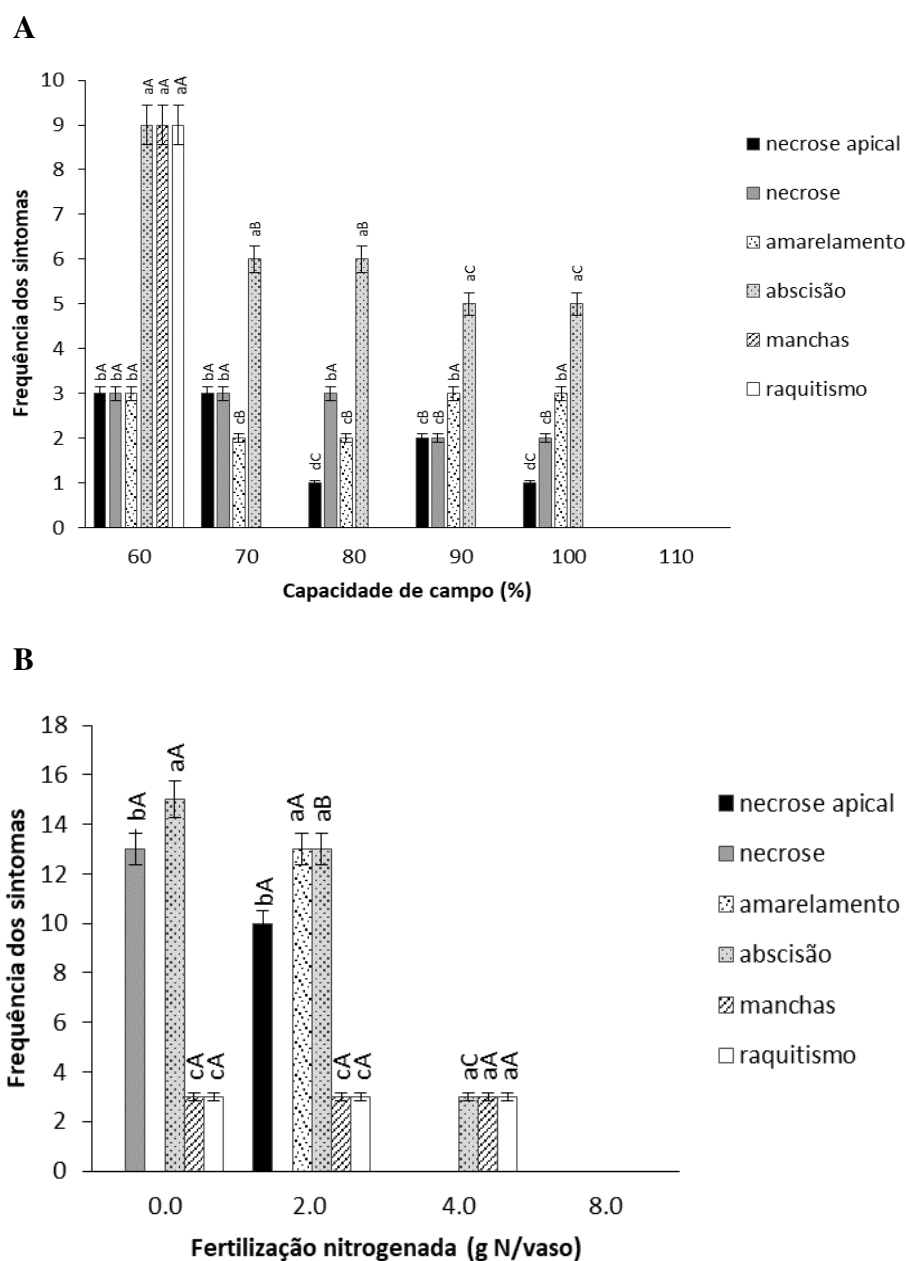
**Figura 17 – Folhas de *Ocimum gratissimum* L. submetidas aos tratamentos  $I_{100}N_0$  (A) com necrose (seta longa),  $I_{100}N_2$  (B) com amarelamento e necrose apical (seta longa) e manchas (seta curta) e  $I_{60}N_4$  (C) com raquitismo e manchas (seta curta) decorrentes da variação nas taxas de aplicação de água e de fertilização nitrogenada em comparação com folhas saudias do tratamento  $I_{110}N_8$  (D).**



Fonte: Própria (2018)

O surgimento de murchamento e manchas foi significativo ( $p < 0,05$ ) apenas na variação da taxa de água (Figura 18), especificamente no tratamento  $I_{60}$  (Figuras 17C e 18A); enquanto que os sintomas de necrose, necrose apical, abscisão e amarelamento foram significativos ( $p < 0,05$ ) somente na variação da adubação nitrogenada com diferenças no tipo de sintomas de acordo com a dose de nitrogênio (Figuras 17A-B e 18B).

**Figura 18 – Frequência dos sintomas visuais das folhas de *Ocimum gratissimum* L. em função das variações nas taxas de aplicação de água (A) e de fertilização nitrogenada (B).**



Fonte: Própria (2018).

Nota: Letras diferentes (minúsculas para sintomas em cada nível de capacidade de campo e dose de nitrogênio e maiúsculas para cada sintoma entre tratamentos) indicam diferença significativa a 5% pelo teste de LSD.

*Ocimum gratissimum* mostrou-se mais sensível à variação nitrogenada do que a taxa de aplicação de água. Ao compararmos os tratamentos N<sub>0</sub>, N<sub>2</sub> e N<sub>4</sub> verificamos que a presença de clorose foi estatisticamente relevante ( $p < 0,05$ ) apenas no tratamento N<sub>2</sub>, enquanto que não houve diferença estatística quanto a presença de abscisão nos tratamentos N<sub>0</sub> e N<sub>2</sub>, mas houve entre esses tratamentos e os tratamentos N<sub>4</sub>, e os sintomas de necrose e necrose apical foram estatisticamente relevantes ( $p < 0,05$ ) apenas em N<sub>0</sub> em relação aos demais tratamentos (Figura 18).

O tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> apresentou folhas saudáveis e sem anomalias ou sintomas visuais que caracterizassem possíveis distúrbios fisiológicos ou bioquímicos do vegetal (Figuras 17D e 18).

## 5.2 CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L. EM FUNÇÃO DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA

Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sobre os parâmetros morfométricos e de produção de óleo essencial para as taxas de aplicação de água e de nitrogênio e sobre a interação entre esses dois fatores (Tabelas 8-9).

A largura e o comprimento das folhas, para N<sub>0</sub> e N<sub>2</sub>, não apresentaram diferenças entre I<sub>60</sub>, I<sub>70</sub> e I<sub>80</sub>, mas em I<sub>100</sub> foram maiores do que nesses tratamentos. Na dose N<sub>4</sub>, em I<sub>90</sub> e I<sub>100</sub>, a largura e o comprimento das folhas também foram maiores do que em I<sub>80</sub>, I<sub>70</sub> e I<sub>60</sub> ( $p < 0,05$ ).

Para o número de folhas, I<sub>90</sub> e I<sub>100</sub> foram maiores do que os tratamentos com menor quantidade de água em todas as doses de nitrogênio (Tabela 8).

**Tabela 8 – Efeito de taxas de aplicação de água em cada dose de nitrogênio nos parâmetros morfométricos e na produção de óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* L.**

| Tratamento           | Largura das folhas (cm) | Comprimento das folhas (cm) | Número de folhas | Massa seca das folhas (g/plant) | Teor de óleo (%) | Rendimento de óleo (mL/plant) |
|----------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|-------------------------------|
| <b>N<sub>0</sub></b> |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| I <sub>60</sub>      | 6.1 b B                 | 8.1 b B                     | 158.0 c B        | 17.3 e B                        | nd               | nd                            |
| I <sub>70</sub>      | 6.0 b B                 | 8.1 b B                     | 172.7 b B        | 25.1 d B                        | 1.29 b B         | 32.3 b B                      |
| I <sub>80</sub>      | 6.3 b B                 | 8.2 b B                     | 192.3 a B        | 26.8 c B                        | 1.12 c B         | 30.0 b B                      |
| I <sub>90</sub>      | 6.4 b B                 | 8.3 b B                     | 209.3 a B        | 30.9 b B                        | 1.30 a B         | 40.1 a B                      |
| I <sub>100</sub>     | 7.2 a B                 | 10.4 a B                    | 204.3 a B        | 33.4 a B                        | 0.90 d B         | 30.0 b B                      |
| <b>N<sub>2</sub></b> |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| I <sub>60</sub>      | 6.1 c B                 | 8.2 c B                     | 163.7 b B        | 20.6 e B                        | nd               | nd                            |
| I <sub>70</sub>      | 6.1 bc B                | 8.3 c B                     | 177.0 b B        | 26.9 d B                        | 0.74 d B         | 19.9 d B                      |
| I <sub>80</sub>      | 6.3 bc B                | 9.2 b B                     | 177.3 b B        | 29.0 c B                        | 1.34 b B         | 38.8 b B                      |
| I <sub>90</sub>      | 6.5 b B                 | 8.4 c B                     | 219.7 a B        | 31.7 b B                        | 1.38 a B         | 43.7 a B                      |
| I <sub>100</sub>     | 7.3 a B                 | 10.4 a B                    | 214.3 a B        | 34.6 a B                        | 0.87 c B         | 30.1 c B                      |
| <b>N<sub>4</sub></b> |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| I <sub>60</sub>      | 6.2 b B                 | 8.3 c B                     | 173.0 b B        | 26.0 e B                        | nd               | nd                            |
| I <sub>70</sub>      | 6.2 b B                 | 8.2 c B                     | 176.0 b B        | 28.7 d B                        | 1.05 d B         | 30.1 b B                      |
| I <sub>80</sub>      | 6.3 b B                 | 9.2 b B                     | 199.7 b B        | 30.0 c B                        | 1.33 a B         | 39.9 a B                      |
| I <sub>90</sub>      | 7.3 a B                 | 10.3 a B                    | 248.7 a B        | 35.4 b B                        | 1.13 b B         | 40.0 a B                      |
| I <sub>100</sub>     | 7.2 a B                 | 10.5 a B                    | 253.3 a B        | 37.5 a B                        | 1.07 c B         | 40.1 a B                      |
| <b>N<sub>8</sub></b> |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| I <sub>110</sub>     | 8.3 A                   | 11.5 A                      | 301.3 A          | 52.5 A                          | 1.58 A           | 82.9 A                        |

Fonte: Própria (2018)

Nota: Média com letras minúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de LSD a 5% para capacidade de campo (CC) em diferentes doses de nitrogênio (N) sem o tratamento adicional de 110% CC e 160 kg N/ha; enquanto que média com letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de LSD a 5% para CC em diferentes doses de N com o tratamento adicional de 110% CC e 160 kg N/ha.

Legenda: nd = não determinado.

Diferenças na largura e no comprimento das folhas para doses de nitrogênio foram verificadas apenas em I<sub>90</sub>, onde N<sub>4</sub> apresentou resultados maiores do que N<sub>0</sub> e N<sub>2</sub>. Além disso, o número de folhas foi maior para N<sub>4</sub>, em I<sub>90</sub> e I<sub>100</sub> (Tabela 9).

**Tabela 9 – Efeito de diferentes doses de nitrogênio em cada taxa de aplicação de água nos parâmetros morfométricos e na produção de óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* L.**

| Tratamento             | Largura das folhas (cm) | Comprimento das folhas (cm) | Número de folhas | Massa seca das folhas (g/plant) | Teor de óleo (%) | Rendimento de óleo (mL/plant) |
|------------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|-------------------------------|
| <b>I<sub>60</sub></b>  |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| N <sub>0</sub>         | 6.1 ns B                | 8.1 ns B                    | 158.0 ns B       | 17.3 c B                        | nd               | nd                            |
| N <sub>2</sub>         | 6.1 ns B                | 8.2 ns B                    | 163.7 ns B       | 20.6 b B                        | nd               | nd                            |
| N <sub>4</sub>         | 6.2 ns B                | 8.3 ns B                    | 173.0 ns B       | 26.0 a B                        | nd               | nd                            |
| <b>I<sub>70</sub></b>  |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| N <sub>0</sub>         | 6.0 ns B                | 8.1 ns B                    | 172.7 ns B       | 25.1 c B                        | 1.19 a B         | 29.8 a B                      |
| N <sub>2</sub>         | 6.1 ns B                | 8.3 ns B                    | 177.0 ns B       | 26.9 b B                        | 0.74 c B         | 19.1 b B                      |
| N <sub>4</sub>         | 6.2 ns B                | 8.2 ns B                    | 176.0 ns B       | 28.7 a B                        | 1.05 b B         | 30.1 a B                      |
| <b>I<sub>80</sub></b>  |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| N <sub>0</sub>         | 6.3 ns B                | 8.2 b B                     | 192.3 ns B       | 26.8 c B                        | 1.12 b B         | 30.0 b B                      |
| N <sub>2</sub>         | 6.3 ns B                | 9.2 a B                     | 177.3 ns B       | 29.0 b B                        | 1.34 a B         | 38.8 a B                      |
| N <sub>4</sub>         | 6.3 ns B                | 9.2 a B                     | 199.7 ns B       | 30.0 a B                        | 1.33 a B         | 39.9 a B                      |
| <b>I<sub>90</sub></b>  |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| N <sub>0</sub>         | 6.4 b B                 | 8.3 b B                     | 209.3 b B        | 30.9 c B                        | 1.30 b B         | 40.1 b B                      |
| N <sub>2</sub>         | 6.5 b B                 | 8.4 b B                     | 219.7 b B        | 31.8 b B                        | 1.38 a B         | 50.0 a B                      |
| N <sub>4</sub>         | 7.3 a B                 | 10.3 a B                    | 248.7 a B        | 35.4 a B                        | 1.13 c B         | 43.8 b B                      |
| <b>I<sub>100</sub></b> |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| N <sub>0</sub>         | 7.2 ns B                | 10.4 ns B                   | 204.3 b B        | 33.4 c B                        | 0.90 b B         | 30.0 b B                      |
| N <sub>2</sub>         | 7.3 ns B                | 10.4 ns B                   | 214.3 b B        | 34.6 b B                        | 0.87 c B         | 30.1 b B                      |
| N <sub>4</sub>         | 7.2 ns B                | 10.5 ns B                   | 253.3 a B        | 37.5 a B                        | 1.07 a B         | 40.1 a B                      |
| <b>I<sub>110</sub></b> |                         |                             |                  |                                 |                  |                               |
| N <sub>8</sub>         | 8.2 A                   | 11.5 A                      | 301.3 A          | 52.5 A                          | 1.58 A           | 82.9 A                        |

Fonte: Própria (2018)

Nota: Média com letras minúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de LSD a 5% para diferentes doses de Nitrogênio (N) em cada capacidade de campo (CC) sem o tratamento adicional de 110% CC e 160 kg N/ha; enquanto que média com letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de LSD a 5% para diferentes doses N em cada CC com o tratamento adicional de 110% CC e 160 kg N/ha.

Legenda: ns = não significativo; nd = não determinado.

No entanto, os principais efeitos foram observados para a massa seca e produção de óleo essencial (Tabelas 8-9). A massa seca das folhas foi afetada pela taxa de aplicação de água em todas as doses de nitrogênio, como  $I_{60} < I_{70} < I_{80} < I_{90} < I_{100}$ . Houve redução considerável no teor e rendimento de óleo essencial no tratamento  $I_{60}$  para todas as doses de nitrogênio, a ponto de ser impossível quantificar o rendimento. Entre outros tratamentos, o menor teor de óleo foi obtido pela taxa de aplicação de água de  $I_{70}$  para as doses de nitrogênio  $N_2$  e  $N_4$  ( $p < 0,05$ ). Em  $N_0$ , o teor de óleo diminuiu com o aumento da taxa de aplicação de



água e da matéria seca das folhas, como em I<sub>70</sub>, que foi maior que em I<sub>80</sub>, I<sub>90</sub> e I<sub>100</sub>; no entanto, esse efeito não produziu diferenças no rendimento do óleo. Em contraste, em N<sub>2</sub> e N<sub>4</sub>, o teor de óleo foi menor em I<sub>70</sub> do que nesses outros tratamentos (Tabela 8). Da mesma forma, com exceção de N<sub>0</sub>, a produção de óleo foi aumentada pela aplicação de água, sendo maior em I<sub>90</sub> e I<sub>100</sub> do que em I<sub>70</sub> e I<sub>80</sub>, sem diferença entre elas (Tabela 8).

Em relação ao nitrogênio, a massa seca das folhas foi afetada pelas doses de nitrogênio em todas as taxas de aplicação de água, como segue: N<sub>0</sub> < N<sub>2</sub> < N<sub>4</sub>. O teor e o rendimento do óleo também foram aumentados pela dose de nitrogênio em I<sub>80</sub>, I<sub>90</sub> e I<sub>100</sub>. Nesses tratamentos, N<sub>0</sub> foi menor que N<sub>2</sub> e N<sub>4</sub>, que não diferiram entre si. Massa seca das folhas e o teor de óleo foram muito elevados em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. Assim como o rendimento do óleo foi quase o dobro nesse tratamento do que nos demais tratamentos (I<sub>90</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>100</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>4</sub>) (Tabela 9).

### 5.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L. EM FUNÇÃO DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA

Vinte compostos (99,99%) foram identificados no óleo essencial de cada tratamento. Houve diferenças na composição química do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* entre tratamentos submetidos a taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada (Tabela 10). Houve grandes diferenças no teor de metileugenol entre I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> (70,37%) e os demais tratamentos (< 2,0%). Outras diferenças notáveis foram  $\beta$ -cariofileno (6,51% a traço) e *o*-cimeno (4,48% a traço). Por outro lado, outros componentes foram reduzidos em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> como linalol (> 29,65% a traço), 1.8-cineol (> 17,88% a 1,44%) e  $\alpha$ -bergamoteno (> 8,32% a traço). No tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> predominaram os compostos fenilpropanoides (70,37%), enquanto que nos outros tratamentos os monoterpenos foram mais proeminentes (> 61,78%) (Tabela 10).

De acordo com a análise de componentes principais (PCA), o primeiro componente principal (metileugenol) representou 79,5% da variância total para as taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada entre I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> e outros tratamentos, enquanto o segundo componente principal (linalol) representou apenas 8,6% [Figura 19 (a) e (b)].



**Tabela 10 – Composição química do óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* L. submetidas à taxas de aplicação de água e de fertilização nitrogenada.**

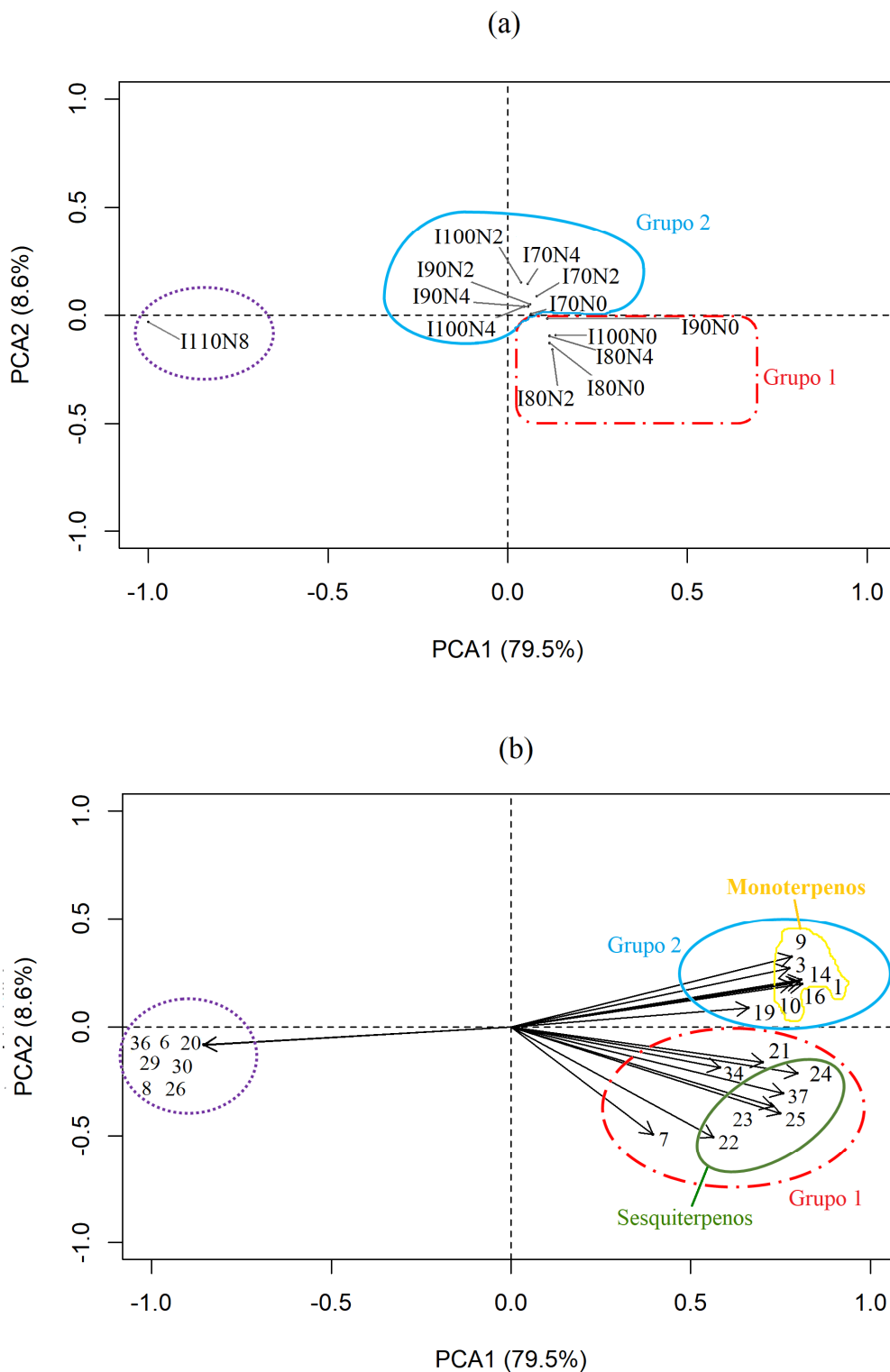
| (conclusão)                  |      |                                |                                |                                |                                |                                |                                |                                |                                |                                |                                 |                                 |                                 |                                 |
|------------------------------|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| COMPONENTE                   | IK   | I <sub>70</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>70</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>70</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>80</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>80</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>80</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>90</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>90</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>90</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>100</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>100</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>100</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>110</sub> N <sub>8</sub> |
| 31 Óxido de cariofileno      | 1507 | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                              | --                              | --                              | 0.46                            |
| 32 (Z)- $\gamma$ -Bisaboleno | 1515 | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                              | --                              | --                              | 0.81                            |
| 33 Espatuleno                | 1536 | --                             | --                             | --                             | 0.84 b                         | 0.70 d                         | 0.64 e                         | --                             | 0.52 g                         | 0.55 f                         | 1.69 a                          | 0.53 g                          | 0.72 c                          | 0.20 h                          |
| 34 Acetato de eugenil        | 1552 | 1.79 i                         | 1.18 l                         | 1.55 k                         | 2.61 e                         | 2.86 d                         | 1.60 j                         | 3.24 b                         | 1.95 h                         | 2.52 f                         | 3.97 a                          | 3.01 c                          | 2.44 g                          | --                              |
| 35 9-epi-(E)-Cariofileno     | 1572 | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                              | --                              | --                              | 0.24                            |
| 36 Humuleno                  | 1579 | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                             | --                              | --                              | --                              | 1.68                            |
| 37 $\tau$ -Cadinol           | 1580 | 6.96 g                         | 6.23 h                         | 5.67 k                         | 8.99 a                         | 8.61 b                         | 8.23 d                         | 6.16 i                         | 5.28 l                         | 7.20 f                         | 8.36 c                          | 5.92 j                          | 8.02 e                          | --                              |
| 38 epi-Cubenol               | 1627 | 0.77 f                         | 0.75 g                         | 0.62 i                         | 1.03 a                         | 1.01 b                         | 0.96 d                         | 0.70 h                         | 0.58 j                         | 0.78 f                         | 0.98 c                          | 0.64 h                          | 0.88 e                          | --                              |
| Monoterpeno                  |      | 71.65                          | 70.9                           | 73.85                          | 63.59                          | 61.78                          | 65.15                          | 69.27                          | 73.83                          | 71.15                          | 64.66                           | 72.13                           | 70.62                           | 12.07                           |
| Sesquiterpeno                |      | 22.00                          | 22.81                          | 19.04                          | 29.11                          | 30.44                          | 28.39                          | 21.48                          | 20.38                          | 21.40                          | 26.92                           | 19.51                           | 23.11                           | 17.56                           |
| Fenilpropanoide              |      | 2.38                           | 2.98                           | 3.46                           | 3.48                           | 3.67                           | 3.48                           | 4.10                           | 2.29                           | 3.36                           | 4.13                            | 3.43                            | 2.46                            | 70.37                           |
| Éster                        |      | 3.96                           | 3.31                           | 3.64                           | 4.14                           | 4.09                           | 2.99                           | 5.14                           | 3.52                           | 4.09                           | 5.23                            | 4.93                            | 3.84                            | 0.00                            |
| Total                        |      | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                          | 99.99                           | 99.99                           | 99.99                           | 99.99                           |

Fonte: Própria (2018)

Nota: dados são média (n = 3). Média com letras minúsculas na linha diferem entre si pelo teste LSD a 5% de significância. Os componentes principais são mostrados em negrito.

Legenda: IK = índice de Kovat de acordo com a literatura (NIST, 2005; ADAMS, 2007). I<sub>70</sub> = 70% de capacidade de campo (CC). I<sub>80</sub> = 80% de CC. I<sub>90</sub> = 90% de CC. I<sub>100</sub> = 100% de CC. I<sub>110</sub> = 110% de CC. N<sub>0</sub> = 0 g de Nitrogênio (N)/ha. N<sub>2</sub> = 40 g de N/ha. N<sub>4</sub> = 80 g de N/ha. N<sub>8</sub> = 160 kg de N/ha. -- = não detectado.

**Figura 19 – Distribuição dos tratamentos (a) e constituintes químicos (b) do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. em relação aos dois componentes principais por meio da análise dos principais componentes (PCA) para taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada com tratamento adicional de 110% de capacidade de campo e 8.0 g de nitrogênio por vaso (I110N8).**



Fonte: Própria (2018)

Nota: projeção dos teores médios dos compostos do óleo essencial nos dois primeiros eixos principais (+ e - indicam correlações positivas e negativas com os eixos, respectivamente). Os números representados no plano correspondem aos compostos relatados na Tabela 10.

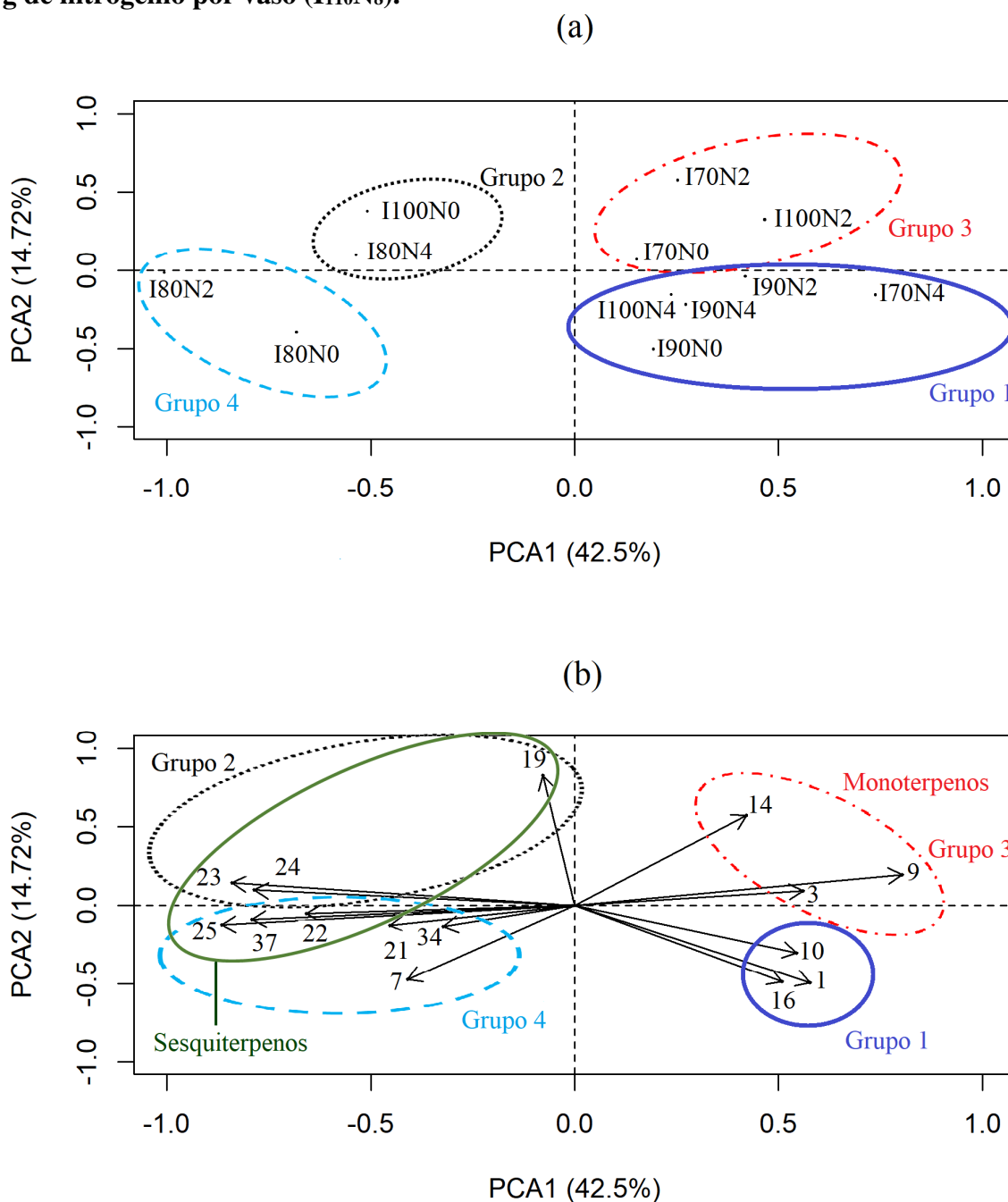
A Figura 19 mostrou que o tratamento com I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> teve uma distribuição muito diferente dos outros tratamentos nos quais seus constituintes foram formados por fenilpropanoide (metileugenol), monoterpenos ( $\gamma$ -terpineno e *o*-cimeno) e sesquiterpenos ( $\alpha$ -bergamoteno,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -selineno, isocariofileno e humuleno) sem correlação com os outros tratamentos [Figura 19 (a) e (b)]. No entanto, nos demais tratamentos houve dois grupos com similaridade: grupo 1: com correlação positiva com metileugenol (primeiro componente): I<sub>80</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>80</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>80</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>0</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>0</sub>; grupo 2: com correlação positiva com metileugenol (primeiro componente) e linalol (segundo componente): I<sub>70</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>100</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>4</sub> [Figura 19(a)]. A análise da distribuição dos compostos químicos por PCA indicou também que o grupo 1 é uma combinação de fenilpropanoide (eugenol), monoterpeno (limoneno), éster (eugenil acetato) e sesquiterpenos ( $\alpha$ -bergamoteno,  $\beta$ -cedreno,  $\tau$ -cadinol,  $\gamma$ -cadineno e  $\beta$ -elemeno); enquanto o grupo 2 é composto de monoterpenos (1.8-cineol,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpineol, sabineno e linalol) e ésteres (octil acetato e bornil acetato) [Figura 19(b)].

Na análise da distribuição dos tratamentos sem o tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> pela PCA, o primeiro componente (linalol) e o segundo componente (1.8-cineol) representaram, respectivamente, 42,5% e 14,72% da variância total para as taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada [Figura 20 (a) e (b)]. Nessa outra PCA feita sem o tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, houve quatro grupos de homogeneidade: grupo 1: com correlação positiva com o linalol (primeiro componente) entre I<sub>70</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>4</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>4</sub>; grupo 2: com correlação positiva com 1.8-cineol (segundo componente) entre I<sub>80</sub>N<sub>4</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>0</sub>; grupo 3: com correlação positiva com linalol e 1.8-cineol entre I<sub>70</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>2</sub>; grupo 4: com correlação negativa com linalol e 1.8-cineol entre I<sub>80</sub>N<sub>0</sub> e I<sub>80</sub>N<sub>2</sub> [Figura 20(a)]. Os resultados obtidos pela PCA para os constituintes químicos mostraram também que: o grupo 1 é formado por monoterpenos (linalol e sabineno) e éster (octil acetato); o grupo 2 é composto por sesquiterpenos ( $\beta$ -cedreno e  $\alpha$ -bergamoteno) e éster (bornil acetato); o grupo 3 consiste em monoterpenos ( $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpineol e 1.8-cineol); o grupo 4 é formado por monoterpeno (limoneno), fenilpropanoide (eugenol), éster (eugenil acetato) e sesquiterpenos ( $\beta$ -elemeno,  $\tau$ -cadinol e  $\gamma$ -cadineno) [Figura 20(b)].

O aumento da dose de nitrogênio influenciou a composição química em todos os tratamentos independente da taxa de aplicação de água, com menor impacto no tratamento I<sub>90</sub>, no qual houve similaridade de composição entre as doses nitrogenadas [Figura 20(a)]. Nos tratamentos sob estresse hídrico, foi observada uma interação discreta entre o estresse

hídrico e o aumento da concentração de nitrogênio em relação à maior síntese de monoterpenos [Figura 20 (a) e (b)].

**Figura 20 – Distribuição dos tratamentos (a) e constituintes químicos (b) do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. em relação aos dois componentes principais por meio da análise dos principais componentes (PCA) para taxas de aplicação de água e adubação nitrogenada sem o tratamento adicional de 110% de capacidade de campo e 8 g de nitrogênio por vaso (I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>).**



Nota: projeção dos teores médios dos compostos do óleo essencial nos dois primeiros eixos principais (+ e - indicam correlações positivas e negativas com os eixos, respectivamente). Os números representados no plano correspondem aos compostos relacionados na Tabela 10.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 SINTOMAS VISUAIS DA INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NAS FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L.

Taiz et al. (2014) relatam que a redução do turgor é o mais precoce efeito biofísico significante da deficiência hídrica e, conseqüentemente, a expansão foliar e o desenvolvimento de hastes, que dependem do turgor, são mais sensíveis e são os primeiros efeitos alterados em um vegetal submetido a essa situação adversa. A observação de folhas murchas em *Ocimum gratissimum* como primeira resposta à restrição hídrica foi consistente com esse comportamento fisiológico.

Por outro lado, o ácido abscísico produz mudanças que conferem ao vegetal a capacidade em manter o turgor celular para suportar a desidratação (FAROOQ et al., 2009) e segundo Kosma et al. (2009), há um retardo no murchamento em espécies aclimatadas à deficiência hídrica em comparação com espécies não aclimatadas anteriormente. Para Kosma et al. (2009), a indução de lipídios cutâneos pode ser importante nessa aclimação por estar associada a redução da permeabilidade da cutícula, uma adaptação que pode limitar a transpiração e atrasar o aparecimento do estresse hídrico durante a seca prolongada. *Ocimum gratissimum* apresentou folhas murchas somente no tratamento I<sub>60</sub> (Figura 17C e Figura 18A) que em nosso estudo se encontrava muito próximo ao ponto de murcha permanente, verificando-se aclimação satisfatória à redução hídrica até o tratamento I<sub>70</sub>.

De acordo com levantamento feito por Desprez-Loustau et al. (2006) e Oliva et al. (2014), o aumento da restrição hídrica está relacionado ao surgimento e ao aumento da gravidade de doenças fúngicas no vegetal. Em nosso estudo, a observação de manchas no tratamento I<sub>60</sub> (Figura 17C e Figura 18A) pode ter ocorrido em função de uma provável infecção patogênica decorrente da diminuição das defesas do vegetal pela limitação hídrica.

*Ocimum gratissimum* demonstrou maior sensibilidade a variação nitrogenada do que a restrição hídrica, haja vista a significância estatística dos sintomas clorose, abscisão, necrose e necrose apical somente em relação a variação nas doses de nitrogênio (Figura 18B).

O amarelamento (clorose) constatado em nosso estudo (Figura 17B e Figura 18B) é um sintoma inicial típico da deficiência de nitrogênio e isso se deve ao fato de o nitrogênio ser facilmente redistribuído pela planta das folhas mais velhas e intermediárias para os órgãos ou folhas mais novas via floema, objetivando garantir o seu crescimento e desenvolvimento

diante da escassez desse nutriente no meio (CARMONA, 2015; LIMA et al., 2015; MAILLARD et al., 2015; VIÉGAS et al., 2018).

Com relação a abscisão, os estudos de Ren et al. (2011, 2013) comprovaram que a longevidade foliar é reduzida pelo aumento da disponibilidade hídrica e de nitrogênio, isolados e em interação, principalmente por meio da alteração da produção de etileno, um hormônio vegetal endógeno envolvido no controle da senescência e abscisão na folha. Entretanto, segundo Sirousmehr et al. (2014) a abscisão foliar é uma adaptação a longo prazo do vegetal à limitação hídrica, o que também estimula à síntese e sensibilidade do vegetal ao etileno. Além disso, de acordo com Hanaoka et al. (2002) há um aumento da senescência com a deficiência de nitrogênio a partir da regulação da repartição de nitrogênio, o que pode explicar nossos resultados obtidos com *Ocimum gratissimum*. A repartição de nitrogênio contribui significativamente para a eficiência e produtividade do uso de nitrogênio do vegetal e é especialmente necessária durante a senescência da folha e quando os vegetais são cultivados sob baixa disponibilidade de nitrato, pois contribui para a manutenção da homeostase celular, equilíbrio C:N e metabolismo redox (MASCLAUX-DAUBRESSE, 2016). Isso pode justificar os resultados da abscisão no tratamento N<sub>4</sub> verificados em nossa pesquisa (Figura 18B).

Acredita-se que os sintomas de necrose e necrose apical observados em nosso estudo (Figura 17A-B e Figura 18B) foram decorrentes do consumo de nitrogênio do vegetal por patógenos, pois havia manchas indicativas de doenças fúngicas no tratamento com I<sub>60</sub>, como mencionado anteriormente. A necrose apical das folhas é um processo fisiológico relacionado à dinâmica do nitrogênio na folha. Segundo Van Den Berg et al. (2007, 2008), patógenos utilizam nutrientes foliares e podem, assim, acelerar a necrose fisiológica apical, e desde que os benefícios da redução da doença pela necrose apical precoce superem o custo da perda de material foliar saudável, como no caso da alta disponibilidade de nutrientes, o vegetal pode usar a necrose como defesa contra algumas doenças, porque os patógenos biotróficos não crescem em material foliar necrótico. Embora os sintomas de necrose não tenham sido correlacionados ao estresse hídrico em nosso estudo (Figura 18), Lund et al. (1998) e Bashan (1994) atribuíram necrose apical ao estímulo na produção de etileno por infecção por patógenos e relataram que essa necrose também pode ocorrer devido a dano celular induzido pelo crescimento intracelular de certas espécies patogênicas em função do estresse hídrico.

Geralmente, manter um solo com umidade acima da capacidade de campo por longos períodos, como no tratamento I<sub>110</sub>, leva a uma diminuição na aeração do solo porque



os poros serão preenchidos com água em vez de oxigênio e a água bloqueará a difusão de gás da atmosfera para o solo (CHEN et al., 2011). Isso pode causar vários sintomas nas plantas, mas a causa de danos às plantas nos solos é frequentemente questionada e a literatura sugere que ela está mais relacionada à produção de substâncias tóxicas do que a deficiência de oxigênio nas próprias raízes (MORALES-OLMEDO et al., 2015). No entanto, não houve sintoma de estresse no tratamento com o  $I_{110}N_8$  (Figura 17D), o que pode sugerir uma melhor aclimação pela co-limitação entre aplicação hídrica acima da capacidade de campo e alta dose de nitrogênio.

Albarenque et al. (2016) usaram o conceito de co-limitação água-nitrogênio para explorar a resposta do milho à disponibilidade de recursos. A co-limitação é operacionalmente identificada quando a resposta de saída de um sistema biológico (por exemplo, crescimento de planta ou população) a duas ou mais entradas é maior que sua resposta a cada fator isoladamente. As interações entre a água e o nitrogênio influenciam processos que vão desde o ecossistema até o nível molecular. As interações água-nitrogênio afetam a produtividade, a repartição de nitrogênio das folhas, a fotossíntese, a senescência e a translocação raiz-parte aérea. A hipótese de Bloom et al. (1985), em que a produção vegetal é maximizada quando é igualmente limitada por todos os recursos, é reordenada em termos de co-limitação e reformulada em termos quantitativos, ou seja, para uma dada intensidade de tensão agregada, a produção vegetal é proporcional ao grau de co-limitação.

De acordo com Ågren et al. (2012), a co-limitação ocorre em razões nutricionais muito rigorosas (taxas ótimas) e o controle da taxa de crescimento de um nutriente depende do controle da taxa por outro nutriente de outro processo, onde dois nutrientes limitam o crescimento, e que devido a limitação múltipla de recursos, a co-limitação sempre existirá e as plantas devem sempre ser direcionadas para o ponto ótimo das razões de nutrientes, onde é difícil saber se o ótimo é realmente um único valor ou uma variação de proporções em que uma consequência de tal balanceamento de recursos é uma variável raiz:alocação de brotos.

## 6.2 INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NO CRESCIMENTO E NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L.

Os resultados dos parâmetros morfométricos mostraram alta sensibilidade de *Ocimum gratissimum* à limitação hídrica do solo em condições tropicais. Folhas maiores e um maior número de folhas foram produzidos com a umidade do solo mais próxima da

capacidade de campo. O crescimento foliar e a taxa de aparecimento de folhas são muito mais sensíveis à redução hídrica do que a fotossíntese e a transpiração (TARDIEU et al., 2013). O tratamento I<sub>100</sub> produziu um número quase 50% maior de folhas de área foliar maior para a dose de nitrogênio N<sub>4</sub> do que os tratamentos com menor taxa de aplicação de água. Vale ressaltar que essa diferença foi muito menor nas doses N<sub>0</sub> e N<sub>2</sub> (Tabela 8).

A redução na área foliar e no crescimento das plantas é considerada uma resposta precoce à restrição hídrica, uma vez que permite ao vegetal reduzir sua transpiração, aumentando assim a eficiência do uso da água (BASU et al., 2016; FATHI & TARI, 2016). Portanto, acredita-se que a diminuição da área foliar de *Ocimum gratissimum* sob limitação hídrica observada em nosso estudo (tratamentos I<sub>60</sub> e I<sub>70</sub>) se deva principalmente à redução do alongamento celular. A redução da água limita o alongamento das células vegetais por meio da redução do turgor celular, que depende da água e da pressão osmótica (FENG et al., 2016).

Contudo, as grandes diferenças no número de folhas podem ser explicadas pelo aumento da taxa e duração do aparecimento de folhas em I<sub>100</sub> e I<sub>110</sub>, bem como por um processo de abscisão mais acelerado em tratamentos com menor taxa de aplicação de água. A taxa de aparecimento de folhas é usualmente calculada a partir do quociente do número de folhas produzidas desde a semeadura até a floração e o tempo decorrido entre esses eventos e pode ser tanto retardada quanto inibida pela deficiência hídrica (MARTÍNEZ-EIXARCH et al., 2013; DAVIDSON et al., 2017).

Por sua vez, a deficiência hídrica aumenta a produção de etileno e ácido abscísico no vegetal (SALAZAR et al., 2015; JOSHI et al., 2018), que são ativadores hormonais da abscisão e senescência (ZHAO et al., 2016; IQBAL et al., 2017). A concentração desses hormônios determina a capacidade de um vegetal de diminuir a transpiração como forma de retardar os sintomas da desidratação (YANG et al., 2014; ZHAO et al., 2016).

O maior tamanho e o maior número de folhas, juntos, resultaram em diferenças de matéria seca das folhas em qualquer nível de taxa de aplicação de água (Tabela 8). A limitação hídrica reduz o rendimento de matéria seca principalmente pelo desenvolvimento da área foliar e o consequente efeito no número de folhas acumuladas. O crescimento da área foliar determina a capacidade de interceptação de luz de uma cultura e é frequentemente usado como um substituto para o crescimento de vegetais em sistemas de fenotipagem de alta produtividade (WERADUWAGE et al., 2015). A relação entre o crescimento da área foliar e o crescimento em termos de massa dependerá de como o carbono é dividido entre a nova folha e a taxa de transpiração, condutância estomática e teor de nitrogênio foliar. Tanto a taxa

de transpiração quanto a condutância estomática são dependentes do conteúdo de água no solo (WANG et al., 2012; WERADUWAGE et al., 2015).

Nossos resultados mostraram alta sensibilidade do *Ocimum gratissimum* à aplicação de nitrogênio no incremento da matéria seca das folhas, em todas as taxas de aplicação de água no solo (Tabelas 8 e 9). O aumento do suprimento de nitrogênio pode levar a maiores concentrações de nitrogênio foliar, que promovem maiores taxas fotossintéticas e eficiência de uso de radiação (CHEN et al., 2016; SHI et al., 2016; KHAN et al., 2017). Portanto, o nitrogênio é um fator chave para regulação das respostas fotossintéticas à aplicação de água no solo, pois é um componente importante da rubisco e de outras enzimas e estruturas fotossintéticas (SUN et al., 2016; ZHONG et al., 2017).

Concentrações elevadas de nitrogênio nas folhas e a água do solo têm efeitos sinérgicos na fotossíntese e na produção de biomassa (KIM et al., 2008; DINH et al., 2017). A oferta baixa de nitrogênio, por outro lado, pode diminuir ou mesmo eliminar o efeito positivo da água do solo (WANG et al., 2012). A diferença na matéria seca da folha entre N<sub>4</sub>I<sub>100</sub> e N<sub>8</sub>I<sub>110</sub> de 40% (37.5 a 52.5 g/planta) sugere que em condições tropicais a resposta de *Ocimum gratissimum* a níveis elevados de água e nitrogênio para a produção de biomassa foliar demanda uma aplicação desses insumos em uma dose maior do que o comumente recomendado.

Geralmente, em condições de deficiência hídrica, a redução da massa seca correlaciona-se com o aumento dos valores de teor e rendimento do óleo essencial (EMAMI BISTGANI et al., 2017). No entanto, essa questão é controversa, embora vários autores tenham relatado aumento da produção de óleo essencial com redução da massa seca pela redução da água no solo (BAHER et al., 2002; OZTURK et al., 2004; BAHREININEJAD et al., 2014; ANDERSON et al., 2016), alguns pesquisadores associaram a redução do teor e a produção de óleo essencial com a redução da massa seca em função da redução da água (LETCAMO et al., 1994; EIASU et al., 2008; AZIZI et al. 2009; ASKARY et al., 2018).

Com relação ao nitrogênio, o aumento da dose de nitrogênio pode aumentar a produção de óleo essencial (SAID-AL AHL et al., 2009; SINGH et al., 2016), bem como diminuí-la (AZIZI et al., 2009). Além disso, nos estudos de Arabaci & Bayram (2004) e Afkari (2016) com *Ocimum basilicum* L. (manjerição), a maior produção de óleo essencial foi obtida nos tratamentos sem fertilização nitrogenada.

Aplicações de nitrogênio geralmente aumentam o conteúdo de óleo essencial e o rendimento em plantas aromáticas, aumentando a quantidade de produção de biomassa por unidade de área, desenvolvimento de área foliar e taxa fotossintética (ASKARY et al., 2018).

Nossos resultados mostram que o teor de óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* aumenta com a redução hídrica e diminui na matéria seca somente quando em condições de deficiência de nitrogênio (Tabela 8). Quando alguma dose de nitrogênio foi aplicada, as interações entre a água e o nitrogênio aumentaram drasticamente o teor e o rendimento do óleo essencial, de tal forma que houve diferença de 74% no rendimento entre N<sub>4</sub>I<sub>100</sub> e N<sub>8</sub>I<sub>110</sub>. Essa diferença pode ser explicada pela variação no número e na matéria seca das folhas e no teor de óleo essencial. Os resultados dessa interação podem ser verificados comparando o tratamento N<sub>4</sub>I<sub>100</sub> com N<sub>2</sub>I<sub>100</sub> (deficiência de nitrogênio) ou com N<sub>4</sub>I<sub>70</sub> (deficiência hídrica).

Uma característica importante de múltiplos recursos estressores é que seus efeitos são frequentemente não aditivos. Albarenque et al. (2016) usaram o conceito de co-limitação água-nitrogênio para explorar a resposta de *Zea mays* L. (milho) à disponibilidade de recursos. A co-limitação é operacionalmente identificada quando a resposta de saída de um sistema biológico (por exemplo, crescimento de vegetal ou população) a duas ou mais entradas é maior que sua resposta a cada fator isoladamente. Interações entre os processos de influência da água e do nitrogênio variam desde o ecossistema até o nível molecular. As interações água-nitrogênio afetam a produtividade, a repartição de nitrogênio das folhas, a fotossíntese, a senescência e a translocação raiz-parte aérea (SADRAS et al., 2016). A hipótese de Bloom et al. (1985), que a produção vegetal é maximizada quando é igualmente limitada por todos os recursos, é reformulada em termos de co-limitação e formulada em termos quantitativos, isto é, para uma determinada intensidade de estresse total, a produção do vegetal é proporcional ao grau de recurso co-limitado.

### 6.3 INFLUÊNCIA DAS VARIAÇÕES DAS TAXAS DE APLICAÇÃO DE ÁGUA E DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Ocimum gratissimum* L.

Sabe-se que fatores extrínsecos, como a água e o estresse nutricional, têm o potencial de induzir alterações fisiológicas em espécies vegetais com modificações na via metabólica (OLIVOTO et al., 2017). A redução nas taxas de aplicação de água e na adubação nitrogenada causou mudanças de quantidade relativa na composição de óleo essencial, mas o quimiotipo foi mantido e os principais compostos foram os mesmos. No entanto, o tratamento com I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> causou um interruptor de quimiotipo no óleo essencial e diferenças relevantes na

composição geral, com um incremento da quantidade relativa de fenilpropanoides, juntamente com um decréscimo relevante na quantidade de monoterpenos.

Houve uma acentuada divergência da composição química entre o tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, que apresentou metileugenol como componente majoritário (70,37%), seguido de  $\beta$ -cariofileno (6,51%) e *o*-cimeno (4,48%), e os demais tratamentos, nos quais linalol (29,65 a 37,03%), 1.8-cineol (17,88 a 25,22%) e  $\alpha$ -bergamoteno (8,32 a 12,65%) predominaram como os principais componentes. O metileugenol é um fenilpropanoide, originado via chiquimato no citosol (TAN & NISHIDA, 2012), enquanto *o*-cimeno, linalol e 1.8-cineol são monoterpenos, originados do mevalonato no citosol e fosfato de metileritritol nos plastídios (KARUPPIAH et al., 2017).  $\beta$ -Cariofileno e  $\alpha$ -bergamoteno são sesquiterpenos sintetizados pelo farnesil difosfato, geralmente no citosol (PALMER-YOUNG et al., 2015). A alteração qualitativa da composição química do óleo essencial ocorrida no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> resultou, portanto, da modificação da via metabólica

Existem três hipóteses possíveis para a alteração na composição química do óleo essencial do I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, principalmente em relação ao metileugenol. Primeiro, a luz durante a colheita influenciou a síntese do metileugenol. Em segundo lugar, a atividade das enzimas reguladoras da biossíntese de fenilpropanoides, tais como fenilalanina amônia-liase (PAL) e eugenol *O*-metiltransferase (EOMT), pode ter sido estimulada pelo estresse. Em terceiro lugar, houve co-limitação bioquimicamente dependente de água e nitrogênio.

Tal mudança drástica também foi observada por Vasconcelos-Silva et al. (1999) que analisaram a variação química durante o dia de constituintes do óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum*. Nesse estudo, a considerável variação foi observada no rendimento de eugenol, com 98%, no óleo essencial extraído das folhas colhidas às 12h e 11% no óleo essencial extraído das folhas colhidas às 17h, enquanto o 1.8-cineol, o segundo maior constituinte, apresentou uma variação anormal de zero às 12h até 75.5% às 17h. Em nosso estudo, as folhas foram colhidas entre às 10h e 12h, iniciando a partir do tratamento I<sub>60</sub>N<sub>0</sub> e terminando com o tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. No horário de 10h Vasconcelos-Silva et al. (1999) relataram aumento de linalol e 1.8-cineol e às 11h os pesquisadores citaram aumento de eugenol, diminuição de 1.8-cineol e ausência de linalol, similar aos nossos resultados com o tratamento com I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>.

Diferentes comprimentos de onda no vegetal podem modular os compostos presentes no óleo essencial. Ascrizzi et al. (2018) na investigação da influência da luz vermelha sobre a composição química do óleo essencial de *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. (salsa) também relatou uma mudança no quimiotipo da miristicina, um fenilpropanoide,

da amostra controle para (E,E)- $\alpha$ -farneseno, um sesquiterpeno, no tratamento do final do dia com luz monocromática vermelha (660 nm).

Além disso, a atividade das enzimas reguladoras da biossíntese de fenilpropanoides, como a fenilalanina amônia-liase (PAL), pode ter contribuído para essa mudança na via biossintética. A enzima PAL é sensível a estímulos ambientais e é a primeira enzima chave do metabolismo dos fenilpropanoides, responsável por catalisar a desaminação da fenilalanina (aminoácido aromático derivado da via do chiquimato) em ácido cinâmico (PAYYAVULA et al., 2012). Como em regimes mais irrigados, há um aumento intenso na atividade de PAL (MACHADO et al., 2013; WANG et al., 2014), acredita-se que a maior taxa de aplicação de água no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> possa ter alterado os níveis de PAL, provocando o aumento de fenilpropanoides.

Além da PAL, o cinamato 4-hidroxilase (C4H), o álcool coniferil aciltransferase (CFAT), a eugenol sintase (EGS) e a eugenol *O*-metiltransferase (EOMT) também são importantes na via dos fenilpropanoides, principalmente na síntese do metileugenol. O C4H utiliza o ácido cinâmico como substrato para produzir ácido cumárico, intermediário do álcool coniferil (HIRATA et al., 2016). O álcool coniferil é o álcool monolignol intermediário da via biossintética da lignina e serve como precursor para a biossíntese do fenilpropanoide. Esse álcool é primeiro convertido em acetato pela CFAT. A eliminação redutiva da porção acetato, que é catalisada por EGS ou pela isoeugenol sintase (IGS), origina a cadeia lateral do propenil (ANAND et al., 2016). O eugenol e o isoeugenol têm o mesmo precursor: coniferil acetato. O coniferil acetato pode produzir isoeugenol por IGS ou pode formar eugenol por EGS. A metilação do eugenol e do isoeugenol no grupo -OH do anel fenílico é catalisada por EOMT e isoeugenol *O*-metil transferase (IOMT) para formar seus derivados éter metil: metileugenol e metiliseugenol, respectivamente (ANAND et al., 2016; HIRATA et al., 2016). O EGS também utiliza o cumaril acetato como substrato para produzir o chavicol. No entanto, o chavicol não foi sintetizado por *Ocimum gratissimum* em nossos tratamentos em conformidade com Anand et al. (2016), que demonstrou que o coniferil acetato é o substrato preferido sobre o cumaril acetato por EGS em espécies de *Ocimum*.

Assim, considerando que não houve produção de chavicol, isoeugenol e metiliseugenol em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, nossa hipótese é que também houve estimulação da EOMT, além da PAL, nesse tratamento. As *O*-metiltransferases, como EOMT, constituem uma grande família de enzimas que metilam o átomo de oxigênio de uma variedade de metabólitos secundários, incluindo fenilpropanoides, e essa *O*-metilação desempenha um papel fundamental na tolerância ao estresse (LAM et al., 2007). Isso pode levar também à hipótese

de que os demais tratamentos com redução hídrica e baixa dose de nitrogênio foram percebidos como um ambiente menos estressante por *Ocimum gratissimum* e, consequentemente, as enzimas PAL e EOMT foram menos induzidas e os fenilpropanoides foram menos sintetizados nesses tratamentos, como pode ser observado pela análise de PCA [Figura 19(b)], em que o grupo 2 (I<sub>70</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>100</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>4</sub>) não apresentou correlação com os fenilpropanoides.

O nitrogênio aplicado a uma taxa aumentada também pode modificar a composição química do óleo essencial, como constatado pela análise de PCA que revelou a variabilidade química em relação ao aumento da dose de nitrogênio (Figura 20). O nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e o amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) são as duas principais formas de nitrogênio inorgânico para plantas em solos. Devido a vários fatores (por exemplo, interferência de raízes, umidade do solo e micro-organismos do solo), a transformação recíproca entre amônio e nitrato é muito comum em solos. Assim, as raízes estão sempre prontas para absorver ambas as formas de nitrogênio nos solos (RUAN et al., 2016). A absorção e o uso de nitrogênio pelos vegetais dependem, entre outros, do tipo de fertilizante (forma de nitrogênio) e sua quantidade (taxa de nitrogênio). A resposta dos vegetais a diferentes formas de nitrogênio depende da concentração de íons NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no ambiente nutricional, em que o excesso de absorção de íons NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pode causar distúrbios no metabolismo vegetal levando até mesmo ao envenenamento (NURZYŃSKA-WIERDAK, 2013).

Kong et al. (2017), por exemplo, mostraram em seu estudo com *Triticum aestivum* L. (trigo), que o excesso de nitrogênio alterou o metabolismo secundário vegetal de tal maneira que houve 99 metabólitos diferentes entre os tratamentos com adubação nitrogenada normal e excessiva. Nurzyńska-Wierdak et al. (2011) em sua pesquisa com o *Ocimum basilicum* L. (manjerição) também relataram um aumento do metileugenol e diminuição do eugenol com doses mais elevadas de nitrogênio, semelhantes aos nossos achados. Talvez *Ocimum gratissimum* em nosso estudo também tenha considerado a dose de 160 kg de N/ha (equivalente a 8 g N/vaso) um fator mais estressante do que as outras doses de nitrogênio e esse estresse junto com a taxa de aplicação de água acima da capacidade de campo contribuíram para a maior produção de fenilpropanoides de acordo com a teoria de co-limitação bioquimicamente dependente.

O conceito de co-limitação de água e nitrogênio, usado frequentemente para descrever como esses recursos competidores são alocados durante o crescimento vegetal, propõe que esse crescimento é ótimo quando a água e o nitrogênio são igualmente limitantes (RIAR et al., 2016), em nossa pesquisa, *Ocimum gratissimum* também apresentou maior

crescimento foliar no I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> (Tabelas 8-9), o que reforça essa hipótese de co-limitação. Em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, a dose de nitrogênio e a taxa de aplicação de água utilizadas sugerem uma relação sinérgica entre o nitrogênio e a água na produção de fenilpropanoides por co-limitação.

Segundo Ågren et al. (2012), a co-limitação ocorre em razões nutricionais muito rigorosas (razões ótimas) e o controle da taxa de crescimento de um nutriente depende do controle da taxa de outro nutriente de outro processo, onde dois nutrientes limitam o crescimento, mas por causa da múltipla limitação de recursos, a co-limitação sempre existirá e os vegetais devem sempre ser direcionados para o ponto de ótimas razões de nutrientes, onde é difícil saber se o ótimo é realmente um único valor ou uma variação de razões em que uma consequência de tais balanceamentos de recursos é uma variável raiz:alocação de brotos. Além disso, evidências emergentes destacam a importância de endófitos microbianos e fúngicos nos tecidos de grandes vegetais terrestres superiores (BRACKEN et al., 2015). Os endófitos fúngicos também podem diminuir a diversidade de bactérias associadas à raiz com maior umidade do solo, enquanto que, na sua ausência, a diversidade bacteriana aumenta com a maior umidade do solo (BELL-DERESKE et al., 2017). No entanto, seus efeitos (como o aumento da concentração de nitrogênio na parte aérea e raízes) geralmente dependem do suprimento de água (BOWLES et al., 2018).

Isso pode explicar a divergência dos nossos resultados em relação aos estudos de Hazzoumi et al. (2015). Esses pesquisadores relataram que a micorrização diminui os compostos fenólicos (como os fenilpropanoides) em *Ocimum gratissimum* sob estresse hídrico e aumenta o rendimento de óleo essencial, independentemente do estado hídrico do vegetal (estressado ou não), o que demonstra a melhoria da planta e sua melhor aclimação ao estresse quando em simbiose com fungos micorrízicos arbusculares. Entretanto, em nosso estudo, embora em tratamentos com maior estresse hídrico tenha ocorrido diminuição dos compostos fenólicos (Figuras 19-20), nesses tratamentos não houve aumento no teor de óleo essencial e melhora no crescimento das plantas, como no tratamento com I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> (que apresentou melhor aclimação com maior teor e rendimento de óleo essencial e maior crescimento vegetal em relação a todos os demais tratamentos) (Tabelas 8-9). As doses recomendadas de nitrogênio variam entre espécies de *Ocimum*: para *Ocimum basilicum* a taxa de fertilização é de 40-120 kg de N/ha, mas a dose ideal de fertilizante recomendada para *Ocimum sanctum* é de 120 kg de N/ha (SMITHA et al., 2014). Nossos resultados (Tabelas 8-9) indicam que a dose de 160 kg de N/ha (equivalente a 8 g N/vaso) é a dose ótima de fertilizante recomendada para a cultura de *Ocimum gratissimum* e mostra que essa espécie suporta doses nitrogenadas possivelmente tóxicas para outras espécies,



provavelmente devido a interações sinérgicas entre múltiplos recursos limitantes como água, nitrogênio e endófitos microbianos e fúngicos (ou seja, co-limitação).

O fenômeno da co-limitação também explica o equilíbrio relativo entre os constituintes e suas quantidades nos demais tratamentos, demonstrando que as plantas criaram um equilíbrio dinâmico onde todos os recursos eram igualmente limitantes ao crescimento, de acordo com as hipóteses de Bloom et al. (1985). Os resultados obtidos a partir da análise de PCA revelaram a existência de variabilidade química nos demais tratamentos com taxas de aplicação hídrica e de adubação nitrogenada [Figura 20 (a) e (b)]. O aumento da produção de 1.8-cineol (I<sub>70</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>80</sub>N<sub>4</sub> e I<sub>90</sub>N<sub>2</sub>) e linalol (I<sub>70</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>80</sub>N<sub>2</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>4</sub>) com o aumento da dose de nitrogênio (Tabela 10) foi, respectivamente, semelhante ao relatado por Zheljazkov et al. (2008) e Taie et al. (2010), em seus estudos com *Ocimum basilicum* (manjeriço). A diminuição do eugenol com o aumento da dose nitrogenada (I<sub>80</sub>N<sub>4</sub>, I<sub>90</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>4</sub>) também foi obtida com *Ocimum basilicum* por Nurzyńska-Wierdak et al. (2011). O óleo essencial também pode sofrer mudanças qualitativas em sua composição química devido a deficiência hídrica (BETTAIEB et al., 2009). No entanto, geralmente, esse estresse causa apenas mudanças quantitativas nos principais componentes do óleo essencial (LARIBI et al., 2009; CASER et al., 2016; MAATALLAH et al., 2016; MCKIERNAN et al., 2016), como em nossos resultados.

Com relação aos terpenoides, os monoterpenos e sesquiterpenos são derivados da condensação do isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero alílico, dimetilalil difosfato (DMAPP). A condensação de um DMAPP e duas moléculas de IPP catalisadas pela farnesil difosfato sintase (FPPS) leva à formação de farnesil difosfato (FPP) no citosol, enquanto a condensação de um DMAPP e um IPP catalisada por geranyl difosfato sintase (GPPS) leva à formação de geranyl difosfato (GPP) no plastídeo. GPP e FPP são substratos de enzimas terpênicas para a síntese de mono- e sesquiterpenos, respectivamente (DESPINASSE et al., 2017).

Segundo Prieto et al. (2011) o limoneno é usado como substrato para a síntese de derivados terpênicos e pode ser biotransformado em monoterpenos oxigenados, como  $\alpha$ -terpineol e linalol (que podem ser formados por  $\alpha$ -terpineol), que possuem valor agregado significativamente maior do que o limoneno. A correlação entre  $\alpha$ -terpineol e linalol foi verificada no grupo 2 pela análise de PCA (Figura 19) e no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> no qual a ausência desses três compostos foi constatada (Tabela 10). Além disso, o 1.8-cineol (também conhecido como eucaliptol) pode resultar de uma reação de ciclização do  $\alpha$ -terpineol (PIECHULLA et al., 2016), que pode explicar sua produção nos nossos tratamentos, exceto

em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, onde endófitos microbianos e fúngicos podem ter sido os responsáveis pela biossíntese do 1.8-cineol. A análise de PCA (Figura 20) mostrou a correlação entre o 1.8-cineol e o  $\alpha$ -terpineol no grupo 3 formado pelos tratamentos I<sub>70</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>2</sub> e I<sub>100</sub>N<sub>2</sub> e de acordo com Shaw et al. (2015), os fungos endófitos sintetizam uma abundância de terpenos incluindo o 1.8-cineol e a mutagênese dessas enzimas terpênicas produz um sítio ativo asparagino crítico para a captação e especificidade da água durante a síntese do cineol, o mesmo mecanismo utilizado nos vegetais.

Em relação aos outros principais componentes do tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, o *o*-cimeno é um monoterpeno e o  $\beta$ -cariofileno é um sesquiterpeno e ambos os terpenos não foram produzidos nos demais tratamentos. A formação de *o*-cimeno em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> provavelmente ocorreu a partir da oxidação de  $\alpha$ -pineno no ar pelos oxidantes atmosféricos OH, O<sub>3</sub> e NO<sub>3</sub> similar ao obtido por Gratien et al. (2011) em seus estudos com o *p*-cimeno. Enquanto que a maior dose de nitrogênio e a maior taxa de aplicação de água provavelmente promoveram a ativação da enzima  $\beta$ -cariofileno sintetase resultando na produção de  $\beta$ -cariofileno somente em I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. Nos outros tratamentos, o  $\beta$ -cariofileno foi substituído por outro sesquiterpeno,  $\alpha$ -bergamoteno, que possui o mesmo precursor FPP. Isso reflete a preferência do FPP pela  $\beta$ -cariofileno sintase sobre  $\alpha$ -bergamoteno sintase no I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. Nossos achados estão de acordo com estudos de Ardanuy et al. (2017), onde uma maior concentração de  $\beta$ -cariofileno foi detectada em vegetais sob dose nitrogenada mais alta. A análise de PCA revelou a similaridade entre os tratamentos I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, I<sub>80</sub>N<sub>0</sub> e I<sub>80</sub>N<sub>2</sub> em relação às classes de compostos: todos os três tratamentos apresentaram correlação com monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (Figuras 19-20). Entre os terpenos, os hidrocarbonetos monoterpenos demonstraram melhorar o estresse abiótico em várias espécies de vegetais por meio de dois mecanismos propostos: estabilização da membrana e efeitos diretos de antioxidantes. Enquanto os hidrocarbonetos sesquiterpenos não apenas compartilham as propriedades estruturais que conferem qualidades protetoras aos hidrocarbonetos monoterpenos, mas também reagem rapidamente com o ozônio, sugerindo que os sesquiterpenos podem similarmente aumentar a tolerância a estresses abióticos (PALMER-YOUNG et al., 2015).

*Ocimum gratissimum* possui várias propriedades terapêuticas cientificamente comprovadas, como: hipoglicêmico (CASANOVA et al., 2014, 2017); antioxidante (AKINRINDE et al., 2016; HZOUNDA et al., 2016); antifúngico (NGUEFACK et al., 2009; BONOU et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016); antibacteriano (SAHA et al., 2013; IGBINOSA & IDEMUDIA et al., 2016); auxiliar no tratamento de hepatopatias (CHIU et al., 2014); entre outras. Considerando apenas o principal componente do I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> (metileugenol) e

os dois principais componentes dos outros tratamentos (linalol e 1.8-cineol), essa alteração na via metabólica e na composição química, bem como o aumento do teor e do rendimento do óleo essencial ocorridos no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, com aumento da produção de metileugenol e a ausência de síntese do linalol, impactam na qualidade, eficácia e segurança de um possível produto final desenvolvido a partir dessa espécie vegetal.

O metileugenol é um composto com efeitos antialérgicos, antianafiláticos, antinociceptivos e anti-inflamatórios (TANG et al., 2015), possui ação tripanocida *in vitro* (GIONGO et al., 2017) e reduz a lesão isquêmica cerebral pela supressão de lesão oxidativa e inflamação (CHOI et al., 2010). Esse composto é empregado como agente aromatizante em produtos alimentares (geleias, produtos de panificação, bebidas não alcoólicas, goma de mascar, doces, condimentos e sorvetes) e é também amplamente utilizado como ingrediente de fragrância em perfumes, produtos de higiene pessoal e detergentes (IARC, 2013). Por outro lado, o linalol, que também é extensamente empregado na indústria de alimentos e cosméticos devido às suas propriedades flavorizantes e de perfumaria (LETIZIA et al., 2003; CAPUTI & APREA, 2011), exibe atividades biológicas antinociceptiva, antileishmania e antimicrobiana (MOHR et al., 2017). Além disso, o linalol afeta a hipoglicemia (DEEPA & ANURADHA, 2011) e na terapia combinatória com limoneno melhora o controle do diabetes (MORE et al., 2014). Enquanto 1.8-cineol foi relatado na melhoria da disfunção das células endoteliais (LINGHU et al., 2016) e tem propriedades gastroprotetoras (ROCHA CALDAS et al., 2015), anti-inflamatórias e repelentes (DHAKAD et al., 2018).

Assim, a ausência de linalol, 1.8-cineol e limoneno com o aumento da produção de metileugenol no tratamento I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> mostram que a taxa de aplicação de água acima da capacidade de campo associada a dose de nitrogênio superior às normalmente recomendadas pode afetar a composição química e, conseqüentemente, influenciar o uso do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* na indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos. Portanto, nossos resultados sugerem que o manejo de água e nitrogênio em *Ocimum gratissimum* pode alterar a qualidade de seu óleo essencial a ponto de modificar o valor terapêutico e comercial do óleo essencial nesse vegetal. Por essa razão, outros estudos da composição química do óleo essencial em relação a fatores ambientais podem fornecer mais informações sobre o que determina sua variabilidade química.

## 7 CONCLUSÕES

*Ocimum gratissimum* é muito sensível as deficiências de água e nitrogênio, com uma maior tolerância à deficiência hídrica do que a deficiência de nitrogênio em relação ao aparecimento de sintomas visuais nas folhas característicos desses estresses.

Em condições tropicais uma taxa de aplicação de água acima da capacidade de campo junto com uma dose de nitrogênio superior às normalmente recomendadas melhora o crescimento de *Ocimum gratissimum* e aumenta a produção de seu óleo essencial com modificação da via metabólica.

A mudança na composição química do óleo essencial causada por interações entre a água e o nitrogênio amplia as possibilidades de aplicações de *Ocimum gratissimum* pela indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia.

O manejo da água e do nitrogênio em *Ocimum gratissimum* superior as taxas normalmente recomendadas pode alterar a qualidade de seu óleo essencial de modo a modificar seu valor terapêutico e comercial, em função da alteração quali-quantitativa de seus componentes químicos majoritários com possibilidade de impacto em um eventual produto desenvolvido a partir dessa matéria-prima vegetal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAS, H. Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. **Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, 3, 33, 256-261, 2006.
- ABIODUN, O. O.; GBOTOSHO, G. O.; AJAIYEGBA, E. O.; BRUN, R.; ODUOLA, A. M. Antitrypanosomal activity of some medicinal plants from Nigerian ethnomedicine. **Parasitology Research**, 110, 2, 521–526, 2012.
- ABIODUN, O.; GBOTOSHO, G.; AJAIYEGBA, E.; HAPPI, T.; FALADE, M.; WITTLIN, S.; SOWUNMI, A.; BRUN, R.; ODUOLA, A. *In vitro* antiplasmodial activity and toxicity assessment of some plants from Nigerian ethnomedicine. **Pharmaceutical Biology**, 49, 1, 9–14, 2011.
- ADAMU, M.; NWOSU, C. O.; AGBEDE, R. I. S. AntiTrypanosomal effects of aqueous extract of *Ocimum Gratissimum* (Lamiaceae) leaf in rats infected with *Trypanosoma Brucei Brucei*. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 6, 3, 262–267, 2009.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4th ed. Allured Publ., Carol Stream, IL, USA, 2007.
- ADE-ADEMILUA, E. O.; OBI, H. O.; CRAKER, L. E. Growth and essential oil yield of african basil, *Ocimum gratissimum*, under light and water stress. **Journal of Medicinally Active Plants**, 1, 4, 143-149, 2013.
- ADEBOLU, T. T.; OLADIMEJI, S. A. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, 4, 7, 682–684, 2005.
- ADEOLA, S. A.; FOLORUNSO, O. S.; OKEDEYI, O. O.; OGUNGBE, B. F.; BABATIMEHIN, O. B.; THANNI, O. Z. Antioxidant and antimicrobial activities of the volatile oil of *Ocimum gratissimum* and its inhibition on partially purified and characterized extracellular protease of *Salmonella enteritidis*. **American Journal of Drug Discovery and Development**, 4, 180-193, 2014.
- ADESEGUN, A. S.; SAMUEL, F. O.; ANTHONY, O. B.; NURUDEEN, O. A. Antioxidant and inhibitory properties of essential oil of *Ocimum gratissimum* against extracellular protease of *Escherichia coli*. **IOSR Journal of Pharmacy**, 3, 1, 50-55, 2013.
- ADETUTU, A.; OLORUNNISOLA, O. S. Hepatoprotective potential of some local medicinal plants against 2-acetylaminoflourene-induced damage in rat. **Journal of Toxicology**, 2013, 1-5, 2013.
- AFKARI, A. The effects of water deficit stress on physiological and biochemical changes of medicinal plants *Ocimum basilicum* L. under climatic conditions in Ardabil, Iran. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, 7, 4, 54-60, 2016.
- AFOLABI, O. J.; SIMON-OKE, I. A.; ELUFISAN, O. O.; ONIYA, M. O. Adulticidal and repellent activities of some botanical oils against malaria mosquito: *Anopheles gambiae*

(Diptera: Culicidae). **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, 7, 1, 135–138, 2018.

AGARWAL, K.; VARMA, R. *Ocimum gratissimum* L.: a medicinal plant with promising antiurolithiatic activity. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 6, 1, 78-81, 2014.

ÅGREN, G. I.; WETTERSTEDT, J. Å. M.; BILLBERGER, M. F. K. Nutrient limitation on terrestrial plant growth - modeling the interaction between nitrogen and phosphorus. **New Phytologist**, 194, 4, 953–960, 2012.

AGUIAR, J. J. S.; SOUSA, C. P. B.; ARARUNA, M. K. A.; SILVA, M. K. N.; PORTELO, A. C.; LOPES, J. C.; CARVALHO, V. R. A.; FIGUEREDO, F. G.; BITU, V. C. N.; COUTINHO, H. D. M.; MIRANDA, T. A. S.; MATIAS, E. F. F. Antibacterial and modifying-antibiotic activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Plectranthus amboinicus* L. **European Journal of Integrative Medicine**, 7, 2, 151–156, 2015.

AHANGER, M. A.; AKRAM, N. A.; ASHRAF, M.; ALYEMENI, M. N.; WIJAYA, L.; AHMAD, P. Plant responses to environmental stresses—from gene to biotechnology. **AoB Plants**, 9, 4, 1-17, 2017.

AKINBORO, A.; BAKAREB, A. A. Spermatotoxic, cytotoxic and genotoxic evaluation of aqueous extract of *Ocimum gratissimum* in albino mice. **Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, 4, 1, 10-14, 2013.

AKINMOLADUN, A. C.; OBUOTOR, E. M.; FAROMBI, E. O. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging capacities of some nigerian indigenous medicinal plants. **Journal of Medicinal Food**, 13, 2, 444–451, 2010.

AKINRINDE, A. S.; OYAGBEMI, A. A.; OMOBOWALE, T. O.; ASENUGA, E. R.; AJIBADE, T. O. Alterations in blood pressure, antioxidant status and caspase 8 expression in cobalt chloride-induced cardio-renal dysfunction are reversed by *Ocimum gratissimum* and gallic acid in Wistar rats. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 36, 27–37, 2016.

AKPAN, O. U.; BASSEY, R. B.; AGBA, B. S.; EDEGHA, I. A. Elevation of serum pancreatic amylase and distortion of pancreatic cytoarchitecture in type 1 *diabetes mellitus* rats treated with *Ocimum gratissimum*. **Nigeria Medical Association**, 55, 1, 34-38, 2014.

AKULA, R.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, 6, 11, 1720–1731, 2011.

ALABI, Q. K.; AKOMOLAFE, R. O.; OMOLE, J. G.; ADEFISAYO, M. A.; OGUNDIPE, O. L.; ATURAMU, A.; SANYA, J. O. Polyphenol-rich extract of *Ocimum gratissimum* leaves ameliorates colitis via attenuating colonic mucosa injury and regulating pro-inflammatory cytokines production and oxidative stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 103, 812–822, 2018.

- ALBARENQUE, S. M.; BASSO, B.; CAVIGLIA, O. P.; MELCHIORI, R. J. M. Spatio-temporal nitrogen fertilizer response in maize: field study and modeling approach. **Agronomy Journal**, 108, 5, 1-13, 2016.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. El género *Ocimum* L. (Lamiaceae) en el nordeste del Brasil. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, 56, 1, 43-64, 1998.
- AL-FAKIH, A. A. Overview on the fungal metabolites involved in mycopathy. **Open Journal of Medical Microbiology**, 4, 1, 38-63, 2014.
- ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: a systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 5, 8, 601-611, 2015.
- ALINIAN, S.; RAZMJOO, J.; ZEINALI, H. Flavonoids, anthocynins, phenolics and essential oil produced in cumin (*Cuminum cyminum* L.) accessions under different irrigation regimes. **Industrial Crops and Products**, 81, 49-55, 2016.
- ALVARENGA, I. C. A.; VALADARES, R. V.; MARTINS, E. R.; OLIVEIRA, F. G.; FIGUEIREDO, L. S. D.; KOBAYASHI, M. K. Water stress before harvest of pepper rosmarin. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46, 7, 706-711, 2011.
- ALVAREZ, A. S.; SANTOS, L. C.; ZOGHBI, M. G. B.; SILVA, R. J. F. Avaliação das estruturas secretoras de *Ocimum gratissimum* var. *macrophyllum* Briq. (Lamiaceae) após extração dos constituintes voláteis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 15, 2, 237-243, 2013.
- ALVES, G. S. P.; POVH, J. A. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. **Biotemas**, 26, 3, 231-242, 2013.
- ALVES, L. S.; STARK, E. M. L. M.; ZONTA, E.; FERNANDES, M. S.; SANTOS, A. M. DOS; SOUZA, S. R. DE. Different nitrogen and boron levels influence the grain production and oil content of a sunflower cultivar. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 39, 1, 59-66, 2017.
- AMENGIALUE, O. O.; EDOBOR, O.; EGHAREVBA, A. P. Antibacterial activity of extracts of *Ocimum gratissimum* on bacteria associated with diarrhea. **Bayero Journal of Pure & Applied Sciences**, 6, 2, 143-145, 2013.
- ANAND, A.; JAYARAMAIAH, R. H.; BEEDKAR, S. D.; SINGH, P. A.; JOSHI, R. S.; MULANI, F. A.; DHOLAKIA, B. B.; PUNEKAR, S. A.; GADE, W. N.; THULASIRAM, H. V.; GIRI, A. P. Comparative functional characterization of eugenol synthase from four different *Ocimum* species: implications on eugenol accumulation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, 1864, 11, 1539-1547, 2016.
- ANDERSON, V. M.; ARCHBOLD, D. D.; GENEVE, R. L.; INGRAM, D. L.; JACOBSEN, K. L. Fertility source and drought stress effects on plant growth and essential oil production of *Calendula officinalis*. **HortScience**, 51, 4, 342-348, 2016.
- ANDRADE, M. E. L. **Crescimento e produtividade do meloeiro sob diferentes lâminas de água e doses de nitrogênio e potássio**. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2006.

ANDRADE-PINTO, J. M. A.; SOUZA, E. A.; OLIVEIRA, D. F. Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. **Crop Protection**, 29, 8, 838-842, 2010.

ANINBON, C.; JOGLOY, S.; VORASOOT, N.; PATANOTHAI, A.; NUCHADOMRONG, S.; SENAWONG, T. Effect of end of season water deficit on phenolic compounds in peanut genotypes with different levels of resistance to drought. **Food Chemistry**, 196, 1, 123–129, 2016.

ANISZEWSKI, T. **Alkaloids - Secrets of Life: alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role**. Amsterdam: Elsevier Science, 2007. 334 p.

ARABACI, O.; BAYRAM, E. The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum* L. (basil). **Journal of Agronomy**, 3, 255–262, 2004.

ARDANUY, A.; PASTOR, V.; GLAUSER, G.; CHRISTOU, P.; TURLINGS, T.; ALBAJES, R. Genotype, nitrogen and herbivory shape plant defense: the case of a vitamin-enriched maize. **BioRxiv**, 160333, 1-33, 2017.

ARHOGHRO, E. M.; IKEH, C.; UWAKWE, A. A.; EKPO, K. E.; ANOSIKE, E. O. Curative potential of aqueous extract of scent leaf (*Ocimum gratissimum*) on cisplatin induced hepatotoxicity in albino wistar rats. **Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation**, 1, 4, 18, 2012.

ARRIAGA-MADRID, D. A.; GUEVARA GONZALEZ, R.; FERREGRINO PEREZ, A.; CONTRERAS MEDINA, L. M.; CORTEZ, P. A. Production of glucosinolates in different organs of white mustard plant (*Sinapis alba* L.) as a result of the application of hydrogen peroxide. In **2017 XIII International Engineering Congress (CONIIN)**, 1–6, 2017.

ASBAHANI, A. EL; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. EL; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, 483, 1–2, 220–243, 2015.

ASCRIZZI, R.; FRATERNALE, D.; FLAMINI, G. Photochemical response of parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) grown under red light: the effect on the essential oil composition and yield. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 185, 185–191, 2018.

ASHRAF, M.; ALI, Q.; IQBAL, Z. Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86, 6, 871–876, 2006.

ASKARY, M.; BEHDANI, M. A.; PARSA, S.; MAHMOODI, S.; JAMIALAHMADI, M. Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. **Industrial Crops and Products**, 111, 336–344, 2018.

AZEVEDO, B. M.; FERNANDES, C. N. V.; PINHEIRO, J. A.; BRAGA, E. S.; CAMPÊLO, A. R.; VIANA, T. V. A.; CAMBOIM NETO, L. F.; MARINHO, A. B. Efeitos de lâminas de



irrigação na cultura do feijão vigna de cor preta. **Agropecuária Técnica**, 32, 1, 152–159, 2011.

AZIBA, P. I.; BASS, D.; ELEGBE, Y. Pharmacological investigation of *Ocimum gratissimum* in rodents. **Phytotherapy Research**, 13, 5, 427–429, 1999.

AZIMI, J.; PIRZAD, A.; HADI, H. Effect of increasing severity of drought stress on morphology and essential oil of pot marigold. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, 2, 4, 11-17, 2012.

AZIZ, E. E.; EL-ASHRY, S. M. Efficiency of slow release urea fertilizer on herb yield and essential oil production of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) plant. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, 5, 2, 141–147, 2009.

AZIZI, A.; YAN, F.; HONERMEIER, B. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. **Industrial Crops and Products**, 29, 2-3, 554–561, 2009.

BAHER, Z. F.; MIRZA, M.; GHORBANLI, M.; BAGHER REZAIL, M. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. **Flavour and Fragrance Journal**, 17, 4, 275–277, 2002.

BAHREININEJAD, B.; RAZMJOO, J.; MIRZA, M. Effect of water stress on productivity and essential oil content and composition of *Thymus carmanicus*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 17, 5, 717–725, 2014.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, 46, 2, 446–475, 2008.

BANKOLE, S. A.; SOMORIN, Y. M. Antifungal activity of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Aframomum danielli* against moulds isolated from stored rice. **10th International Working Conference on Stored Product Protection**, 425, 578-585, 2010.

BARATA-SILVA, C.; HAUSER-DAVIS, R. A.; SILVA, A. L. O.; MOREIRA, J. C. Desafios ao controle da qualidade de medicamentos no Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, 25, 3, 362–370, 2017.

BASHAN, Y. Symptom expression and ethylene production in leaf blight of cotton caused by *Alternaria macrospora* and *Alternaria alternata* alone and in combination. **Canadian Journal of Botany**, 72, 11, 1574-1579, 1994.

BASU, S.; RAMEGOWDA, V.; KUMAR, A.; PEREIRA, A. Plant adaptation to drought stress. **F1000Research**, 5, 1-10, 2016.

BEALE, D. J.; MORRISON, P. D.; KARPE, A. V.; DUNN, M. S. Chemometric analysis of lavender essential oils using targeted and untargeted GC-MS acquired data for the rapid identification and characterization of oil quality. **Molecules**, 22, 8, 1339, 2017.

BELL-DERESKE, L.; TAKACS-VESBACH, C.; KIVLIN, S. N.; EMERY, S. M.; RUDGERS, J. A. Leaf endophytic fungus interacts with precipitation to alter belowground

microbial communities in primary successional dunes. **FEMS Microbiology Ecology**, 93, 6, 1-16, 2017.

BENOVIT, S. C.; GRESSLER, L. T.; de LIMA SILVA, L.; de OLIVEIRA GARCIA, L. O.; OKAMOTO, M. H.; dos SANTOS PEDRON, J. S.; SAMPAIO, L. A.; RODRIGUES, R. V.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia and transport of brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 43, 6, 896-900, 2012.

BERNARDES, W. A.; SILVA, E. O.; CROTTI, A. E. M.; BALDIN, E. L. L. Bioactivity of selected plant-derived essential oils against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, 77, 16–19, 2018.

BETTAIEB, N.; ZAKHAMA, W.; WANNES, A.; KCHOUK, M. E.; MARZOUK, B. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. **Scientia Horticulturae**, 120, 2, 271–275, 2009.

BLOOM, A. J.; CHAPIN, F. S.; MOONEY, H. A. Resource Limitation in plants-an economic analogy. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 16, 1, 363–392, 1985.

BOIJINK, C. L.; QUEIROZ, C. A.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; INOUE, L. A. K. A. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, 457, 24–28, 2016.

BOLARINWA, I. F.; OKE, M. O.; OLANIYAN, S. A.; AJALA, A. S. A review of cyanogenic glycosides in edible plants. In: SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. L. **Toxicology: new aspects to this scientific conundrum**. Rijeka: InTechOpen, 179-192, 2016. 216 p

BONDADA, B. R.; OOSTERHUIS, D. M.; MURPHY, J. B.; KIM, K. S. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. **Environmental and Experimental Botany**, 36, 1, 61-69, 1996.

BONOU, J.; BABA-MOUSSA, F.; NOUMAVO, P. A.; AHOUANDJINO, H.; ADEOTI, K.; METOGNON, I.; AKPAGANA, K.; MANSOUROU, M.; GBÉNOU, J. D.; TOUKOUROU, F.; BABA-MOUSSA, L. Composition chimique et influence de differents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. **European Scientific Journal**, 12, 27, 162-171, 2016.

BORA, K. S.; SHRI, R.; MONGA, J. Cerebroprotective effect of *Ocimum gratissimum* against focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. **Pharmaceutical Biology**, 49, 2, 175–181, 2011.

BORCARD, G. G.; CONDE, B. E.; ALVES, M. J. M.; CHEDIER, L. M.; PIMENTA, D. S. Estudo etnofarmacológico em entorno de floresta urbana como subsídio para a implantação da Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17, 4, II, 928-936, 2015.

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M. G.; ALVES, J. A.; LUCENA, E. M. P. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum*

*vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 14, 4, 656-665, 2012.

BORGES, A. R.; AIRES, J. R. de A.; HIGINO, T. M. M.; MEDEIROS, M. das G. F. de; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q de. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, 132, 2, 123–128, 2012.

BORSATO, A. V.; DONI-FILHO, L.; CÔCCO, L. C.; PAGLIA, E. C. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] extraído por arraste de vapor d'água, em escala comercial. **Semina**, 29, 1, 129-136, 2008.

BORTOLHEIRO, F. P. A. P.; SILVA, M. A. Physiological response and productivity of safflower lines under water deficit and rehydration. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 89, 4, 3051–3066, 2017.

BOSABALIDIS, A. M. Idioblastic mucilage cells in *Teucrium polium* leaf: anatomy and histochemistry. **Modern Phytomorphology**, 5, 49–52, 2014.

BOWLES, T. M.; JACKSON, L. E.; CAVAGNARO, T. R. Mycorrhizal fungi enhance plant nutrient acquisition and modulate nitrogen loss with variable water regimes. **Global Change Biology**, 24, 1, e171–e182, 2018.

BRACKEN, M. E. S.; HILLEBRAND, H.; BORER, E. T.; SEABLOOM, E. W.; CEBRIAN, J.; CLELAND, E. E.; ELSER, J. J.; GRUNER, D. S.; HARPOLE, W. S.; NGAI, J. T.; SMITH, J. E. Signatures of nutrient limitation and co-limitation: responses of autotroph internal nutrient concentrations to nitrogen and phosphorus additions. **Oikos**, 124, 2, 113–121, 2015.

BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 111, 2, 396–402, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. Brasília: Anvisa, 2010. 546 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos**, Brasília, DF, maio 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS-Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS**. 2009.

BRENNAN, R. F. Effect of time of application and amount of nitrogen fertilizer on seed yield and concentration of oil in canola (*Brassica napus*). **Journal of Plant Nutrition**, 39, 3, 337–347, 2016.

BREUNINGER, H.; LENHARD, M. Control of tissue and organ growth in plants. **Current Topics in Developmental Biology**, 91, 185–220, 2010.

BREVEDAN, R. E.; EGLI, D. B. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. **Crop Science**, 43, 6, 2083, 2003.

BRITANNICA ACADEMIC. Encyclopedia Britannica. **Lamiaceae**. 19 mar. 2015. Disponível em: [academic-eb-britannica.ez14.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/Lamiaceae/46962](http://academic-eb-britannica.ez14.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/Lamiaceae/46962). Acesso em: 14 Fev 2017.

BRUKHIN, V.; MOROZOVA, N. Plant growth and development - basic knowledge and current views. **Mathematical Modelling of Natural Phenomena**, 6, 2, 1–53, 2011.

BRUM, A.; CARDOSO, L.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; MOURIÑO, J. L. P.; MARTINS, M. L. Histological changes in Nile tilapia fed essential oils of clove basil and ginger after challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, 490, 98–107, 2018.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. 2a. ed. Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2015. 1296 p.

CAPUTI, L.; APREA, E. Use of terpenoids as natural flavouring compounds in food industry. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, 3, 1, 9–16, 2011.

CARMONA, V. M. V. **Sintomas de deficiências de macronutrientes em pepineiro**. 35 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

CAROVIE-STANKO, K.; LIBER, Z.; POLITEO, O.; STRIKIC, F.; KOLAK, I.; MILOS, M.; SATOVIC, Z. Molecular and chemical characterization of the most widespread *Ocimum* species. **Plant Systematics and Evolution**, 294, 3, 253–262, 2011.

CARTER, M. R.; GREGORICH, E. G. **Soil sampling and methods of analysis**. 2nd. ed. Canadian Society of Soil Science, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, 2008.

CARVALHO, K. S.; PINHEIRO, H. A.; FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; SILVA JUNIOR, D. D.; CASTRO, G. L. S.; CRUZ, F. J. R.; FUJIYAMA, B. S. Diurnal changes in leaflet gas exchange, water status and antioxidant responses in *Carapa guianensis* plants under water-deficit conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, 35, 1, 13–21, 2013.

CASANOVA, L. M.; DA SILVA, D.; SOLA-PENNA, M.; DE MAGALHÃES CAMARGO, L. M.; DE MOURA CELESTRINI, D.; TINOCO, L. W.; COSTA, S. S. Identification of chicoric acid as a hypoglycemic agent from *Ocimum gratissimum* leaf extract in a biomonitoring *in vivo* study. **Fitoterapia**, 93, 132–141, 2014.

CASANOVA, L. M.; GU, W.; COSTA, S. S.; JEPPESEN, P. B. Phenolic substances from *Ocimum* species enhance glucose-stimulated insulin secretion and modulate the expression of key insulin regulatory genes in mice pancreatic islets. **Journal of Natural Products**, 80, 12, 3267–3275, 2017.

CASER, M.; D'ANGIOLILLO, F.; CHITARRA, W.; LOVISOLO, C.; RUFFONI, B.; PISTELLI, L.; PISTELLI, L.; SCARIOT, V. Water deficit regimes trigger changes in valuable physiological and phytochemical parameters in *Helichrysum petiolare* Hilliard & B.L.Burt. **Industrial Crops and Products**, 83, 680–692, 2016.

CASTRO, A. H. F.; ALVARENGA, A. A. DE; BARBO, J. P. R. A. D.; MANSUR, T. D. O. F.; PAULA, A. C. C. F. F. DE. Seasonal patterns of phenylalanine ammonia-lyase activity and total phenol and tannin contents in *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. **Ciência Florestal**, 27, 3, 1037-1048, 2017.

CENTRAL ANALÍTICA IQ-USP. **Espectrometria de massas – EM**. Disponível em: [http://ca.iq.usp.br/novo/paginas\\_view.php?idPagina=12](http://ca.iq.usp.br/novo/paginas_view.php?idPagina=12). Acesso em: 4 maio 2018.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, 55, 407, 2365-2384, 2004.

CHEN, B.; YANG, H.; SONG, W.; LIU, C.; XU, J.; ZHAO, W.; ZHOU, Z. Effect of N fertilization rate on soil alkali-hydrolyzable N, subtending leaf N concentration, fiber yield, and quality of cotton. **The Crop Journal**, 4, 4, 323–330, 2016.

CHEN, H. M.; LEE, M. J.; KUO, C. Y.; TSAI, P. L.; LIU, J. Y.; KAO, S. H. *Ocimum gratissimum* aqueous extract induces apoptotic signalling in lung adenocarcinoma cell A549. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 1-7, 2011.

CHEUKA, P.; MAYOKA, G.; MUTAI, P.; CHIBALE, K. The role of natural products in drug discovery and development against neglected tropical diseases. **Molecules**, 22, 1, 1-41, 2016.

CHIMNOI, N.; REUK-NGAM, N.; CHUYSINUAN, P.; KHLAYCHAN, P.; KHUNNAWUTMANOTHAM, N.; CHOKCHAICHAMNANKIT, D.; THAMNIYOM, W.; KLAYRAUNG, S.; MAHIDOL, C.; TECHASAKUL, S. Characterization of essential oil from *Ocimum gratissimum* leaves: antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. **Microbial Pathogenesis**, 118, 290–300, 2018.

CHIU, C. C.; HUANG, C. Y.; CHEN, T. Y.; KAO, S. H.; LIU, J. Y.; WANG, Y. W.; TZANG, B. S.; HSU, T. C. Beneficial effects of *Ocimum gratissimum* aqueous extract on rats with CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 1-9, 2012.

CHIU, Y. W.; CHAO, P. Y.; TSAI, C. C.; CHIOU, H. L.; LIU, Y. C.; HUNG, C. C.; SHIH, H. C.; LAI, T. J.; LIU, J. Y. *Ocimum gratissimum* is effective in prevention against liver fibrosis in vivo and in vitro. **The American Journal of Chinese Medicine**, 42, 4, 833–852, 2014.

CHIU, Y. W.; LO, H. J.; HUANG, H. J.; CHAO, P. Y.; HWANG, J. M.; HUANG, P. Y.; HUANG, S. J.; LIU, J. Y.; LAI, T. J. The antioxidant and cytoprotective activity of *Ocimum gratissimum* extracts against hydrogen peroxide-induced toxicity in human HepG2 cells. **Journal of Food and Drug Analysis**, 21, 3, 253-260, 2013.

CHO, J. C.; SHARMA, R. S.; SUTTON, D. A.; WIEDERHOLD, N. P.; SANDERS, C.; WICKES, B. L.; ESTRADA, S. J. Fungal arthritis secondary to *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Medical Microbiology Case Reports**, 2, 1, 1-4, 2015.

CHOI, Y. K.; CHO, G.-S.; HWANG, S.; KIM, B. W.; LIM, J. H.; LEE, J.-C.; KIM, H. C.; KIM, W.-K.; KIM, Y. S. Methyleugenol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation. **Free Radical Research**, 44, 8, 925–935, 2010.

CHOWDHARY, A.; KATHURIA, S.; AGARWAL, K.; SACHDEVA, N.; SINGH, P. K.; JAIN, S.; MEIS, J. F. Voriconazole-Resistant *Penicillium oxalicum*: an emerging pathogen in immunocompromised hosts. **Open Forum Infectious Diseases**, 1, 2, ofu029, 2014.

CHUDE, V. O.; OLAYIWOLA, S. O.; OSHO, A. O.; DAUDU, C. K. **Fertilizer use and management practices for crops in Nigeria**. 4rd ed. Abuja: Federal Ministry of Agriculture and Rural Development, 2012. 230 p.

CLAY, D. E.; TROOIEN, T. P. Understanding soil water and yield variability in precision farming. **Practical mathematics for precision farming**, 136-147, 2017.

COSENTINO, S. L.; PATAN`E, C.; SANZONE, E.; COPANI V.; FOTI, S. Effects of soil water content and nitrogen supply on the productivity of *Miscanthus×giganteus* Greef et Deu. in a Mediterranean environment. **Industrial Crops and Products**, 25, 75–88, 2007.

COSKUN, O. Separation techniques: chromatography. **Northern Clinics of Istanbul**, 3, 2, 156–60, 2016.

COSSANI, C. M.; SLAFER, G. A.; SAVIN, R. Co-limitation of nitrogen and water, and yield and resource-use efficiencies of wheat and barley. **Crop and Pasture Science**, 61, 10, 844, 2010.

COSTA, M. C. M. F.; SILVA, A. G.; SILVA, A. P. S.; LIMA, V. L. M.; BEZERRA-SILVA, P. C.; ROCHA, S. K. L.; NAVARRO, D. M. A. F.; CORREIA, M. T. S.; NAPOLEÃO, T. H.; SILVA, M. V.; PAIVA, P. M. G. Essential oils from leaves of medicinal plants of brazilian flora: chemical composition and activity against *Candida* species. **Medicines**, 4, 2, 27, 2017.

COSTA, V. B. S.; CORRÊA, P. G., DUTRA, M.; MARIA DAS GRAÇAS SANTOS DAS CHAGAS, M. G. S.; PIMENTEL, R. M. M.. Anatomia da folha e do caule de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) sob condições naturais. In: IX JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNANAMBUCO. Recife. **Resumos...** Recife: UFRPE, 2009.

COUTINHO, D. F.; DIAS, C. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; MARTINS, R. M.; SILVA, T. M. S.; DA-CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; CRAVEIRO, A. A. Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. **Journal of Essential Oil Research**, 19, 5, 482–484, 2007.

COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F.; SANTOS, K. K. A.; SANTOS, F. A. V.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SOUZA, T. M.; ANDRADE, J. C.; SOUZA, C. E. S.; TINTINO, S. R.; GUEDES, G. M. M.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; COSTA, J. G. M. Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Crotón campestris* A. and *Ocimum gratissimum* L. **Biomédica**, 31, 4, 608-612, 2011.

CUNHA, M. M. C.; GONDIM, R. S. D.; BONFIM, B. F.; BATALHA JUNIOR, N. J. P.; BARROSO, W. A.; VILANOVA, C. M. Perfil etnobotânico de plantas medicinais

comercializadas em feiras livres de São Luís, Maranhão, Brasil. **Scientia Plena**, 11, 12, 121202–1, 2015.

CURTIS, A. J.; GRAYLESS, C. C.; FALL, R. Simultaneous determination of cyanide and carbonyls in cyanogenic plants by gas chromatography-electron capture/photoionization detection. **The Analyst**, 127, 11, 1446–1449, 2002.

DAGENAIS, T. R. T.; KELLER, N. P. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive Aspergillosis. **Clinical Microbiology Review**, 22, 3, 447-465, 2009.

DASMADHU, K.; HARINDRAN, J. Antiarthritic potential of *Ocimum gratissimum* L. in collagen induced arthritic Sprague-Dawley rats. **Biomedicine e Aging Pathology**, 4, 3, 191–196, 2014.

DAVIDSON, A.; DA SILVA, D.; DEJONG, T. M. The phyllochron of well-watered and water deficit mature peach trees varies with shoot type and vigour. **AoB Plants**, 9, 5, 1-9, 2017.

DEEPA, B.; ANURADHA, C. V. Linalool, a plant derived monoterpene alcohol, rescues kidney from diabetes-induced nephropathic changes via blood glucose reduction. **Diabetologia Croatica**, 40, 121-137, 2011.

DENMEAD, O. T.; SHAW, R. H. Availability of soil water to plants as affected by soil moisture content and meteorological conditions. **Agronomy Journal**, 54, 385. 1962.

DESPINASSE, Y.; FIORUCCI, S.; ANTONCZAK, S.; MOJA, S.; BONY, A.; NICOLÈ, F.; BAUDINO, S.; MAGNARD, J.-L.; JULLIEN, F. Bornyl-diphosphate synthase from *Lavandula angustifolia*: a major monoterpene synthase involved in essential oil quality. **Phytochemistry**, 137, 24–33, 2017.

DESPREZ-LOUSTAU, M.; MARÇAIS, B.; NAGELEISEN, L.; PIOU, D.; VANNINI, A. Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. **Annals of Forest Science**, 63, 597–612, 2006.

DHAKAD, A. K.; PANDEY, V. V.; BEG, S.; RAWAT, J. M.; SINGH, A. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 98, 3, 833–848, 2018.

DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. **Medicines**, 3, 4, 25, 2016.

DINH, T. H.; WATANABE, K.; TAKARAGAWA, H.; NAKABARU, M.; KAWAMITSU, Y. Photosynthetic response and nitrogen use efficiency of sugarcane under drought stress conditions with different nitrogen application levels. **Plant Production Science**, 20, 4, 412–422, 2017.

DJEUSSI, D. E.; NOUMEDEM, J. A. K.; SEUKEP, J. A.; FANKAM, A. G.; VOUKENG, I. K.; TANKEO, S. B.; NKUETE, A. H. L.; KUETE, V. Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 13, 164, 1-8, 2013.

- DUDAREVA, N.; KLEMPIEN, A.; MUHLEMANN, J.K.; KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, 198, 1, 16–32, 2013.
- DUTRA, C. C.; PRADO, E. A. F.; PAIM, L. R.; SCALON, S. P. Q. Development of sunflower plants under different conditions of water supply. **Semina**, 33, 1, 2657-2668, 2012.
- EGBA, S. I.; OMODAMIRO, O. D.; OBIKE, J. C.; ALI, E. S. Influence on some female fertility hormonal response in wistar albino rats: possible contraceptive role for methanol leaf extract of *Ocimum gratissimum*? **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 7, 5, 889-898, 2015.
- EHSANIPOUR, A.; RAZMJOO, J.; ZEINALI, H. Effect of nitrogen rates on yield and quality of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) accessions. **Industrial Crops and Products**, 35, 121–125, 2012.
- ELIASU, B. K.; SOUNDY, P.; STEYN, J. M. High irrigation frequency and brief water stress before harvest enhances essential oil yield of rose-scented geranium (*Pelargonium capitatum* × *P. radens*). **HortScience**, 43, 500-504, 2008.
- EKUNWE, S. I. N.; HALL, S. M.; LUO, X.; WANG, H.; BEGONIA, G. B. Fractionated *Ocimum gratissimum* leaf extract inhibit prostate cancer (PC3•AR) cells growth by reducing androgen receptor and survivin levels. **Journal of Health Care for the Poor and Underserved**, 24, 4, 61–69, 2013.
- EL-DIN, A. A. E.; HENDAWY, S. F.; AZIZ, E. E.; OMER, E. A. Enhancing growth, yield and essential oil of caraway plants by nitrogen and potassium fertilizers. **International Journal of Academic Research**, 2, 3, 192–197, 2010.
- ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I. An overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health. **BioMed Research International**, 2017, 1–14, 2017.
- ELSHIBLI, S.; ELSHIBLI, E.; KORPELAINEN, H. Growth and photosynthetic CO<sub>2</sub> responses of date palm plants to water availability. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, 28, 1, 58-65, 2016.
- EMAMI BISTGANI, Z.; SIADAT, S. A.; BAKHSHANDEH, A.; GHASEMI PIRBALOUTI, A.; HASHEMI, M. Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. **The Crop Journal**, 5, 5, 407–415, 2017.
- ERNANI, P. R. **Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira**. Lages: Graphel, 2003. 76 p.
- EVANS, R. G.; SADLER, E. J. Methods and technologies to improve efficiency of water use. **Water Resources Research**, 44, 7, 1-7, 2008.
- EWANÉ, C. A.; LEPOIVRE, P.; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L.; LASSOIS, L. Involvement of phenolic compounds in the susceptibility of bananas to crown rot: a review. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, 16, 3, 393-404, 2012.



- FAGUNDES, J. D.; SANTIAGO, G.; MELLO, A. M.; BELLÉ, R. A.; STRECK, N. A. Crescimento, desenvolvimento e retardamento da senescência foliar em girassol de vaso (*Helianthus annuus* L.): fontes e doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, 37, 4, 987-993, 2007.
- FAHAD, S.; BAJWA, A. A.; NAZIR, U.; ANJUM, S. A.; FAROOQ, A.; ZOHAIB, A.; SADIA, S.; NASIM, W.; ADKINS, S.; SAUD, S.; IHSAN, M. Z.; ALHARBY, H.; WU, C.; WANG, D.; HUANG, J. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. **Frontiers in Plant Science**, 8, 1-16, 2017.
- FANDOHAN, P.; GNONLONFIN, B.; LALEYE, A.; GBENOU, J. D.; DARBOUX, R.; MOUDACHIROU, M. Toxicity and gastric tolerance of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Ocimum basilicum* in Wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**, 46, 7, 2493-2497, 2008.
- FARIA, T. de J.; FERREIRA, R. S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J. R. P. de; ISHIKAWA, N. K.; BARBOSA, A. de M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 49, 6, 867-871, 2006.
- FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S.M.A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, 29, 1, 185-212, 2009.
- FATHI, A.; TARI, D. B. Effect of drought stress and its mechanism in plants. **International Journal of Life Sciences**, 10, 1, 1-6, 2016.
- FÉLIX-SILVA, J.; TOMAZ, I. M.; SILVA, M. G.; SANTOS, K. S. C. R.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; CARVALHO, M. C. R. D.; SOARES, L. A. L.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. Identificação botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 14, 3, 548-555, 2012.
- FELTRIM, A. L. **Produtividade de melancia em função da adubação nitrogenada, potássica e população de plantas**. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2010.
- FENG, W.; LINDNER, H.; ROBBINS, N. E.; DINNENY, J. R. Growing out of stress: the role of cell- and organ-scale growth control in plant water-stress responses. **Plant Cell**, 28, 8, 1769-1782, 2016.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, 35, 6, 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, V. M.; MAGALHAES, P. C.; DURAES, F. O. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; PURCINO, A. A. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, 32, 1, 13-17, 2002.
- FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, 23, 4, 213-226, 2008.

FINKELSTEIN, R.. Absciscic acid synthesis and response. **The Arabidopsis Book**. 11, e0166, 2013.

FITS, L. van der; MEMELIN, J. ORCA3, a Jasmonate-Responsive Transcriptional Regulator of Plant Primary and Secondary Metabolism. **Science**, 289, 295-297, 2000.

FLORA DO BRASIL. Lamiaceae. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB23332>>. Acesso em: 26 Fev. 2018

FREIRE, A. L. O.; LEÃO, D. A. S.; MIRANDA, J. R. P. Dry matter and nutrients accumulation in *Gliricidia sepium* in response to water stress and phosphorus levels. **Semina Ciências Agrárias**, 33, 1, 19-26, 2012.

FREIRE, C. M. M.; MARQUES, M. O. M.; COSTA, M. Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**, 105, 1-2, 161–166, 2006.

GAKUYA, D.W.; ITONGA, S. M.; MBARIA, J. M.; MUTHEE, J. K.; MUSAU, J. K. Ethnobotanical survey of biopesticides and other medicinal plants traditionally used in Meru central district of Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, 145, 2, 547–553, 2013.

GALINDO, L. A.; de MORAES PULTRINI, A.; COSTA, M. Biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil. **Journal of Natural Medicines**, 64, 4, 436–441, 2010.

GAMA, E. V. G.; GARRIDO, M. S.; SILVA, F.; SOARES, A. C. F.; MARQUES, C. T. S. Produção de biomassa de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N.E.Br.] sob adubação com composto de capim elefante inoculado e sem inoculação de actinomicetos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 14, spe, 163-168, 2012.

GAZOLA, D.; ZUCARELI, C.; CAMARGO, M. C. Comportamento germinativo de sementes de cultivares de milho sob condições de hipóxia. **Científica**, 42, 3, 224–232, 2014.

GAVA, G. J. C; KÖLLN, O. T.; ARLANCH, A. B. Eficiência agrônômica do N-fertilizante em cana-de-açúcar relacionado à interação de nitrogênio e fósforo. **Pesquisa & Tecnologia**, 8, 2, 2011.

GBOLADE, A. A. Inventory of antidiabetic plants in selected districts of Lagos State, Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, 121, 1, 135–139, 2009.

GEORGE, S.; CHATURVEDI, P. A comparative study of the antioxidant properties of two different species of *Ocimum* of Southern Africa on alcohol-induced oxidative stress. **Journal of Medicinal Food**, 12, 5, 1154–1158, 2009.

GEORGE, S.; CHATURVEDI, P.; MOSEKI, B. A comparative study of the restorative effects of *Ocimum gratissimum* and *Ocimum canum* on alcohol induced hepatotoxicity in albino rats. **African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development**, 11, 7, 5614-5628, 2011.

GIONGO, J. L.; VAUCHER, R. A.; DA SILVA, A. S.; OLIVEIRA, C. B.; DE MATTOS, C. B.; BALDISSERA, M. D.; SAGRILLO, M. R.; MONTEIRO, S. G.; CUSTÓDIO, D. L.;

SOUZA DE MATOS, M.; SAMPAIO, P. T.; TEIXEIRA, H. F.; KOESTER, L. S.; DA VEIGA JUNIOR, V. F. Trypanocidal activity of the compounds present in Aniba canelilla oil against *Trypanosoma evansi* and its effects on viability of lymphocytes. **Microbial Pathogenesis**, 103, 13–18, 2017.

GLEADOW, R. M.; MØLLER, B. L. Cyanogenic glycosides: synthesis, physiology, and phenotypic plasticity. **Annual Review of Plant Biology**, 65, 1, 155–185, 2014.

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

GOMEZ-CADENAS, A.; TADEO, F. R.; TALON, M.; PRIMO-MILLO, E. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous abscisic acid accumulation in roots. **Plant Physiology**, 112, 401–408, 1996.

GONG, H.-D.; GENG, Y.-J.; YANG, C.; JIAO, D.-Y.; CHEN, L.; CAI, Z.-Q. Yield and resource use efficiency of *Plukenetia volubilis* plants at two distinct growth stages as affected by irrigation and fertilization. **Scientific Reports**, 8, 1, 1–14, 2018.

GONTIJO, D. C.; FIETTO, L. C.; LEITE, J. P. V. Avaliação fitoquímica e atividade antioxidante, antimutagênica e toxicológica do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 16, 4, 874–880, 2014.

GONZALEZ-DUGO, V.; DURAND, J. L.; GASTAL, F. Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 30, 3, 529–544, 2010.

GOVAHI, M.; GHALAVANDA, A.; NADJAFIB, F.; SOROOSHADEH, A. Comparing different soil fertility systems in sage (*Salvia officinalis*) under water deficiency. **Industrial Crops and Products**, 74, 20–27, 2015.

GRATIEN, A.; JOHNSON, S. N.; EZELL, M. J.; DAWSON, M. L.; BENNETT, R.; FINLAYSON-PITTS, B. J. Surprising formation of *p*-cymene in the oxidation of  $\alpha$ -pinene in air by the atmospheric oxidants OH, O<sub>3</sub>, and NO<sub>3</sub>. **Environmental Science & Technology**, 45, 7, 2755–2760, 2011.

GRIN-GLOBAL. **Taxon: *Ocimum gratissimum* L.** Disponível em: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=25483>. Acesso em: 24 nov 2016.

GU, M.; ROM, C. R.; ROBBINS, J. A.; OOSTERHUIS, D.M. Effect of water deficit on gas exchange, osmotic solutes, leaf abscission, and growth of four birch genotypes (*Betula* L.) under a controlled environment. **HortScience**, 42, 6, 1383–1391, 2007.

GUARRO, J.; SVIDZINSKI, T. E.; ZAROR, L.; FORJAZ, M. H.; GENÉ, J.; FISCHMAN, O. Subcutaneous hyalohyphomycosis caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Clinical Microbiology**, 36, 10, 3060–3065, 1998.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; SILVA, A. C. de L. Evapotranspiration and grain yield of upland rice as affected by water deficit. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 20, 5, 441–446, 2016.

GUINN, G. Water deficit and ethylene evolution by young cotton bolls. **Plant Physiology**, 57, p. 403-405, 1976.

GUPTA, A.; SHETH, N. R.; PANDEY, S.; YADAV, J. S.; JOSHI, S. V. Screening of flavonoids rich fractions of three Indian medicinal plants used for the management of liver diseases. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 25, 5, 485–490, 2015.

GUPTA, O. P.; KARKUTE, S. G.; BANERJEE, S.; MEENA, N. L.; DAHUJA, A. Contemporary understanding of miRNA-based regulation of secondary metabolites biosynthesis in plants. **Frontiers in Plant Science**, 8, 374, 2017.

GUPTA, V. K.; SINGH, J.; KUMAR, R.; BHANOT, A. Pharmacognostic and preliminary phytochemical study of *Ocimum gratissimum* Linn. (Family: Lamiaceae). **Asian Journal of Plant Sciences**, 10, 7, 365-369, 2011.

HANAOKA, H.; NODA, T.; SHIRANO, Y.; KATO, T.; HAYASHI, H.; SHIBATA, D.; TABATA, S.; OHSUMI, Y. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an Arabidopsis autophagy gene. **Plant Physiology**, 129, 3, 1181-1193, 2002.

HARPOLE, W. S.; NGAI, J. T.; CLELAND, E. E.; SEABLOOM, E. W.; BORER, E. T.; BRACKEN, M. E. S.; ELSER, J. J.; GRUNER, D. S.; HILLEBRAND, H.; SHURIN, J. B.; SMITH, J. E. Nutrient co-limitation of primary producer communities. **Ecology Letters**, 14, 9, 852–862, 2011.

HASSAN, F. A. S.; ALI, E. F. Impact of different water regimes based on class-A pan on growth, yield and oil content of *Coriandrum sativum* L. plant. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 13, 2, 155-161, 2014.

HAZZOUMI, Z.; MOUSTAKIME, Y.; HASSAN ELHARCHLI, E.; JOUTEI, K. A. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L.). **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 2, 1, 1-11, 2015.

HEDDEN, P.; SPONSEL, V.. A century of gibberellin research. **Journal of Plant Growth Regulation**, 34, 4, 740–760, 2015.

HEIDARI, M.; GOLPAYEGANI, A. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 11, 1, 57–61, 2012.

HERNÁNDEZ, N. B.; RUIZ, A. R.; PARRA, A. V. Evaluación tóxica y genotóxica del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinas**, 11, 1, 1-8, 2006.

HESSINI, K.; GHANDOUR, M.;ALBOUCHI, A.; SOLTANI, A.; WERNER, K. H.; ABDELLY, C. Biomass production, photosynthesis, and leaf water relations of *Spartina alterniflora* under moderate water stress. **Journal of Plant Research**, 121, 3, 311–318, 2008.

HIRATA, H.; OHNISHI, T.; WATANABE, N. Biosynthesis of floral scent 2-phenylethanol in rose flowers. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 80, 10, 1865–1873, 2016.

HOCAYEN, P.A.S.; PIMENTA, D.S. Extrato de plantas medicinais como carrapaticida de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 15, 4, I, 627-631, 2013.

HORVÁTH, G.; MOLNÁR, P.; BENCSIK, T. **Pharmacognosy 2**. Pécs: University of Pécs, 2014. 583 p.

HUCHELMANN, A.; BOUTRY, M.; HACHEZ, C. Plant glandular trichomes: natural cell factories of high biotechnological interest. **Plant Physiology**, 175, 1, 6–22, 2017.

HÜE, T.; CAUQUIL, L.; FOKOU, J. B.; DONGMO, P. M.; BAKARNGAVIA, I.; MENUT, C. Acaricidal activity of five essential oils of *Ocimum* species on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. **Parasitology Research**, 114, 1, 91-99, 2015.

HZOUNDA, J. B. F.; JAZET, P. M. D.; LAZAR, G.; RADUCANU, D.; CARAMAN, I.; BASSENE, E.; BOYOM, F. F.; LAZAR, I. M. Spectral and chemometric analyses reveal antioxidant properties of essential oils from four Cameroonian *Ocimum*. **Industrial Crops and Products**, 80, 101–108, 2016.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. **Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2013. 649 p.

IBIRONKE, G. F.; MODUPE, O. G. Non cholinergic dependent mechanism of *Ocimum gratissimum* induced neurobehavioural alterations in mice. **African Journal of Medicine and Medical Sciences**, 44, 3, 213-220, 2015.

IGBINOSA, E. O.; IDEMUDIA, O. G. Anti-vibrio potentials of acetone and aqueous leaf extracts of *Ocimum gratissimum* (Linn). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 15, 4, 743-750, 2016.

IHEKWEREME, C. P.; ANIEZUE, C. M.; ERHIRHIE, E. O.; OKAFOR, U. G. Preliminary evaluation of the anti-emetic activity of crude methanol extract and fractions of *Ocimum gratissimum*. **Journal of Developing Drugs**, 5, 1, 1000149, 2016.

IQBAL, N.; KHAN, N. A.; FERRANTE, A.; TRIVELLINI, A.; FRANCINI, A.; KHAN, M. I. R. Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. **Frontiers in Plant Science**, 8, 475, 2017.

ISHIWU, C. N.; UMENWANNE, C. P.; OBIEGBUNA, J. E.; UCHEGBU, N. N. In vitro assessment of anti bacterial effect of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Carica papaya* leaves. **International Journal of Applied Science and Technology**, 4, 1, 171-177, 2014.

IWEALA, E. E. J.; OBIDOA, O. Studies on some biochemical and histological changes associated with long term consumption of leaves of *Ocimum gratissimum* L. in male rats. **American Journal of Food Technology**, 5, 6, 376-384, 2010.

JABBARI, R.; DEHAGHI, M. A.; SANAVI, A. M. M.; AGAHI, K. Nitrogen and iron fertilization methods affecting essential oil and chemical composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.) medical plant. **Advances in Environmental Biology**, 5, 2, 433–438, 2011.

JIN, X.; YANG, G.; TAN, C.; ZHAO, C. Effects of nitrogen stress on the photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence, and sugar-nitrogen ratio in corn. **Scientific Reports**, 5, 9311, 1-9, 2015.

JOHNSON, J. M. F.; GESCH, R. W.; BARBOUR, N. W. Limited seed and seed yield response of calendula to applied nitrogen does not justify risk of environmental damage from high urea application rates. **Agriculture**, 8, 3, 40, 2018.

JOKELA, A.; BÄCK, J.; HUTTUNEN, S.; JALKANEN, R., 1995. Excess nitrogen fertilization and the structure of Scots-pine needles. **Forest Pathology**, 25, 2, 109–124, 1995.

JOSHI, R. Chemical composition, In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. sanctum* and their major constituents. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 75, 4, 457-461, 2013.

JOSHI, R.; SINGLA-PAREEK, S. L.; PAREEK, A. Engineering abiotic stress response in plants for biomass production. **Journal of Biological Chemistry**, 293, 14, 5035–5043, 2018.

KAMARAJ, C.; KAUSHIK, N. K.; MOHANAKRISHNAN, D.; ELANGO, G.; BAGAVAN, A.; ZAHIR, A. A.; RAHUMAN, A. A.; SAHAL, D. Antiplasmodial potential of medicinal plant extracts from Malaiyur and Javadhu hills of South India. **Parasitology Research**, 111, 2, 703–715, 2012.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A. Larvicidal and adulticidal potential of medicinal plant extracts from south India against vectors. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 3, 12, 948-953, 2010.

KAMATENESI-MUGISHA, M.; ORYEM-ORIGA, H.; ODYEK, O.; MAKAWITI, D. W. Medicinal plants used in the treatment of fungal and bacterial infections in and around Queen Elizabeth Biosphere Reserve, western Uganda. **African Journal of Ecology**, 46, 1, 90–97, 2008.

KAPLAN, M.; KALE, H.; KARAMAN, K.; UNLUKARA, A. Influence of different irrigation and nitrogen levels on crude oil and fatty acid composition of maize (*Zea mays* L.). **Grasas Y Aceites**, 68, 3, 207, 2017.

KARUPPIAH, V.; RANAGHAN, K. E.; LEFERINK, N. G. H.; JOHANNISSEN, L. O.; SHANMUGAM, M.; NÍ CHEALLAIGH, A.; BENNETT, N. J.; KEARSEY, L. J.; TAKANO, E.; GARDINER, J. M.; VAN DER KAMP, M. W.; HAY, S.; MULHOLLAND, A. J.; LEYS, D.; SCRUTTON, N. S. Structural basis of catalysis in the bacterial monoterpene synthases linalool synthase and 1,8-cineole synthase. **ACS Catalysis**, 7, 9, 6268–6282, 2017.

KAVANOVÁ, M.; LATTANZI, F. A.; SCHNYDER, H. Nitrogen deficiency inhibits leaf blade growth in *Lolium perenne* by increasing cell cycle duration and decreasing mitotic and post-mitotic growth rates. **Plant, Cell & Environment**, 31, 6, 727–737, 2008.

KEEGSTRA, K. Plant cell walls. **Plant Physiology**, 154, 2, 483–486, 2010.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 431 p.

KESHAVARZ, H.; MODARRES-SANAVY, S. A. M. Yield and oil content of mint under different nitrogen fertilizer treatments. **Notulae Scientia Biologicae**, 10, 1, 92, 2018.

KHAKDAN, F.; RANJBAR, M.; NASIRI, J.; AHMADI, F. S.; BAGHERI, A.; ALIZADEH, H. The relationship between antioxidant compounds contents and antioxidant enzymes under water-deficit stress in the three Iranian cultivars of basil (*Ocimum basilicum* L.) **Acta Physiologiae Plantarum**, 38, 9, 226-236, 2016.

KHALID, K. A. Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). **International Agrophysics**, 20, 289-296, 2006.

KHAN, S.; ANWAR, S.; KUAI, J.; ULLAH, S.; FAHAD, S.; ZHOU, G. Optimization of nitrogen rate and planting density for improving yield, nitrogen use efficiency, and lodging resistance in oilseed rape. **Frontiers in Plant Science**, 8, 1-9, 2017.

KHAN, S.; ANWAR, S.; KUAI, J.; NOMAN, A.; SHAHID, M.; DIN, M.; ALI, A.; ZHOU, G. Alteration in yield and oil quality traits of winter rapeseed by lodging at different planting density and nitrogen rates. **Scientific Reports**, 8, 1, 1-12, 2018.

KIEBER, J. J.; SCHALLER, G. E. Cytokinins. **The Arabidopsis Book**, 12, e0168, 2014.

KIM, K.-I.; CLAY, D. E.; CARLSON, C. G.; CLAY, S. A.; TROOIEN, T. Do Synergistic relationships between nitrogen and water influence the ability of corn to use nitrogen derived from fertilizer and soil? **Agronomy Journal**, 100, 3, 551, 2008.

KISANGAU, D. P.; LYARUU, H. V. M.; HOSEA, K. M.; JOSEPH, C. C. Use of traditional medicines in the management of HIV/AIDS opportunistic infections in Tanzania: a case in the Bukoba rural district. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 3, 1, 29, 2007.

KOLLN, O. T. **Interação entre os estresses de nitrogênio e disponibilidade hídrica no fracionamento isotópico de <sup>13</sup>C e na produtividade em soqueira de cana-de-açúcar**. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

KONG, L.; XIE, Y.; HU, L.; SI, J.; WANG, Z. Excessive nitrogen application dampens antioxidant capacity and grain filling in wheat as revealed by metabolic and physiological analyses. **Scientific Reports**, 7, 43363, 2017.

KORDI, S.; SAIDI, M.; GHANBARI, F. Induction of drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum* L) by salicylic acid. **International Journal of Agricultural and Food Research**, 2, 2, 18-26, 2013.

KOSMA, D. K.; BOURDENX, B.; BERNARD, A.; PARSONS, E. P.; LU, S.; JOUBES, J.; JENKS, M. A. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of Arabidopsis. **Plant Physiology**, 151, 4, 1918–1929, 2009.

KOUASSI, E. K.; OUATTARA, S.; SEGUIN, C.; FOURNEL, S; FRISCH, B. etude de quelques proprietes biologiques de *Ocimum gratissimum* L., une lamiaceae recoltee a Daloa (Côte d'Ivoire). **European Scientific Journal**, 14, 3, 1857 – 7881, 2018.

KOUBALA, B. B.; MIAFO, A. T.; BOUBA, D.; KAMDA, A. G. S.; KANSCI, G. Evaluation of insecticide properties of ethanolic extract from *Balanites aegyptiaca*, *Melia azedarach* and *Ocimum gratissimum* leaves on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Asian Journal of Agricultural Research**, 5, 5, 93-101, 2013.

KOUNINKI, H.; NGAMO, L. S. T.; HANCE, T.; NGASSOUM, M. B. Potential use of essential oils from local Cameroonian plants for the control of red flour weevil *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development**, 7, 5, 2007.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B. Induction of phenolic metabolites and physiological changes in chamomile plants in relation to nitrogen nutrition. **Food Chemistry**, 142, 334–341, 2014.

KOZLOWSKI, T. T. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology**, 17, 490–490, 1997.

KPADONOU-KPOVIESSI, B. G. H.; KPOVIESSI, S. D. S.; LADEKAN, E.Y.; GBAGUIDI, F.; FRÉDÉRICH, M.; MOUDACHIROU, M.; QUETIN-LECLERCQ, J.; ACCROMBESSI, G.C.; BERO, J. *In vitro* antitrypanosomal and antiplasmodial activities of crude extracts and essential oils of *Ocimum gratissimum* Linn from Benin and influence of vegetative stage. **Journal of Ethnopharmacology**, 155, 3, 1417–1423, 2014.

KUMAR, T. S.; SWAMINATHAN, V.; KUMAR, S. Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall.). **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, 8, 2, 86–95, 2009.

KUMAR, V.; SINHA, M.; BANERJEE, A.; MOHANTY, J. Antinociceptive activity of methanolic extract of *Ocimum gratissimum* (Labiata) on experimental animals. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 3, 3, 64-66, 2011.

KUŞÇU, H.; TURHAN, A.; ÖZMEN, N.; AYDINOL, P.; DEMIR, A. O. Response of red pepper to deficit irrigation and nitrogen fertigation. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 62, 10, 1396–1410, 2016.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, F. L. F.; LEAL-CARDOSO, J. H.; MORAIS, S. M.; DUARTE, G. P. Cardiovascular effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves in rats: role of the autonomic nervous system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 31, 4, 219–225, 2004.

LAM, K. C.; IBRAHIM, R. K.; BEHDAD, B.; DAYANANDAN, S. Structure, function, and evolution of plant O-methyltransferases. **Genome**, 50, 11, 1001–1013, 2007.

LARANJEIRA, L. T.; BENETT, C. G. S.; GOMES, I. S.; BENETT, K. S. S.; COSTA, E. Nitrogen fertilization in pea cultivars. **Científica**, 44, 3, 439-445, 2016.



LARIBI, B.; BETTAIEB, I.; KOUKIA, K.; SAHLIA, A.; MOUGOUA, A.; MARZOUK, B. Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. **Industrial Crops and Products**, 30, 372–379, 2009.

LATTANZIO, V. Phenolic Compounds: Introduction, in: **Natural Products**. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1543–1580, 2013.

LAWAL, O. A.; OGUNWANDE, I. A. Essential oils from the medicinal plants of Africa. In: KUETE, V. **Medicinal plant research in Africa: pharmacology and chemistry**. Elsevier, 2013. 916 p.

LEE, M. J.; CHEN, H. M.; TZANG, B. S.; LIN, C. W.; WANG, C. J.; LIU, J. Y.; KAO, S. H. *Ocimum gratissimum* aqueous extract protects H9c2 myocardial cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell apoptosis through akt signalling. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 1-8, 578060, 2011.

LEHMEIER, C. A.; WILD, M.; SCHNYDER, H. Nitrogen stress affects the turnover and size of nitrogen pools supplying leaf growth in a grass. **Plant Physiology**, 162, 4, 2095–2105, 2013.

LELIS, R. T. **Efeito de diferentes períodos de estresse hídrico sobre a capacidade fotossintética, o crescimento e o teor de óleo essencial em *Cymbopogon citratus* (Poaceae)**. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias Agropecuárias). Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacaze, 2014.

LEMO, J. de A.; PASSOS, X. S.; FERNANDES, O. de F.; PAULA, J. R. de; FERRI, P. H.; SOUZA, L. K. H. E.; LEMO, A. de A.; SILVA, M. do R. R. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100, 1, 55-58, 2005.

LETCAMO, W.; MARQUARD, R.; HOLZ, J.; GOSSELIN, A. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. **Angewandte Botanik**, 68, 83–88, 1994.

LETIZIA, C.; COCCHIARA, J.; LALKO, J.; API, A.. Fragrance material review on linalool. **Food and Chemical Toxicology**, 41, 7, 943–964, 2003.

LEWIS, A. The psychopathology of insight. **British Journal of Medical Psychology**, 14, 4, 332–348, 1934.

LI, P. C.; CHIU, Y. W.; LIN, Y. M.; DAY, C. H.; HWANG, G. Y.; PAI, P.; TSAI, F. J.; TSAI, C. H.; KUO, Y. C.; CHANG, H. C.; LIU, J. Y.; HUANG, C. Y. Herbal supplement ameliorates cardiac hypertrophy in rats with CCl<sub>4</sub>-induced liver cirrhosis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 1-9, 139045, 2012.

LI, R.; REDDY, V. A.; JIN, J.; RAJAN, C.; WANG, Q.; YUE, G.; LIM, C. H.; CHUA, N.-H.; YE, J.; SAROJAM, R. Comparative transcriptome analysis of oil palm flowers reveals an EAR-motif-containing R2R3-MYB that modulates phenylpropane biosynthesis. **BMC Plant Biology**, 17, 1, 219, 2017.

- LI, S.; BASHLINE, L.; LEI, L.; GU, Y. Cellulose synthesis and its regulation. **The Arabidopsis Book**, 12, e0169, 2014.
- LI, W.; XIONG, B.; WANG, S.; DENG, X.; YIN, L.; LI, H. Regulation effects of water and nitrogen on the source-sink relationship in potato during the tuber bulking stage. **PLoS One**, 11, 1, e0146877, 2016.
- LIMA, A. S.; MILHOMEM, M. N.; MONTEIRO, O. S.; ARRUDA, A. C. P.; DE CASTRO, J. A. M.; FERNANDES, Y. M. L.; MAIA, J. G. S.; COSTA-JUNIOR, L. M. Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, 117, 1, 59–65, 2018.
- LIMA, M. F. P.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, F. C. L.; PINTO, J. R. S.; SILVA, D.V. Weed growth and dry matter partition under water restriction. **Planta Daninha**, 34, 4, 701-707, 2016.
- LIN, C. C.; CHAO, P. Y.; SHEN, C. Y.; SHU, J. J.; YEN, S. K.; HUANG, C. Y.; LIU, J. Y. Novel target genes responsive to apoptotic activity by *Ocimum gratissimum* in human osteosarcoma cells. **The American Journal of Chinese Medicine**, 42, 3, 743–767, 2014.
- LINGHU, K.; LIN, D.; YANG, H.; XU, Y.; ZHANG, Y.; TAO, L.; CHEN, Y.; SHEN, X. Ameliorating effects of 1,8-cineole on LPS-induced human umbilical vein endothelial cell injury by suppressing NF- $\kappa$ B signaling in vitro. *European Journal of Pharmacology*, 789, 195–201, 2016.
- LJUNG, K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. **Development**, 140, 5, 943–950, 2013.
- LOPEZ, F. B.; BARCLAY, G. F. Plant anatomy and physiology. In: McCREATH, S. B.; DELGODA, R. **Pharmacognosy: fundamentals, applications and strategies**, 1<sup>a</sup>. ed. London: Academic Press, 2017. 738 p.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544 p.
- LUNA, M. C.; TUDELA, J. A.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; ALLENDE, A.; MARÍN, A.; GIL, M. I. Long-term deficit and excess of irrigation influences quality and browning related enzymes and phenolic metabolism of fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Postharvest Biology and Technology**, 73, 37–45, 2012.
- LUND, S. T.; STALL, R. E.; KLEE, H. J. Ethylene regulates the susceptible response to pathogen infection in tomato. **The Plant Cell**, 10, 3, 371-382, 1998.
- MAATALLAH, S.; NASRI, N.; HAJLAOUI, H.; ALBOUCHI, H.; ELAISSI, A. Evaluation changing of essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) under water deficit stress conditions. **Industrial Crops and Products**, 91, 170–178, 2016.
- MACEDO, F. S.; SOUZA, R. J. de; PEREIRA, G. M. Controle de superbrotamento e produtividade de alho vernalizado sob estresse hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41, 4, 629-635, 2006.

MACHADO, M.; FELIZARDO, C.; FERNANDES-SILVA, A. A.; NUNES, F. M.; BARROS, A. Polyphenolic compounds, antioxidant activity and l-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. “Cobrançosa” under different irrigation regimes. **Food Research International**, 51, 1, 412–421, 2013.

MADHU, K. das; HARINDRAN, J. Antiarthritic potential of *Ocimum gratissimum* L. in collagen induced arthritic Sprague-Dawley rats. **Biomedicine & Aging Pathology**, 4, 3, 191–196, 2014.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, 32, 3, 595–622, 2009.

MAIA, J. T. L. S.; BONFIM, F. P. G.; GUANABENS, R. E. M.; TRENTIN, R.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G.; FONTES, P. C. R. Omissão de nutrientes em plantas de pinhão-mansão cultivadas em solução nutritiva. **Revista Ceres**, 61, 5, 723–731, 2014.

MAILLARD, A.; DIQUÉLOU, S.; BILLARD, V.; LAINÉ, P.; GARNICA, M.; PRUDENT, M.; GARCIA-MINA, J. -M.; YVIN, J. -C.; OURRY, A. Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. **Frontiers in Plant Science**, 6, 1-15, 2015.

MANFIO, J. L.; BRUM JUNIOR, L. Desafios do desenvolvimento dos dossiês de registro de medicamentos fitoterápicos. **Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR**, 21, 1, 47-52, 2017.

MANISHA, K.; PANWAR, N. Morpho-pathological effects of isolated fungal species on human population. **Open Access Scientific Reports**, 1, 11, 1:521, 2012.

MANN, A. Phytochemical constituents and antimicrobial and grain protectant activities of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.) grown in Nigeria. **International Journal of Plant Research**, 2, 1, 51-58, 2012

MARCHESE, A.; ARCIOLA, C.; BARBIERI, R.; SILVA, A.; NABAVI, S.; TSETEGHO SOKENG, A.; IZADI, M.; JAFARI, N.; SUNTAR, I.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: a particular focus on p-cymene. **Materials (Basel)**, 10, 8, 947, 1-15, 2017.

MARINHO, C. R.; ZACARO, A. A.; VENTRELLA, M. C. Secretory cells in *Piper umbellatum* (Piperaceae) leaves: a new example for the development of idioblasts. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, 206, 12, 1052–1062, 2011.

MARTÍNEZ-EIXARCH, M.; ZHU, D.; CATALÁ-FORNER, M. del M.; PLA-MAYOR, E.; TOMÁS-NAVARRO, N. Water, nitrogen and plant density affect the response of leaf appearance of direct seeded rice to thermal time. **Rice Science**, 20, 1, 52–60, 2013.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Autophagy controls carbon, nitrogen, and redox homeostasis in plants. **Autophagy**, 12, 5, 896–897, 2016.

MATASYOH, L. G.; MATASYOH, J. C.; WACHIRA, F. N.; KINYUA, M. G.; MUIGAI, A. W. T.; MUKIAMA, T. K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil

of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. **African Journal of Biotechnology**, 6, 6, 760-765, 2007.

MATASYOH, L. G.; MATASYOH, J. C.; WACHIRA, F. N.; KINYUA, M. G.; MUIGAI, A. W. T.; MUKIAMA, T. K. Antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum gratissimum* L. from different populations of Kenya. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 5, 2, 187–193, 2008.

MTAKWEM-ANIEBO, C.; ONIANWA, O.; OKONKO, I. O. Effects of *Ocimum gratissimum* leaves on common dermatophytes and causative agent of *Pityriasis versicolor* in Rivers State, Nigeria. **Journal of Microbiology Research**, 2, 4, 108-113, 2012.

MCKIERNAN, A. B.; POTTS, B. M.; BRODRIBB, T. J.; HOVENDEN, M. J.; DAVIES, N. W.; MCADAM, S. A. M.; ROSS, J. J. RODEMANN, T.; O'REILLY-WAPSTRA, J. M. Responses to mild water deficit and rewatering differ among secondary metabolites but are similar among provenances within *Eucalyptus* species. **Tree Physiology**, 36, 2, 133–147, 2016.

MEIRA, M. R.; MELO, M. T. P.; MARTINS, E. R.; PINTO, M. J. S.; SANTANA, C. S. Crescimento vegetativo, produção de fitomassa e de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. sob diferentes lâminas de irrigação. **Ciência Rural**, 43, 5, 779-785, 2013.

MENEGHINI, A.; POCESCHI, N.; VENANZI, G.; TOMASELLI, P. B. Effect of nitrogen fertilization on photosynthetic rate, nitrogenous metabolites and  $\beta$ -asarone accumulation in triploid *Acorus calamus* L. leaves. **Flavour and Fragrance**, 13, 319-323, 1998.

MIAFO, A. T.; KOUBALA, B. B.; BOUBA, D.; KANSKI, G. Preservation of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds: incidence of ethanolic extract from *Balanites aegyptiaca*, *Melia azedarach* and *Ocimum gratissimum* leaves on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Asian Journal of Agricultural Research**, 6, 2, 62-68, 2014.

MILLANI, A. A.; ROSSATTO, D. R.; RUBIN FILHO, C. J.; KOLB, R. M. Análise de crescimento e anatomia foliar da planta medicinal *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) cultivada em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 12, 2, 127-134, 2010.

MIRHENDI, H.; GHIASIAN, A.; VISMER, H.; ASGARY, M.; JALALIZAND, N.; ARENDRUP, M.; MAKIMURA, K. Preliminary identification and typing of pathogenic and toxigenic *Fusarium* species using restriction digestion of ITS1-5.8S rDNA-ITS2 Region. **Iranian Journal of Public Health**, 39, 4, 35–44, 2010.

MOGHADDAM, M.; MEHDIZADEH, L. Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. In: GRUMEZESCU, A.; HOLBAN, A. M. **Soft Chemistry and Food Fermentation**. London: Academic Press, 2017. 548 p.

MOHIDIN, H.; HANAFI, M. M.; RAFII, Y. M.; ABDULLAH, S. N. A.; IDRIS, A. S.; MAN, S.; IDRIS, J.; SAHEBI, M. Determination of optimum levels of nitrogen, phosphorus and potassium of oil palm seedlings in solution culture. **Bragantia**, 74, 3, 247–254, 2015.

- MOHR, F. B. M.; LERMEN, C.; GAZIM, Z. C.; GONÇALVES, J. E.; ALBERTON, O. Antifungal activity, yield, and composition of *Ocimum gratissimum* essential oil. **Genetics and Molecular Research**, 16, 1, 2017.
- MOKHELE, B.; ZHAN, X.; YANG, G.; ZHANG, X. Review: Nitrogen assimilation in crop plants and its affecting factors. **Canadian Journal of Plant Science**, 92, 399–405, 2012
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, 27, 2, S4050-S4063, 2009.
- MORALES-OLMEDO, M.; ORTIZ, M.; SELLÉS, G. Effects of transient soil waterlogging and its importance for rootstock selection. **Chilean Journal of Agricultural Research**, 75, 45–56, 2015.
- MORE, T. A., KULKARNI, B. R., NALAWADE, M. L., ARVINDEKAR, A. U. Antidiabetic activity of linalool and limonene in streptozotocin- induced diabetic rat: a combinatorial therapy approach. **International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 6, 8, 159-163, 2014.
- MORSHEDELOO, M. R.; CRAKER, L. E.; SALAMI, A.; NAZERI, V.; SANG, H.; MAGGI, F. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. **Plant Physiology and Biochemistry**, 111, 119–128, 2017.
- MOURA, E. G.; OLIVEIRA, A. K. C.; COUTINHO, G.; PINHEIRO, K. M.; AGUIAR, A. C. F. Management of a cohesive tropical soil to enhance rootability and increase the efficiency of nitrogen and potassium use. **Soil Use and Management**, 28, 370–377, 2012.
- MOURA, E. G.; MOURA, N. G.; MARQUES, E. S.; PINHEIRO, K. M.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Evaluating chemical and physical quality indicators for a structurally fragile tropical soil. **Soil Use and Management**, 25, 4, 368–375, 2009.
- MULLER, B.; BOURDAIS, G.; REIDY, B.; BENCIVENNI, C.; MASSONNEAU, A.; CONDAMINE, P.; ROLLAND, G.; CONEJERO, G.; ROGOWSKY, P.; TARDIEU, F. Association of specific expansins with growth in maize leaves is maintained under environmental, genetic, and developmental sources of variation. **Plant Physiology**, 143, 278–290, 2007.
- MUELLER, N. D.; GERBER, J. S.; JOHNSTON, M.; RAY, D. K.; RAMANKUTTY, N.; FOLEY, J. A. Closing yield gaps through nutrient and water management. **Nature**, 490, 254–257, 2012.
- NACIF DE ABREU, I. N.; MAZZAFERA, P. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. **Plant Physiology and Biochemistry**, 43, 3, 241–248, 2005.
- NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A. F. N.; CORTEZ, D. A. G.; DIAS FILHO, B. P. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 94, 5, 675-678, 1999.

NANGIA-MAKKER, P.; TAIT, L.; SHEKHAR, M. P. V.; PALOMINO, E.; HOGAN, V.; PIECHOCKI, M. P.; FUNASAKA, T.; RAZ, A. Inhibition of breast tumor growth and angiogenesis by a medicinal herb: *Ocimum gratissimum*. **International Journal of Cancer**, 121, 4, 884–894, 2007.

NANGIA-MAKKER, P.; RAZ, T.; TAIT, L.; SHEKHAR, M. P. V.; LI, H.; BALAN, V.; MAKKER, H.; FRIDMAN, R.; MADDIPATI, K.; RAZ, A. *Ocimum gratissimum* retards breast cancer growth and progression and is a natural inhibitor of matrix metalloproteases. **Cancer Biology & Therapy**, 14, 5, 417–427, 2013.

NCUBE, B.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. Quality from the field: the impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. **South African Journal of Botany**, 82, 11–20, 2012.

NETO, F. R. G.; ALMEIDA, G. S. S. A.; JESUS, N. G.; FONSECA, M. R. Estudo Etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela Comunidade do Sisal no município de Catu, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 16, 4, 856–865, 2014.

NETO, J. J.; MACEDO, R. A. T. Efeitos do nitrato e amônio aplicados via foliar sobre a extrusão de  $H^+/OH^-$  na rizosfera e na nodulação do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). **Semioses**, 11, 1, 2017.

NGADZE, E.; ICISHAHAYO, D.; COUTINHO, T. A.; VAN DER WAALS, J. E. Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. **Plant Disease**, 96, 2, 186–192, 2012.

NGASSOUM, M. B.; ESSIA-NGANG, J. J.; TATSADJIEU, L. N.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; ADJOUDJI, O. Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. **Fitoterapia**, 74, 3, 284–287, 2003.

NGUEFACK, J.; DONGMO, J. B. L.; DAKOLE, C. D.; LETH, V.; VISMER, H. F.; TORP, J.; GUEMDJOM, E. F. N.; MBEFFO, M.; TAMGUE, O.; FOTIO, D.; ZOLLO, P. H. A.; NKENGFACK, A. E. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. **International Journal of Food Microbiology**, 131, 2-3, 151–156, 2009.

NGUEFACK, J.; TAMGUE, O.; DONGMO, J. B. L.; DAKOLE, C. D.; LETH, V.; VISMER, H. F.; AMVAM-ZOLLO, P. H.; NKENGFACK, A. E. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. **Food Control**, 23, 2, 377–383, 2012.

NGUEMTCHOUIN, M. G. M.; NGASSOUM, M. B.; CHALIER, P.; KAMGA, R.; NGAMO, L. S. T.; CRETIN, M. *Ocimum gratissimum* essential oil and modified montmorillonite clay, a means of controlling insect pests in stored products. **Journal of Stored Products Research**, 52, 57–62, 2013.

NGUYEN, P. M.; NIEMEYER, E. D. Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 18, 8685–91, 2008.

NICULCEA, M.; MARTINEZ-LAPUENTE, L.; GUADALUPE, Z.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; MORALES, F.; AYESTARÁN, B.; ANTOLÍN, M. C. Effects of water-deficit irrigation on hormonal content and nitrogen compounds in developing berries of *Vitis vinifera* L. cv. *Tempranillo*. **Journal of Plant Growth Regulation**, 32, 3, 551–563, 2013.

NIINEMETS, U. Uncovering the hidden facets of drought stress: secondary metabolites make the difference. **Tree Physiology**, 36, 2, 129–132, 2016.

NIST. Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH). **NIST Standard Reference Database**. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA, 2005.

NUGEO/UEMA. **Núcleo Geoambiental**. Universidade Estadual do Maranhão. Disponível em: < <http://www.nugeo.uema.br/>>. Acesso em: dez. 2016.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R. Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants? **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, 12, 5, 3-16, 2013.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R.; BOROWSKI, B. Changes in the content and chemical composition of sweet basil essential oil under the influence of fertilization of plants with nitrogen and potassium. **Annales UMCS, sec. DDD, Pharmacia** 24, 3, 15, 133–145, 2011.

NURZYŃSKA-WIERDAK, R.; ROŻEK, E.; DZIDA, K.; BOROWSKI, B. Growth response to nitrogen and potassium fertilization of common basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. **Acta Scientiarum Polonorum**, 11, 2, 275-288, 2012.

NWEZE, E. I.; EZE, E. E. Justification for the use of *Ocimum gratissimum* L in herbal medicine and its interaction with disc antibiotics. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, 9, 1, 37, 2009.

NWEZE, E. I.; EZE, E. E. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of the ethanolic leaf extract of the spice *Ocimum gratissimum* and its interaction with some disc antibiotics. **Australian Journal of Medical Herbalism**, 22, 2, 56-59, 2010.

NWINYI, O. C.; CHINEDU, N. S.; AJANI, O. O.; IKPO, C.O.; OGUNNIRAN, K. O. Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **African Journal of Food Science**, 3, 3, 77-81, 2009.

OBIANIME, A. W.; APRIOKU, J. S.; ESOMONU, C. T. O. Antifertility effects of aqueous crude extract of *Ocimum gratissimum* L. leaves in male mice. **Journal of Medicinal Plants Research**, 4, 9, 809-816, 2010.

OBOH, G.; RADDATZ, H.; HENLE, T. Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 88, 14, 2486–2492, 2008.

OCHWANGI, D. O.; KIMWELE, C. N.; ODUMA, J. A.; GATHUMBI, P. K.; MBARIA, J. M.; KIAMA, S. G. Medicinal plants used in treatment and management of cancer in Kakamega County, Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, 151, 3, 1040–1055, 2014.

- OFEM, O. E.; ANI, E. J.; ENO, A. E. Effect of aqueous leaves extract of *Ocimum gratissimum* on hematological parameters in rats. **Indian Journal of Basic and Applied Medical Research**, 2, 1, 38–42, 2012.
- OFFIAH, V. N.; CHIKWENDU, U. A. Antidiarrhoeal effects of *Ocimum gratissimum* leaf extract in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, 68, 1-3, 327–330, 1999.
- OGAWA, M.; REIS, V.; GODOY, P.; MENEZES, F. G.; ENOKIHARA, M.; TOMIMORI, J. Feohifomicosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria infectoria* en un paciente trasplantado renal. **Revista Chilena de Infectología**, 31, 4, 468-472, 2014.
- OGUANOB, N. I.; CHIJOKE, C. P.; GHASI, S. Anti-diabetic effect of crude leaf extracts of *Ocimum gratissimum* in neonatal streptozotocin-induced type-2 model diabetic rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 4, 5, 77-83, 2012.
- OKOLI, C.; EZIKE, A.; AGWAGAH, O.; AKAH, P. Anticonvulsant and anxiolytic evaluation of leaf extracts of *Ocimum gratissimum*, a culinary herb. **Pharmacognosy Research**, 2, 1, 36-39, 2010.
- OLABANJI, S. O.; ADEBAJO, A. C.; OMOBUWAJO, O. R.; CECCATO, D.; BUOSO, M. C.; MOSCHINI, G. PIXE analysis of some Nigerian anti-diabetic medicinal plants (II). **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, 318, A, 187–190, 2014.
- OLIVA, J.; STENLID, J.; MARTÍNEZ-VILALTA, J. The effect of fungal pathogens on the water and carbon economy of trees: implications for drought-induced mortality. **New Phytologist**, 203, 1028–1035, 2014.
- OLIVEIRA, D. M. T.; MACHADO, S. R. **Álbum didático de anatomia vegetal**. Botucatu: Instituto de Biociências de Botucatu, 2009. 65 p.
- OLIVEIRA, L. B. S.; BATISTA, A. H. M.; FERNANDES, F. C.; SALES, G. W. P.; NOGUEIRA, N. A. P. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 18, 2, 511-523, 2016.
- OLIVEIRA, R. A.; RAMOS, M. M.; DE AQUINO, L. A. Irrigation Management. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. **Sugarcane: agricultural production, bioenergy and ethanol**. 1<sup>a</sup>. ed. London: Academic Press, 492 p., 2015.
- OLIVEIRA, V. C. S.; MOURA, D. M. S.; LOPES, J. A. D.; ANDRADE, P. P. de; SILVA, N. H. da; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. Effects of essential oils from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Lippia sidoides* Cham., and *Ocimum gratissimum* L. on growth and ultrastructure of *Leishmania chagasi* promastigotes. **Parasitology Research**, 104, 5, 1053–1059, 2009.
- OLIVOTO, T.; NARDINO, M.; CARVALHO, I. R.; FOLLMANN, D. N.; SZARESKI, V. J.; FERRARI, M.; PELEGRIN, A. J.; SOUZA, V. Q. Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: a review. **African Journal of Agricultural Research**, 12, 2, 71–84, 2017.



OMER, E. A.; ELSAYED, A.-G. A.; EL-LATHY, A.; KHATTAB, M. E.; SABRA, A. S. Effect of the nitrogen fertilizer forms and time of their application on the yield of herb and essential oil from *Ocimum americanum* L. **Herba Polonica**, 54, 1, 34–46, 2008.

OMODAMIRO, O. D.; JIMOH, M. A. Antioxidant and antibacterial activities of *Ocimum gratissimum*. **American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics**, 3, 1, 10-19, 2015.

ONASANWO, S. A.; OMOLASO, B. O.; UKOHA, N. *Ocimum gratissimum* extract inhibits stimulated acid secretion by carbachol and induces gastric mucus secretion. **African Journal of Medicine and Medical Sciences**, 41, 35-38, 2012.

OPARAOCHA, E. T.; IWU, I.; AHANAKUC, J. E. Preliminary study on mosquito repellent and mosquitocidal activities of *Ocimum gratissimum* (L.) grown in eastern Nigeria. **Journal of Vector Borne Diseases**, 47, 1, 45-50, 2010.

ORAFIDIYA, L. O.; OYEDELE, A. O.; SHITTU, A. O.; ELUJOBA, A. A. The formulation of an effective topical antibacterial product containing *Ocimum gratissimum* leaf essential oil. **International Journal of Pharmaceutics**, 224, 1-2, 177–183, 2001.

ORJI, J. O.; NWUZO, A. C.; EJIKEUGWU, P. C.; UGBO, E. N.; MOSES, I. B.; NWAKAEZE, E. A.; NWANKWO, C. P. Antifungal activities of *Ocimum gratissimum* and *Gongronema latifolium* leaves on *Colletotrichum* species isolated from spoilt tomatoes. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention**, 4, 5, 42-45, 2015.

ORMEÑO, E.; BALDY, V.; BALLINI, C.; FERNANDEZ, C. Production and diversity of volatile terpenes from plants on calcareous and siliceous soils: effect of soil nutrients. **Journal of Chemical Ecology**, 34, 1219–1229, 2008.

ORMEÑO, E.; FERNANDEZ, C. Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. **Current Bioactive Compounds**, 8, 1, 71–79, 2012.

ORMEÑO, E.; GOLDSTEIN, A.; NIINEMETS, Ü. Extracting and trapping biogenic volatile organic compounds stored in plant species. **Trends in Analytical Chemistry**, 30, 978–989, 2011.

OSUAGWU, G. G. E.; EDEOGA, H. O.; OSUAGWU, A. N. The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin potential of the leaves of *Ocimum gratissimum* L. **Recent Research in Science and Technology**, 2, 27-33, 2010.

ÖZEKER, E. Phenolic compounds and their importance. **Journal of Aegean Agricultural Research Institute**, 9, 2, 114-124, 1999.

OZTURK, A.; UNLUKARA, A.; IPEK, A.; GURBUZ, B. Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). **Journal of Botany**, 36, 787-792, 2004.

PÁDUA, R. A. F. de; MACHINSKI JUNIOR, M. Aspectos toxicológicos e ocorrência de patulina em suco de maçã. **Semina Ciências Agrárias**, 26, 4, 535-542, 2005.

- PALERMO, F. H.; TEIXEIRA, S. P.; MANSANO, V. F.; LEITE, V. G.; RODRIGUES, T. M. Secretory spaces in species of the clade Dipterygeae (Leguminosae, Papilionoideae). **Acta Botanica Brasilica**, 31, 3, 374–381, 2017.
- PALMER-YOUNG, E. C.; VEIT, D.; GERSHENZON, J.; SCHUMAN, M. C. The sesquiterpenes(e)- $\beta$ -farnesene and (e)- $\alpha$ -bergamotene quench ozone but fail to protect the wild tobacco *Nicotiana attenuata* from ozone, UVB and drought stresses. **PLoS One**, 10, 6, 1-22, 2015.
- PANDEY, A. K.; SINGH, P.; TRIPATHI, N. N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 4, 9, 682–694, 2014.
- PASSOS, M.G.; CARVALHO, H.; WIEST, J.M. Inibição e inativação *in vitro* de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. (“alfavacão”, “alfavaca”, “alfavaca-cravo”) - *Labiatae* (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 11, 1, 71-78, 2009.
- PASTOR, F. J.; GUARRO, J. Alternaria infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. **Clinical Microbiology and Infection**, 14, 8, 734-746, 2008.
- PAULA-FREIRE, L. I. G.; ANDERSEN, M. L.; MOLSKA, G. R.; KÖHN, D. O.; CARLINI, E. L. A. Evaluation of the antinociceptive activity of *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) essential oil and its isolated active principles in mice. **Phytotherapy Research**, 27, 8, 1220–1224, 2013.
- PAULA-FREIRE, L. I. G.; ANDERSEN, M. L.; GAMA, V. S.; MOLSKA, G. R.; CARLINI, E. L. A. The oral administration of trans-caryophyllene attenuates acute and chronic pain in mice. **Phytomedicine**, 21, 3, 356–362, 2014.
- PAULA-FREIRE, L. I. G.; MOLSKA, G. R.; ANDERSEN, M. L.; CARLINI, E. L. A. *Ocimum gratissimum* essential oil and its isolated compounds (eugenol and myrcene) reduce neuropathic pain in mice. **Planta Medica**, 82, 3, 211–216, 2015.
- PAYYAVULA, R. S.; NAVARRE, D. A.; KUHL, J. C.; PANTOJA, A.; PILLAI, S. S. Differential effects of environment on potato phenylpropanoid and carotenoid expression. **BMC Plant Biology** 12, 39, 2012.
- PELAH, D.; SHOSEYOV, O.; ALTMAN, A.; BARTELS, D. Water-stress response in aspen (*Populus tremula*): differential accumulation of dehydrin, sucrose synthase, gapdh homologues, and soluble sugars. **Journal of Plant Physiology**, 151, 1, 96-100, 1997.
- PEÑA-ESTÉVEZ, M. E.; GÓMEZ, P. A.; ARTÉS, F.; AGUAYO, E.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B.; GALINDO, A.; TORECILLAS, A.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F. Changes in bioactive compounds and oxidative enzymes of fresh-cut pomegranate arils during storage as affected by deficit irrigation and postharvest vapor heat treatments. **Food Science and Technology International**, 22, 8, 665–676, 2016.
- PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27, 3, 624-632, 2007.

PEREIRA, R. C. A.; MOREIRA, A. L. M. **Manjeriço: cultivo e utilização**. Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2011. 31 p.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. **Revista Saúde Pública**, 38, 2, 326-328, 2004.

PETROPOULOS, S. A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M. G.; PASSAM, H. C. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. **Scientia Horticulturae**, 115, 4, 393-397, 2008.

PHIMCHAN, P.; CHANTHAI, S.; BOSLAND, P. W.; TECHAWONGSTIEN, S. Enzymatic changes in phenylalanine ammonia-lyase, cinnamic-4-hydroxylase, capsaicin synthase, and peroxidase activities in capsicum under drought stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, 29, 7057-7062, 2014.

PICKARD, W. F. Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. **New Phytologist**, 177, 877-888, 2008.

PIECHULLA, B.; BARTELT, R.; BROSEMANN, A.; EFFMERT, U.; BOUWMEESTER, H.; HIPPAUF, F.; BRANDT, W. The  $\alpha$ -terpineol to 1,8-cineole cyclization reaction of tobacco terpene synthases. **Plant Physiology**, 172, 4, 2120-2131, 2016.

PINCELLI, T. P. H.; BRANDT, H. R. C.; MOTTA, A. L.; MACIEL, F. V. R.; CRIADO, P. R. Fusariose em paciente imunocomprometido: sucesso terapêutico com voriconazol. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 83, 4, 331-334, 2008.

PINTO, D. A.; MANTOVANI, E. C.; MELO, E. D. C.; SEDIYAMA, G. C.; VIEIRA, G. H. S. Produtividade e qualidade do óleo essencial de capim-limão, *Cymbopogon citratus*, DC., submetido a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 16, 1, 54-61, 2014.

POORTER, H.; NIKLAS, K. J.; REICH, P. B.; OLEKSYN, J.; POOT, P.; MOMMER, L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. **New Phytologist**, 193, 1, 30-50, 2012.

POPOVIĆ, B. M.; ŠTAJNER, D.; ŽDERO-PAVLOVIĆ, R.; TUMBAS-ŠAPONJAC, V.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J.; ORLOVIĆ, S. Water stress induces changes in polyphenol profile and antioxidant capacity in poplar plants (*Populus* spp.). **Plant Physiology and Biochemistry**, 105, 242-250, 2016.

PORTYCHOVÁ, L.; SCHUG, K. A. Instrumentation and applications of electrochemistry coupled to mass spectrometry for studying xenobiotic metabolism: a review. **Analytica Chimica Acta**, 993, 1-21, 2017.

PORZSOLT-FRANZ, F.; GALITO, N.; TOLEDO-ARRUDA, A.; THOMAZ, T.; MORAES, C.; GUERRA, T.; LEÃO, M.; MIGOWSKI, A.; SILVA, A. R. A.; WEISS, C. Efficacy and effectiveness trials have different goals, use different tools, and generate different messages. **Pragmatic and Observational Research**, 6, 47-54, 2015.

- POUNDER, J. I.; SIMMON, K. E.; BARTON, C. A.; HOHMANN, S. L.; BRANDT, M. E.; PETTI, C. A. Discovering potential pathogens among fungi identified as nonsporulating molds. **Journal of Clinical Microbiology**, 45, 2, 568–571, 2007.
- PRADHAN, J.; SAHOO, S. K.; LALOTRA, S.; SARMA, R. S. Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. **International Journal of Plant Sciences**, 12, 2, 309–313, 2017.
- PRASANNABALAJI, N.; MURALITHARAN, G.; SIVANANDAN, R. N.; KUMARAN, S.; PUGAZHVENDAN, S. R. Antibacterial activities of some Indian traditional plant extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, 2, 1, S291–S295, 2012.
- PRATA, P. S.; MOGOLLÓN, N. G. S.; AUGUSTO, F. Técnicas Cromatográficas Multidimensionais na Investigação de Metabólitos Secundários. **Scientia Chromatographica**, 8, 4, 209–229, 2016.
- PRAVUSCHI, P. R.; MARQUES, P. A. A.; RIGOLIN, B. H. M.; SANTOS, A. C. P. Efeito de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, 32, 4, 687–693, 2010.
- PRIETO, S. G. A.; PEREA, V. J. A.; ORTIZ, L. C. C. Microbial biotransformation of (R)-(+)-limonene by *Penicillium digitatum* DSM 62840 for producing (R)-(+)-terpineol. **Vitae**, 18, 63–172, 2011.
- PRINS, C. L.; VIEIRA, I. J. C.; FREITAS, S. P. Growth regulators and essential oil production. **Brazilian Society of Plant Physiology**, 22, 2, 91–102, 2010.
- PUTTANNA, K.; PRAKSA RAO, E. V. S.; SINGH, R.; RAMESH, S. Influence of nitrogen and potassium fertilization on yield and quality of rosemary in relation to harvest number. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 41, 190–198, 2010.
- QUAYE, A. K.; LARYEA, K. B.; ABENEY-MICKSON, S. Soil water and nitrogen interaction effects on maize (*Zea mays* L.) grown on a vertisol. **Jornal of Forestry, Horticulture and Soil Science**, 3, 1, 1–11, 2009.
- RAHMAN, A. A.; RAZAKSHAARI, A.; AHMAD, S.; MAMAT, A. Water stress affect total phenolic content and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* leaf and stem. **Advances in Environmental Biology**, 8, 22, 82–86, 2014.
- RAIJ, B. VAN; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1996. 285 p.
- RAM, D.; RAM, M.; SINGH, R.. Optimization of water and nitrogen application to menthol mint (*Mentha arvensis* L.) through sugarcane trash mulch in a sandy loam soil of semi-arid subtropical climate. **Bioresource Technology**, 9, 7, 886–893, 2006.
- RAO, E. V. S. P.; PUTTANA, K.; RAO, R. S. G.; RAMESH, S. Nitrogen and potassium nutrition of French basil (*Ocimum basilicum* Linn.). **Journal of Spices and Aromatic Crops**, 16, 92, 99–105, 2007.

RASSEM, H. H. A.; NOUR, A. H.; YUNUS, R. M. Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 10, 16, 117-127, 2016.

RAYMUNDO, C. E. V. (org.) **VII Botânica no Inverno 2017**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2017. 332 p.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria, 2015.

REDOVNIKOVIC, I. R.; GLIVETIC, T.; DELONGA, K.; VORKAPIC-FURAC, J. Glucosinolates and their potential role in plant. **Periodicum Biologorum**, 110, 4, 297–309, 2008.

REGO, T. J. A. S. **Fitogeografia das plantas medicinais do Maranhão**. São Luís: EDUFMA, 2008. 146 p.

REHMAN, R.; HANIF, M. A.; MUSHTAQ, Z.; MOCHONA, B.; QI, X. Biosynthetic factories of essential oils: the aromatic plants. **Natural Products Chemistry & Research**, 4, 4, 1-11, 2016.

REIMBERG, M. C. H.; COLOMBO, R.; YARIWAKE, J. H. Multivariate analysis of the effects of soil parameters and environmental factors on the flavonoid content of leaves of *Passiflora incarnata* L., Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 19, 4, 853-859, 2009.

REN, H.; XU, Z.; HUANG, J.; CLARK, C.; CHEN, S.; HAN, X. Nitrogen and water addition reduce leaf longevity of steppe species. **Annals of Botany**, 107, 145–155, 2011.

REN, H.; XU, Z.; ZHANG, W.; JIANG, L.; HUANG, J.; CHEN, S.; WANG, L.; HAN, X. Linking ethylene to nitrogen-dependent leaf longevity of grass species in a temperate steppe. **Annals of Botany**, 112, 1879–1885, 2013.

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

RIAR, A.; GILL, G.; MCDONALD, G. Effect of post-sowing nitrogen management on co-limitation of nitrogen and water in canola and mustard. **Field Crops Research**, 198, 23–31, 2016.

RIBEIRO, A. S.; BATISTA, E. D. S.; DAIRIKI, J. K.; CHAVES, F. C. M.; INOUE, L. A. K. A. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinxã. **Acta Scientiarum**, 38, 1, 1-7, 2016.

RIBES, J. A.; VANOVER-SAMS, C. L.; BAKER, D. J. Zygomycetes in human disease. **Clinical Microbiology Reviews**, 13, 2, 236–301, 2000.

RIOBA, N. B.; ITULYA, F. M.; SAIDI, M.; DUDAI, N.; BERNSTEIN, N. Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of

sage (*Salvia officinalis* L.). **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2, 21–29, 2015.

RIOS, M. N. S.; PASTORE JR., F. **Plantas da Amazônia**: 450 espécies de uso geral. Brasília: UNB, 2011. 3140 p.

RIVERO, R. M.; KOJIMA, M.; GEPSTEIN, A.; SAKAKIBARA, H.; MITTLER, R.; GEPSTEIN, S.; BLUMWALD, E. Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 104, 49, 19631–19636, 2007.

ROCHA CALDAS, G. F.; OLIVEIRA, A. R. DA S.; ARAÚJO, A. V.; LAFAYETTE, S. S. L.; ALBUQUERQUE, G. S.; SILVA-NETO, J. DA C.; COSTA-SILVA, J. H.; FERREIRA, F.; COSTA, J. G. M. DA; WANDERLEY, A. G. Gastroprotective mechanisms of the monoterpene 1,8-cineole (eucalyptol). **PLoS One**, 10, 8, 1-17, 2015.

ROCHA JUNIOR, A. F.; PINTO MOUSINHO, F. E.; ARAÚJO SOARES, C.; GOMES, E. R.; COSTA VELOSO, M. E. C.; SALVIANO, A. A. C. Resposta produtiva do meloeiro sob diferentes lâminas de água e doses de nitrogênio. **Científica**, 44, 2, 217-225, 2016.

RODRIGUES, A. P.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela comunidade de Inhamã, Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 16, 3, 721-730, 2014.

RODRIGUES, É. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; SCAPIM, C. A.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. **Acta Scientiarum Agronomy**, 28, 2, 213-220, 2006.

RODRIGUES, M. V. N.; REHDER, V. L. G.; SARTORATTO, A.; BOAVENTURA JÚNIOR, S.; SILVA, A. S. O emprego de técnicas hifenadas no estudo de plantas medicinais. **MultiCiência**, 1-14, 2006.

RODRIGUES, T. M.; TEIXEIRA, S. P.; MACHADO, S. R. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae–Caesalpinioideae). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, 206, 6, 585–594, 2011.

RUAN, L.; WEI, K.; WANG, L.; CHENG, H.; ZHANG, F.; WU, L.; BAI, P.; ZHANG, C. Characteristics of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  fluxes in tea (*Camellia sinensis*) roots measured by scanning ion-selective electrode technique. **Scientific Reports**, 6, 1, 1-8, 2016.

SADRAS, V. O.; HAYMAN, P. T.; RODRIGUEZ, D.; MONJARDINO, M.; BIELICH, M.; UNKOVICH, M.; MUDGE, B.; WANG, E. Interactions between water and nitrogen in Australian cropping systems: physiological, agronomic, economic, breeding and modelling perspectives. **Crop and Pasture Science**, 67, 10, 1019-1053, 2016.

SAEIO, K.; CHAIYANA, W.; OKONOGI, S. Antityrosinase and antioxidant activities of essential oils of edible Thai plants. **Drug Discoveries & Therapeutics**, 5, 3, 144-149, 2011.

SAHA, S.; DHAR, T. N.; SENGUPTA, C.; GHOSH, P. Biological activities of essential oils and methanol extracts of five *Ocimum* species against pathogenic bacteria. **Czech Journal of Food Sciences**, 31, 2, 194–202, 2013.

SAID-AL AHL, H. A. H.; OMER, E. A.; NAGUIB, N.Y. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. **International Agrophysics**, 23, 3, 269–275, 2009.

SAITOH, K.; DOI, T.; KURODA, T. Effects of nitrogen fertilization on dark-respiration and growth efficiency of field-grown rice plants. **Plant Production Science**, 3, 3, 238–242, 2000.

SALAZAR, C.; HERNANDEZ, C.; PINO, M. T. Plant water stress: associations between ethylene and abscisic acid response. **Chilean Journal of Agricultural Research**, 75, 71–79, 2015.

SALEMCITY, A. J.; OLADIMEJI, O.; UKWEDEH, O. E.; OLAJUYIN, A. M.; OOLORUNSOGO, O. O. Methanol extract of *Ocimum gratissimum* leaves modulates the liver and kidney functions in CCl<sub>4</sub> – induced hepatotoxicity in albino rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 5, 2, 36–41, 2014.

SANGOI, L.; ENDER, M.; GUIDOLIN, A. F.; ALMEIDA, M. L. de; KONFLANZ, V. A. Nitrogen fertilization impact on agronomic traits of maize hybrids released at different decades. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 36, 5, 757–764, 2001.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, 34, 1, 3–21, 2001.

SANGWAN, R. S.; FAROOQI, A. H. A.; BANSAL, R. P.; SINGH-SANGWAN, N. Interspecific variation in physiological and metabolic responses of five species of *Cymbopogon* to water stress. **Journal of Plant Physiology**, 142, 5, 618–622, 1993.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; NETO, O. G. R. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém: Embrapa, 2004. 6 p.

SANTOS, M. S.; SOUZA, L. S.; COSTA, C. A. S.; COSTA, L. C. B.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, D. C. Effects of water deficit on morphophysiology, productivity and chemical composition of *Ocimum africanum* Lour (Lamiaceae). **African Journal of Agricultural Research**, 11, 21, 1924–1934, 2016.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Estresse hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2, 3, 287–294, 1998.

SANTOS, S. N. **Estudo anatômico e histoquímico de folhas de *Ocimum gratissimum* L.** 28 f. Monografia (Faculdade de Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, São Paulo, 2013.

SARKIC, A.; STAPPEN, I. Essential oils and their single compounds in cosmetics—a critical review. **Cosmetics**, 5, 1, 1–21, 2018.

- SCAGEL, C. F.; BI, G.; FUCHIGAMI, L. H.; REGAN, R. P. Effects of irrigation frequency and nitrogen fertilizer rate on water stress, nitrogen uptake, and plant growth of container-grown *Rhododendron*. **HortScience**, 46, 12, 1598–1603, 2011.
- SCALON, S. D. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. de M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, 21, 4, 655-662, 2011.
- SCHERTL, P.; DANNE, L.; BRAUN, H.-P. 3-Hydroxyisobutyrate dehydrogenase is involved in valine and isoleucine degradation in *A. thaliana*. **Plant Physiology**, 00649, 2017.
- SCHULTZ, E.; DESUTTER, T.; SHARMA, L.; ENDRES, G.; ASHLEY, R.; BU, H.; MARKELL, S.; KRAKLAU, A.; FRANZEN, D. Response of sunflower to nitrogen and phosphorus in North Dakota. **Agronomy Journal**, 11, 2, 685, 2018.
- SEIGLER, D. S. **Plant Secondary Metabolism**. Springer US, Boston, MA, 1998. 759 p.
- SEYFRIED, M.; SOLDERA-SILVA, A.; BOVO, F.; STEVAN-HANCKE, F. R.; MAURER, J. B. B.; ZAWADZKI-BAGGIO, S. F. Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 18, 1, 201–214, 2016.
- SHAFII, S. M.; DONATE, G.; MANNARI, R. J.; PAYNE, W. G.; ROBSON, M. C. Diagnostic dilemmas: cutaneous fungal bipolaris infection. **Wounds**, 18, 1, 19-24, 2006.
- SHARMA, V.; JOSHI, A.; DUBEY, B. K. Comparative pharmacognostical and phytochemical evaluation (leaf) of different species of *Ocimum*. **International Journal of Phytopharmacy**, 1, 2, 43-49, 2011.
- SHARMA, S.; KUMAR, R. Effect of nitrogen on growth, biomass and oil composition of clary sage (*Salvia sclarea* Linn.) under mid hills of north western Himalayas. **Journal of Natural Products and Resources**, 3, 1, 79–83, 2012.
- SHAW, J. J.; BERBASOVA, T.; SASAKI, T.; JEFFERSON-GEORGE, K.; SPAKOWICZ, D. J.; DUNICAN, B. F.; PORTERO, C. E.; NARVÁEZ-TRUJILLO, A.; STROBEL, S. A. Identification of a fungal 1,8-cineole synthase from *Hypoxylon* sp. with specificity determinants in common with the plant synthases. **Journal of Biological Chemistry**, 290, 13, 8511–8526, 2015.
- SHITTU, S. T.; OYEYEMI, W. A.; LASISI, T. J.; SHITTU, S. A.; LAWAL, T. T.; OLUJOBI, S. T. Aqueous leaf extract of *Ocimum gratissimum* improves hematological parameters in alloxaninduced diabetic rats via its antioxidant properties. **International Journal of Applied and Basic Medical Research**, 6, 2, 96-100, 2016.
- SIDDIQUE, A. B.; MIZANUR RAHMAN, S. M.; HOSSAIN, M. A. Chemical composition of essential oil by different extraction methods and fatty acid analysis of the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Arabian Journal of Chemistry**, 9, S1185–S1189, 2016.
- SIFOLA, M. I.; BARBIERI, G. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. **Scientia Horticulturae**, 108, 408–413, 2006.



SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. V.; JÚNIOR, C. F. C. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, 33, 1853-1860, 2009.

SILVA, A. C. O.; ABREU LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, 20, 1, 381-388, 2016.

SILVA, C. G.; MARINHO, M. G. V.; LUCENA, M. F. A.; COSTA, J. G. M. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 17, 1, 133-142, 2015.

SILVA, D. F.; ALCÂNTARA, C. R. Estresse hídrico na Região Nordeste: variabilidade espaço-temporal. **Unopar Científica Ciências Exatas e Tecnológicas**, 8, 1, 45-51, 2009.

SILVA, E. V.; VIDOTTI, C. Busca de informação sobre medicamentos: como separar o joio do trigo?. **Boletim Farmacoterapêutica**, XIII, 1-3, 2008.

SILVA, L. L.; HELDWEIN, C. G.; REETZ, L. G. B.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C. A.; HEINZMANN, B. M. Composição química, atividade antibacteriana *in vitro* e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20, 5, 700-705, 2010.

SILVA, M. B. R.; FERNANDES, P. D.; NETO, J. D.; NERY, A. R.; RODRIGUES, L. N.; VIÉGAS, R. A. Crescimento e produção do pinhão-mansão irrigado com água residuária sob condições de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 15, 6, 621-629, 2011.

SILVA, W. A.; FAGUNDES, N. C. A.; COUTINHO, C. A.; SOARES, A. C. M.; CAMPOS, P. V.; FIGUEIREDO, L. S. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de São João da Ponte-MG. **Revista de Biologia e Farmácia**, 7, 1, 122-131, 2012.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S.; COSTA JUNIOR, E. F. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, 8,15; 2038-2052, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.) **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 502 p.

SIMON, J. E.; REISS-BUBENHEIM, D.; JOLY, R. J.; CHARLES, D. J. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. **Journal of Essential Oil Research**, 4, 1, 71-75, 1992.

SINGH, M. Effect of irrigation and nitrogen on herbage, oil yield and water use of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) on alfisols. **Journal of Agricultural Science**, 132, 201-206, 1999.

SINGH, R. Chemotaxonomy: a tool for plant classification. **Journal of Medicinal Plants Studies**, 4, 2, 90-93, 2016.

SINGH, M.; KHAN, M. M. A.; NAEEM, M. Effect of nitrogen on growth, nutrient assimilation, essential oil content, yield and quality attributes in *Zingiber officinale* Rosc. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 15, 2, 171–178, 2016.

SINGH, B.; SHARMA, R. A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. **3 Biotech**, 5, 2, 129–151, 2015.

SINGH-SANGWAN, N.; ABAD-FAROOQI, A. H.; SINGH-SANGWAN, R. Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. **New Phytologist**, 128, 1, 173–179, 1994.

SIROUSMEHR, A.; ARBABI, J.; ASGHARIPOUR, M. R. Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). **Advances in Environmental Biology**, 8, 4, 880-885, 2014.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; MALDANER, J.; RAUBER, R.; CASTRO, G. Y.; JUCOSKI, G. O.; SANTOS, D. R. Caracterização das exigências nutricionais de mudas de *Pfaffia glomerata* em Argissolo Vermelho distrófico arênico pela técnica do nutriente faltante. **Ciência Rural**, 38, 4, 989-996, 2008.

SMITHA, G.R.; TRIPATHY, V. Seasonal variation in the essential oils extracted from leaves and inflorescence of different *Ocimum* species grown in Western plains of India. **Industrial Crops and Products**, 94, 52–64, 2016.

SMITHA, G. R.; VARGHESE, T. S.; MANIVEL, P. **Cultivation of *Ocimum***. IARC-Directorate of Medicinal and Aromatic Plants Research, Gujarat, India, 2014. 15 p.

SOHRABI, M. M.; RYU, J. H.; ABATZOGLOU, J.; TRACY, J. Development of soil moisture drought index to characterize droughts. **Journal of Hydrologic Engineering**, 20, 11, 2015.

SOLEDADE, M.; PEDRAS, C.; ZHENG, Q. The Chemistry of *Arabidopsis thaliana*. In: LIU, H.-W.; MANDER, L. **Comprehensive Natural Products II**, 1297–1315, 2010.

SONIBARE, M. A.; MOODY, J. O.; ADESANYA, E. O. Use of medicinal plants for the treatment of measles in Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, 122, 2, 268–272, 2009.

SOUSA, M. J. M.; MORAL, F. F.; NASCIMENTO, G. N. L.; SOARES, N. P.; AVERSI-FERREIRA, T. A. Medicinal plants used by Itamaraty community nearby Anápolis, Goiás State, Brazil. **Acta Scientiarum**, 32, 2, 177-184, 2010.

SOUSA, R.F.; SOUSA, J.A. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, 11, 1, 1-8, 2017.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20, 3, 435–440, 2010.

SRIPRIYA, S; YUVARAJ, G; NEMA, R. K.; KUMAR, V. M.; DEECARAMAN, M. Evaluation of antifertility activity from stem part of *Ocimum gratissimum* in acetone extracts. **International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 3, 41-44, 2011.

STANLEY, M. C.; IFEANYI, O. E.; CHINEDUM, O. K.; CHINENYE, N. D. The Antibacterial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* and *Sida acuta*. **International Journal of Microbiological Research**, 5, 2, 124-129, 2014.

STEFANELLI, D.; GOODWIN, I.; JONES, R. Minimal nitrogen and water use in horticulture: effects on quality and content of selected nutrients. **Food Research International**, 43, 7, 1833–1843, 2010.

STROUP, J. A.; SANDERSON, M. A.; MUIR, J. P.; MCFARLAND, M. J.; REED, R. L. Comparison of growth and performance in upland and lowland switchgrass types to water and nitrogen stress. **Bioresource Technology**, 86, 1, 65–72, 2003.

SUMITHA, K. V.; THOPPIL, J. E. Larvicidal efficacy and chemical constituents of *O. gratissimum* L. (Lamiaceae) essential oil against *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, 115, 2, 673–680, 2016.

SUN, J.; YE, M.; PENG, S.; LI, Y. Nitrogen can improve the rapid response of photosynthesis to changing irradiance in rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Scientific Reports**, 6, 1, 31305, 2016.

TABA, K. M.; PAULUS, J.; KAYEMBE, J. S. Malaria: novel plant remedies show great promise in treating the deadly disease. **Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine**, 1, 3, 62-68, 2012.

TAIE, H. A. A.; SALAMA, Z. A-E. R.; RADWAN, S. Potential activity of basil plants as a source of antioxidants and anticancer agents as affected by organic and bio-organic fertilization. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, 38, 1, 2010, 119-127, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant physiology and development**. 6a. ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 2014. 761 p.

TAMGUE, O.; BENGYELLA, L.; NGUEFACK, J.; DONGMO, J. B. L.; DAKOLEA, C. D. Synergism and antagonism of essential oil fractions of *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. **International Journal of Plant Pathology**, 2, 2, 51-62, 2011.

TAN, K. H.; NISHIDA, R. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. **Journal of Insect Science**, 12, 56, 1–60, 2012.

TANG, J.; HAN, Z.; CHAI, J. QEA: what are brassinosteroids and how do they act in plants? **BMC Biology**, 14, 1, 113, 2016.

TANKO, Y.; MAGAJI, G. M.; YERIMA, M.; MAGAJ, R. A.; MOHAMMED, A. AntiNociceptive and antiinflammatory activities of aqueous leaves extract of *Ocimum*

*gratissimum* (Labiata) in rodents. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines**, 5, 2, 141–146, 2008.

TARDIEU, F. Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. **Frontiers in Physiology**, 4, 17, 1-11, 2013.

TATSADJIEU, N. L.; ETOA, F. X.; MBOFUNG, C. M. F.; NGASSOUM, M. B. Effect of *Plectranthus glandulosus* and *Ocimum gratissimum* essential oils on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production. **Tropicultura**, 26, 2, 78-83, 2008.

TATSADJIEU, N. L.; YAOUBA, A.; NUKENINE, E. N.; NGASSOUM, M. B.; MBOFUNG, C. M. F. Comparative study of the simultaneous action of three essential oils on *Aspergillus flavus* and *Sitophilus zeamais* Motsch. **Food Control**, 21, 2, 186–190, 2010.

TAVARES, A. C. S.; DUARTE, S. N.; DIAS, N. da S.; SÁ, F. V. da S.; MIRANDA, J. H. de; FERNANDES, C. dos S. Produção e maturação de cana-de-açúcar submetida a encharcamento em diferentes estádios de desenvolvimento. **Irriga**, 22, 1, 154-166, 2017.

TCHOUMBOUGNANG, F.; ZOLLO, P. H. A.; DAGNE, E.; MEKONNEN, Y. *In vivo* antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. **Planta Medica**, 71, 1, 20-23, 2005.

THAMMANA, M. A review on High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Research & Reviews: Journal of Pharmaceutical Analysis**, 5, 2, 22-28, 2016.

THOMASSON, A. J. Towards an objective classification of soil structure. **Journal of Soil Science**, 29, 1, 38–46, 1978.

TOGNARELLI, J. M.; DAWOOD, M.; SHARIFF, M. I. F.; GROVER, V. P. B.; CROSSEY, M. M. E.; COX, I. J.; TAYLOR-ROBINSON, S. D.; MCPHAIL, M. J. W. Magnetic resonance spectroscopy: principles and techniques: lessons for clinicians. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, 5, 4, 320–328, 2015.

THOMAS, J. M.; VARKEY, J.; AUGUSTINE, B. B. Association between serum cholesterol, brain serotonin, and anxiety: A study in simvastatin administered experimental animals. **International Journal of Nutrition, Pharmacology and Neurological Diseases**, 4, 1, 69-73, 2014.

TOVAR, M. J.; ROMERO, M. P.; GIRONA, J.; MOTILVA, M. J. L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea* L cv Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 82, 8, 892–898, 2002.

TROPICOS. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>>. Acesso em 9 Jan. 2017.

TSHILANDA, D. D.; ONYAMBOKO, D. N.; BABADYBILA, P.; NGBOLUA, K. T.; TSHIBANGU, D. S.; DIA FITA DIBWE, E.; MPIANA, P. T. Antisickling activity of ursolic acid isolated from the leaves of *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). **Natural Products and Bioprospecting**, 5, 4, 215-221, 2015.

TUTEJA, N.; SINGH GILL, S. (Eds.). **Plant acclimation to environmental stress**. Springer New York, New York, NY, 2013.

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

USIP, L. P.; OPARA, K. N.; IBANGA, E. S.; ATTING, I. A. Longitudinal evaluation of repellent activity of *Ocimum gratissimum* (Labiatae) volatile oil against *Simulium damnosum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 101, 2, 201–205, 2006.

VALLOTTON, A. D.; MURRAY, L. W.; DELANEY, K. J.; STERLING, T. M. Water deficit induces swainsonine of some locoweed taxa, but with no swainsonine-growth trade-off. **Acta Oecológica**, 43, 140–149, 2012.

VAN DEN BERG, F.; ROBERT, C.; SHAW, M. W.; VAN DEN BOSCH, F. Apical leaf necrosis and leaf nitrogen dynamics in diseased leaves: a model study. **Plant Pathology**, 56, 3, 424–436, 2007.

VAN DEN BERG, F.; VAN DEN BOSCH, F.; POWERS, S. J.; SHAW, M. W. Apical leaf necrosis as a defence mechanism against pathogen attack: effects of high nutrient availability on onset and rate of necrosis. **Plant Pathology**, 57, 1009–1016, 2008.

VANNESTE, S.; FRIML, J. Auxin: a trigger for change in plant development. **Cell**, 136, 6, 1005–1016, 2009.

VASCONCELOS SILVA, M.; CRAVEIRO, A.; ABREU MATOS, F.; MACHADO, M. I.; ALENCAR, J. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**, 70, 32–34, 1999.

VAZIN, F. RETRACTED: Water stress effects on cumin (*Cuminum cyminum* L.) yield and oil essential components. **Scientia Horticulturae (Amsterdam)**, 151, 135–141, 2013.

VENUPRASAD, M. P.; KUMAR KANDIKATTU, H.; RAZACK, S.; KHANUM, F. Phytochemical analysis of *Ocimum gratissimum* by LC-ESI-MS/MS and its antioxidant and anxiolytic effects. **South African Journal of Botany**, 92, 151–158, 2014.

VERMA, R. S.; PADALIA, R. C.; CHAUHAN, A.; THUL, S. T. Exploring compositional diversity in the essential oils of 34 *Ocimum* taxa from Indian flora. **Industrial Crops and Products**, 45, 7–19, 2013.

VERSTRAETEN, W.; VEROUSTRATE, F.; FEYEN, J. Assessment of evapotranspiration and soil moisture content across different scales of observation. **Sensors**, 8, 12, 70–117, 2008.

VIANNA, J. S. **Caracterização anatômica, morfológica e química de quimiotipos de *Ocimum gratissimum* Lineu.** 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade de Brasília-Faculdade de Agronomia e Veterinária, Brasília, 2009.

VIECELLI, C. A. (org.) **Guia de deficiências nutricionais em plantas**. Toledo: PUCPR, 2017. 112 p.

VIÉGAS, I. J. M.; CORDEIRO, R. A. M.; DE ALMEIDA, G. M.; SILVA, D. A. S.; DA SILVA, B. C.; OKUMURA, R. S.; DA SILVA JÚNIOR, M. L.; DA SILVA, S. P.; DE FREITAS, J. M. N. Growth and visual symptoms of nutrients deficiency in mangosteens (*Garcinia mangostana* L.). **American Journal of Plant Sciences**, 9, 5, 1014–1028, 2018.

VIEIRA, M. M. M.; MOCHEL FILHO, W. J. E. Influência dos fatores abióticos no fluxo de biomassa e na estrutura do dossel influence of abiotic factors in the biomass flow and sward structure. **Archivos de zootecnia**, 59, R, 15-24, 2010.

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**, 29, 3, 287-304, 2001.

VITTI, M. C. D.; SASAKI, F. F.; MIGUEL, P.; KLUGE, R. A.; MORETTI, C. L.. Activity of enzymes associated with the enzymatic browning of minimally processed potatoes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 54, 5, 983–990, 2011.

VOGLER, H.; FELEKIS, D.; NELSON, B.; GROSSNIKLAUS, U. measuring the mechanical properties of plant cell walls. **Plants**, 4, 2, 167–182, 2015.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, 3, 1, 2–20, 2010.

XU, Z.; JIANG, Y.; ZHOU, G. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO<sub>2</sub> with environmental stress in plants. **Frontiers in Plant Science**, 6, 2015.

WANG, G.; CAO, F.; CHANG, L.; GUO, X.; WANG, J. Temperature has more effects than soil moisture on biosynthesis of flavonoids in ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) leaves. **New Forests**, 45, 6, 797–812, 2014.

WANG, M.; SHI, S., LIN, F., HAO, Z., JIANG, P., DAI, G. Effects of soil water and nitrogen on growth and photosynthetic response of manchurian ash (*Fraxinus mandshurica*) seedlings in northeastern China. **PLoS One**, 7, e30754, 2012.

WANI, S. H.; KUMAR, V.; SHRIRAM, V.; SAH, S. K. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. **The Crop Journal**, 4, 3, 162–176, 2016.

WASTERNAK, C.; HAUSE, B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in Annals of Botany. **Annals of Botany**, 111, 6, 1021–1058, 2013.

WEI, C.; LINTILHAC, P. M. Loss of stability: a new look at the physics of cell wall behavior during plant cell growth. **Plant Physiology**, 145, 3, 763–772, 2007.

WERADUWAGE, S. M.; CHEN, J.; ANOZIE, F. C.; MORALES, A.; WEISE, S. E.; SHARKEY, T. D. The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, 6, 167, 2015.

WHITNEY, H. M.; POETES, R.; STEINER, U.; CHITTKA, L.; GLOVER, B. J. Determining the contribution of epidermal cell shape to petal wettability using isogenic antirrhinum lines. **PLoS ONE**, 6, 3, e17576, 2011.

YADAV, R. K.; SANGWAN, R. S.; SABIR, F.; SRIVASTAVA, A. K.; SANGWAN, N. S. Effect of prolonged water stress on specialized secondary metabolites, peltate glandular trichomes, and pathway gene expression in *Artemisia annua* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, 74, 70-83, 2014.

YAMANE, H.; KONNO, K.; SABELIS, M.; TAKABAYASHI, J.; SASSA, T.; OIKAWA, H. Chemical Defence and Toxins of Plants. In: LIU, H.-W.; MANDER, L. **Comprehensive Natural Products II**, 339–385, 2010.

YANG, W.; YIN, Y.; JIANG, W.; PENG, D.; YANG, D.; CUI, Y.; WANG, Z. Severe water deficit-induced ethylene production decreases photosynthesis and photochemical efficiency in flag leaves of wheat. **Photosynthetica**, 52, 3, 341–350, 2014.

YANO, S.; KOYABASHI, K.; KATO, K. Intrabronchial lesion due to *Cladosporium sphaerospermum* in a healthy, non-asthmatic woman. **Mycoses**, 46, 8, 348–350, 2003.

YOSHIBA, Y.; KIYOSUE, T.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. **Plant Cell Physiology**, 38, 10, 1095-1102, 1997.

YUAN, Y.; LIU, Y.; WU, C.; CHEN, S.; WANG, Z.; YANG, Z.; QIN, S.; HUANG, L. Water deficit affected flavonoid accumulation by regulating hormone metabolism in *Scutellaria baicalensis* Georgi roots. **Plos One**, 7, 10, 1-10, 2012.

YVETTE, F. N. B.; KIYINLMA, C.; DIÉNÉBA, K. Pharmacognostic study of *Ocimum gratissimum* Linn.: pharmafood plant. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 2, 5, 74-79, 2014.

ZAGHDOUD, C.; CARVAJAL, M.; FERCHICHI, A.; MARTÍNEZ-BALLESTA, M. C. Water balance and N-metabolism in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) plants depending on nitrogen source under salt stress and elevated CO<sub>2</sub>. **Science of the Total Environment**, 571, 763-771, 2016.

ZE-LONG, J.; LEI, L.; ZI-GANG, Z.; DAN, L.; BI-WEN, L.; HENG-JIN, L. Aqueous extracts of *Ocimum grasstimum* inhibits lipopolysaccharide-induced interleukin-6 and interleukin-8 expression in airway epithelial cell BEAS-2B. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, 19, 10, 741-748, 2013.

ZHAO, Y.; CHAN, Z.; GAO, J.; XING, L.; CAO, M.; YU, C.; HU, Y.; YOU, J.; SHI, H.; ZHU, Y.; GONG, Y.; MU, Z.; WANG, H.; DENG, X.; WANG, P.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. -K. ABA receptor PYL9 promotes drought resistance and leaf senescence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 113, 7, 1949–1954, 2016.

ZHELJAZKOV, V. D.; CANTRELL, C. L.; EBELHAR, M. W.; ROWE, D. E.; COKER, CH. Productivity, oil content, and oil composition of sweet basil as a function of nitrogen and sulphur fertilization. **Horticultural Science**, 43, 5, 1415–1422, 2008.

ZHELJAZKOV, V. D.; CANTRELL, C. L.; ASTATKIE, T.; EBELHAR, M. W. Peppermint productivity and oil composition as a function of nitrogen, growth stage, and harvest time. **Agronomy Journal**, 102, 1, 124–128, 2010.

ZHELJAZKOV, V. D.; CANTRELL, C. L.; ASTATKIE, T.; CANNON, J. B. Lemongrass productivity, oil content, and composition as a function of nitrogen, sulphur, and harvest time. **Agronomy Journal**, 103, 3, 805–812, 2011.

ZHONG, C.; CAO, X.; HU, J.; ZHU, L.; ZHANG, J.; HUANG, J.; JIN, Q. Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in rice grown under different nitrogen levels. **Frontiers in Plant Science**, 8, 1-15, 2017.

ZHOU, S; HAN, Y. Y.; CHEN, Y.; KONG, X.; WANG, W. The involvement of expansins in response to water stress during leaf development in wheat. **Journal of Plant Physiology**, 183, 64-74, 2015.

ZOUARI, N.; AYADI, I.; FAKHFAKH, N.; REBAI, A.; ZOUARI, S. Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic species. **Lipids Health Disease**, 11, 28, 1-12, 2012.

ZSÓFI, Z.; TÓTHA, E.; RUSJAN, D.; BÁLO, B. Terroir aspects of grape quality in a cool climate wine region: Relationship between water deficit, vegetative growth and berry sugar concentration. **Scientia Horticulturae (Amsterdam)**, 127, 4, 494–499, 2011.

ZWANENBURG, B.; POSPÍŠIL, T.; ČAVAR ZELJKOVIĆ, S. Strigolactones: new plant hormones in action. **Planta**, 243, 6, 1311–1326, 2016.



**ANEXOS**

**Anexo A** – Artigo 1 publicado na revista *Journal of Agricultural Science*

Título do artigo: **Visual Symptoms of Water and Nitrogen Deficiency in Leaves of Clove Basil (*Ocimum gratissimum* L.)**

Revista: **Journal of Agricultural Science** (ISSN 1916-9752 E-ISSN 1916-9760)

Qualis: **B2 (Biotecnologia) e B1 (Biodiversidade)**

Fator de Impacto: **1.186**

## Visual Symptoms of Water and Nitrogen Deficiency in Leaves of Clove Basil (*Ocimum gratissimum* L.)

Crisálida M. Vilanova<sup>1</sup>, Kátia P. Coelho<sup>2</sup>, Tássio R. S. A. Luz<sup>1</sup>, Daniella P. B. Silveira<sup>1</sup>, Denise F. Coutinho<sup>1</sup> & Emanuel G. Moura<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>2</sup> Department of Agricultural Engineering, State University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

Correspondence: Emanuel G. Moura, Department of Agroecology, State University of Maranhão, s/n, Tirirical, São Luís, Maranhão, 65054-970, Brazil. Tel: 55-98-2016-8152. E-mail: egmoura@elointernet.com.br

Received: July 12, 2018

Accepted: August 11, 2018

Online Published: October 15, 2018

doi:10.5539/jas.v10n11pxx

URL: <https://doi.org/10.5539/jas.v10n11pxx>

### Abstract

*Ocimum gratissimum* L. (clove basil) is an annual herb of the Lamiaceae family, widely cultivated as a plant used in cooking and medicine worldwide. There is no information on the visual symptoms of the effects of greater or lesser water irrigation and nitrogen fertilization on the leaves of this species. There is no information on the visual symptoms of the effects of greater or lesser water irrigation and nitrogen fertilization (N) on the leaves of this species. The effects of different water application rates, 60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>), 100% (I<sub>100</sub>) and 110% (I<sub>110</sub>) of field capacity (FC), and nitrogen fertilization, 0 (N<sub>0</sub>), 40 (N<sub>2</sub>), 80 (N<sub>4</sub>) and 160 (N<sub>8</sub>) kg of nitrogen/ha, on the leaves of this species were studied. The experiment was carried out for 60 days in a greenhouse in a completely randomised design with three replicates. Water stress was determinant for the appearance of leaves with wilted and stains. Symptoms of necrosis, apical necrosis, abscission and chlorosis were correlated only with N stress. This study suggests that the leaves of *Ocimum gratissimum* present better acclimatization with irrigation above the field capacity associated with high dose of N (I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>) and that satisfactorily support the reduction of up to 70% FC with the use of 40 kg of N/ha in their production without presenting any visual symptoms.

**Keywords:** field capacity, nutrient, water stress, fertilization

### 1. Introduction

Agricultural research and development over the past 50 years has focused primarily on increasing productivity through increased use of inputs, resulting in environmental costs such as water and soil pollution. This has led to the pursuit of the development of sustainable production practices to meet the growing demand of quality, locally produced, regionally specialized and with minimal use of chemical inputs in production to reduce environmental impact (Stefanelli, Goodwin, & Jones, 2010).

The reduction of water use in horticulture, maintaining the quality and yield of the product contributes to a reduction of groundwater contamination by excess nutrients, growth regulators, nitrates, pesticides (Agrawal, Pandey, & Sharma, 2010), but, also, this has become a critical issue, due to the scarcity of this resource in the world, not only in arid and semi-arid areas as well as in humid regions of the planet (Evans & Sadler, 2008).

Nitrogen is one of the most abundant mineral elements in plant species and is essential for the normal growth and development of plants, since it is involved in the formation of important molecules and organelles such as proteins, nucleic acids and chloroplasts (Taiz, Zeiger, Moller, & Murphy, 2014).

There are two distinct sources of N for leaf growth: the N of the uptake and assimilation that is transferred directly to the growing leaf and the N of the redistribution of organic compounds (recyclable). Nitrogen fertilization has multiple direct and indirect effects on plant N metabolism. In particular, it modifies the N content of young leaves, leaf senescence and the dynamics of light distribution within the growing canopies by increasing N availability directly transferable to leaf growth and by influencing the availability of recyclable N (Lehmeier, Wild, & Schnyder, 2013).

However, nitrogen fertilization must be carried out in a judicious way due to the various forms of losses of this nutrient (erosion, leaching and volatilization), which can cause, mainly, water pollution, which makes it

considered one of the most difficult to be managed, due to the diverse transformations that it undergoes in the soil (Maqsood et al., 2016).

Irrigation management and soil fertility are generally done to fully meet the demand of plants for the purpose of maximizing production. However, studies have demonstrated that the management should contribute to the maximum economic yield and not to the maximum productivity of the crop (Perez, 2015; Azevedo, Bomfim, Nascimento Neto, Viana, & Vasconcelos, 2016; Wang & Xing, 2017). Therefore, fully satisfying the nutrient and water needs of the crops is not sufficient to achieve higher economic returns, and it is necessary to observe these indices in order to minimize costs and optimize yield, which are influenced by such factors (Mancosu, Snyder, Kyriakakis, & Spano, 2015; Moswetsi, Fanadzo, & Ncube, 2017). Thus the adequate supply of water and nutrients is essential.

*Ocimum gratissimum* L. (clove basil), a dicotyledonous shrub plant, which belongs to the Lamiaceae family, have been used in applications in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. This plant has several scientifically proven therapeutic abilities, such as a hypoglycaemic agent (Casanova, Gu, Costa, & Jeppesen, 2017); antioxidant (Hounda et al., 2016); antifungal (Nguefack et al., 2009); antibacterial (Bonou et al., 2016); and in treating hepatopathies (Chiu et al., 2014), among others. It is also popularly used in herbal medicine for treating several diseases, such as upper respiratory tract infection, fever, piles, cough, diarrhoea and pneumonia (Pandey, 2017).

Despite several studies dealing with the effect of water and nutrient stress on *Ocimum gratissimum* (Osugwu, Edeoga & Osugwu, 2010; Ormeño & Fernandez, 2012; Ade-Ademilua, Obi, & Craker, 2013), information about the influence of multiple and interactive stress factors commonly experienced by plants in the field is scarce. Moreover, there are no studies on the visual impact of water and nitrogen deficiency on *Ocimum gratissimum* leaves. For this reason, the objective of this work was to study the effect of water stress and different nitrogen doses and their interaction on the development of visual symptoms in leaves of this plant species.

## 2. Method

### 2.1 Installation and Design of the Experiment

The study was carried out in 2016 (September-November) in a greenhouse at Maranhão State University, São Luís, Brazil (2°30' S and 44°18' W). While conducting the experiment, the mean greenhouse temperature was 28 °C, with maximum temperature of 33.8 °C and minimum temperature of 24.9 °C. The mean relative humidity was 71.4%, with the maximum and minimum relative humidity of 77.3% and 68.2%, respectively. The soil in the study was classified as Ultisol (USDA-NRCS, 1999) and its chemical properties were determined (Carter & Gregorich, 2008), as follows in Table 1:

Table 1. Chemical properties of the soil used in the experiments

| Parameter                               | Unit                 | Value |
|-----------------------------------------|----------------------|-------|
| Ca <sup>2+</sup>                        | mmol/dm <sup>3</sup> | 32.0  |
| Mg <sup>2+</sup>                        | mmol/dm <sup>3</sup> | 49.0  |
| K <sup>+</sup>                          | mmol/dm <sup>3</sup> | 3.30  |
| Al <sup>3+</sup>                        | mmol/dm <sup>3</sup> | 1.00  |
| H <sup>+</sup>                          | mmol/dm <sup>3</sup> | 4.00  |
| Na <sup>+</sup>                         | mmol/dm <sup>3</sup> | 5.70  |
| SB                                      | mmol/dm <sup>3</sup> | 90.0  |
| CTC                                     | mmol/dm <sup>3</sup> | 95.0  |
| MO                                      | mg/dm <sup>3</sup>   | 20.0  |
| P                                       | mg/dm <sup>3</sup>   | 25.0  |
| Ph (CaCl <sub>2</sub> )                 |                      | 8.30  |
| Na <sup>+</sup> /CTC                    | %                    | 6.00  |
| Al <sup>3+</sup> /Al <sup>3+</sup> + SB | %                    | 1.10  |
| V                                       | %                    | 94.7  |

## 2.2 Conduction of the Greenhouse Experiment

The experiment was conducted in plastic pots with a capacity of 10 dm<sup>3</sup> in a completely randomised design with three replicates, a 5 × 3 factorial arrangement, which consisted of five water regimes, taking into account the percentage of the soil field capacity and three nitrogen doses. The pots were filled uniformly with 10 kg of sieved and homogenised soil. Four seeds of *Ocimum gratissimum* were sown in each vase. To ensure satisfactory development, all plants were fully irrigated until thinning 14 days after sowing, when water application rate and nitrogen fertilization treatments were initiated by keeping two plants per pot. A total of 60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>) and 100% (I<sub>100</sub>) of field capacity (FC) was used. The volumetric soil moisture content at the FC was determined collecting three replicates of soil samples before the planting in volumetric rings with a 100 cm<sup>3</sup> capacity. The available water capacity was calculated from the difference of soil mass between -10 kPa (field capacity) and -1500 kPa (permanent wilting point). The samples were saturated, weighed, placed on a tension table and equilibrated at -10 kPa (Thomasson, 1978). This volumetric soil moisture content was considered to 100% FC (I<sub>100</sub>). The I<sub>100</sub> treatments were used as controls for adding water at the other water application rate. In order to maintain soil in different water regimes, all pots were weighed and adjusted daily at the same time each day. Nitrogen (as urea source) was applied to roots in doses of 0.0, 2.0 and 4.0 g of nitrogen (N) per pot, which correspond to 0 (N<sub>0</sub>), 40 (N<sub>2</sub>) and 80 (N<sub>4</sub>) kg of N/ha, in four equal fractions at 0, 15, 30 and 45 days after emergence (DAE). We also evaluated an additional treatment with 110% FC (I<sub>110</sub>) and 8.0 g of N per pot, which corresponds to 160 kg of N/ha (N<sub>8</sub>). All plants were observed daily up to 60 DAE, when they showed the greatest vegetative growth (i.e., in the inflorescence). A voucher specimen (MAR-9037) was deposited in the Herbarium of Maranhão, Biology Department, Federal University of Maranhão, Brazil.

## 2.3 Evaluation of Morphometric Parameters

All plants were observed daily up to 60 DAE. During this period we verified the appearance of possible visual symptoms and their evolution in *Ocimum gratissimum* leaves due to water stress and the different levels of nitrogen fertilization.

## 2.4 Statistical Analyses

Data were analysed using the R (R Core Team, 2015) and Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011) software. Analysis of variance (ANOVA) was performed and means were compared using the LSD test at 5% significance level. All the graphics were done with Sigma Plot 10.0 software (Systat Software, San Jose, CA).

## 3. Results and Discussion

The leaves of *Ocimum gratissimum* under water and nitrogen stress showed symptoms of wilting, stains, abscission, chlorosis, necrosis and apical necrosis (Figures 1A-1C), however without significant relevance on the appearance of these symptoms in the interaction of these two resources.

The water stress was determinant for the appearance of wilted and stained leaves in *Ocimum gratissimum* ( $p < 0.05$ ), showing no statistical relevance for the symptoms of necrosis, apical necrosis, abscission and chlorosis ( $p \geq 0.05$ ) (Figure 2).



Figure 1. Leaves of *Ocimum gratissimum* L. submitted to treatments  $I_{100}N_0$  (A) with necrosis (long arrow),  $I_{100}N_2$  (B) with chlorosis and apical necrosis (long arrow) and spots (short arrow) and  $I_{60}N_4$  (C) with wilting and spots (short arrow) due to water stress and nitrogen stress compared to healthy leaves of the  $I_{110}N_8$  treatment (D)

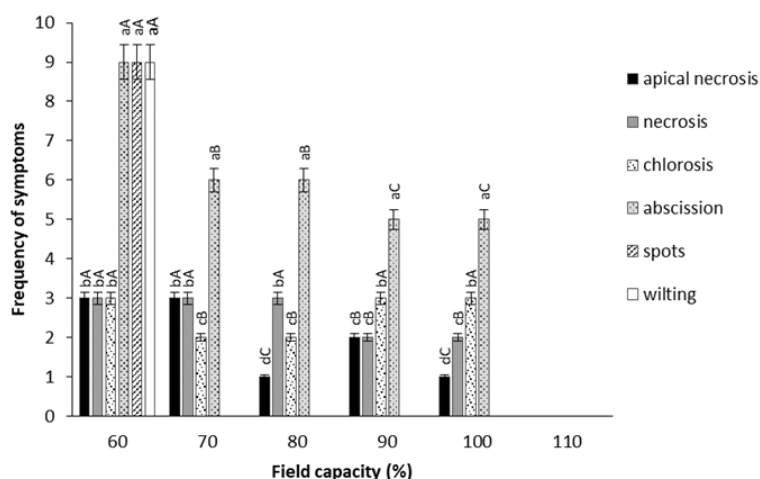


Figure 2. Visual symptoms of leaves of *Ocimum gratissimum* L. submitted to different levels of field capacity. Different letters (lowercase letters for symptoms in each field capacity and uppercase letters for each symptom between treatments) indicate significant difference at the 5% level by LSD test

Taiz et al. (2014) report that turgor reduction is the most early biophysical significant effect of water stress and, consequently, leaf expansion and rod development, which depend on turgor, are more sensitive and are the first perceived effects in a submitted vegetable to this adverse situation. The observation of wilted leaves in *Ocimum gratissimum* as the first response to water stress was consistent with this physiological behavior. On the other hand, abscisic acid produces changes that confer to the vegetable the capacity to maintain the cellular turgor to support the dehydration (Farooq, Wahid, Kobayashi, Fujita, & Basra, 2009) and according to Kosma et al. (2009) there is a delay in wilting in plants acclimatized to water stress in comparison with previously unacclimatized

plants. For Kosma et al. (2009) the induction of cutaneous lipids may be important in this acclimation because it is associated with reduced permeability to the cuticle, an adaptation that can limit transpiration and delay the appearance of water stress during prolonged drought. *Ocimum gratissimum* presented wilted leaves only in I<sub>60</sub> treatment (Figure 1C), which in our study was very close to the permanent wilting point, with satisfactory acclimation to water reduction up to I<sub>70</sub> treatment.

According to a survey by Desprez-Loustau, Marcais, Nageleisen, Piou, and Vannini, (2006) and Oliva, Stenlid, and Martínez-Vilalta, (2014) the increase of water stress is related to the appearance and increase of the severity of fungal diseases in plants. In our study, *Ocimum gratissimum* showed stains on its leaves only in the treatment at I<sub>60</sub> (Figure 1C and Figure 2) and a pathogenic infection may be an explanation for the appearance of these patches probably due to the decrease of plant defenses by water stress.

Symptoms of necrosis, apical necrosis, abscission and chlorosis were correlated only with nitrogenous variation ( $p < 0.05$ ), differing the type of symptom according to the amount of N added. The variation in nitrogen fertilization was not a relevant factor for the wilting and stain observed in this study ( $p \geq 0.05$ ) (Figure 3).

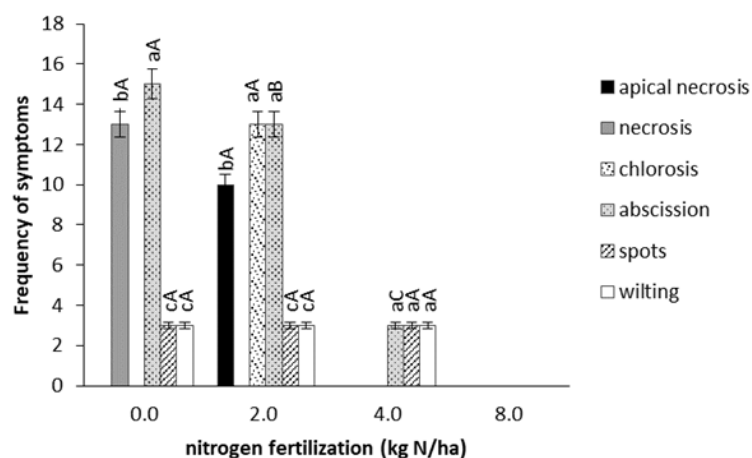


Figure 3. Visual symptoms of leaves of *Ocimum gratissimum* L. submitted to different levels of nitrogen fertilization. Different letters (lowercase letters for symptoms in each nitrogen dose and uppercase letters for each symptom between treatments) indicate significant difference at the 5% level by LSD test

*Ocimum gratissimum* was more sensitive to nitrogen variation than to water stress. When comparing treatments N<sub>0</sub>, N<sub>2</sub> and N<sub>4</sub>, the presence of chlorosis was statistically significant ( $p < 0.05$ ) only in N<sub>2</sub> treatment (Figure 3). Chlorosis is an initial symptom typical of N deficiency and this is due to the N is easily redistributed by the plant of the older and intermediate leaves to the new organs or leaves via phloem, in order to guarantee its growth and development in the face of the scarcity of this nutrient in the environment (Lima et al., 2015; Maillard et al., 2015; Viegas et al., 2018).

There was no statistical difference regarding the presence of abscission in N<sub>0</sub> and N<sub>2</sub> treatments, but there were between these treatments and N<sub>4</sub> treatment. The studies of Ren et al. (2011, 2013) have shown that leaf longevity is reduced by increased water and N availability, isolated and in interaction, mainly by altering the production of ethylene, an endogenous plant hormone involved in the control of senescence and leaf abscission. On the other hand, for Sirousmehr, Arbabi, and Asgharipour, (2014) foliar abscission is a long-term adaptation of the vegetable to the water limitation, which also stimulates the plant's synthesis and sensitivity to ethylene. However, the studies by Hanaoka et al. (2002) with the genome of *Arabidopsis thaliana* found increased senescence with N deficiency from autophagy regulation, which may explain our results obtained with *Ocimum gratissimum*. Autophagy contributes significantly to the efficiency and productivity of nitrogen use of the plant and is especially necessary during leaf senescence and when plants are grown under low availability of nitrate, as it contributes to the maintenance of cellular homeostasis, C:N balance and redox metabolism (Masclaux-Daubresse, 2016).

Necrosis and apical necrosis were statistically significant ( $p < 0.05$ ) only in N<sub>0</sub> treatment in relation to N<sub>2</sub> and N<sub>4</sub> treatments (Figure 3). It is believed that these two symptoms occurred due to the use of N of the plant by pathogens, as there were stains indicative of fungal diseases in I<sub>60</sub> treatment, as mentioned previously. Apical leaf

necrosis is a physiological process related to the dynamics of N in the leaf. According to Van Den Berg et al. (2007, 2008) pathogens use foliar nutrients and can thus accelerate apical physiological necrosis, and provided that the benefits of reducing the disease by early apical necrosis outweigh the cost of loss of healthy leaf material, as in the case of high availability of nutrients, the plant can use necrosis as a defense against some diseases, because biotrophic pathogens do not grow on necrotic foliar material. Although necrosis symptoms were not correlated with water stress in our study, Lund, Stall, and Klee, (1998) and Bashan (1994) attributed apical leaf necrosis to the stimulus in the production of ethylene by infection by pathogens and report that this necrosis can also occur due to cellular damage induced by the intracellular growth of certain pathogenic species due to water stress.

Generally, maintaining a soil with moisture above field capacity for long periods, as with I<sub>110</sub> treatment, leads to a decrease in soil aeration because the pores will be filled with water instead of oxygen and water will block diffusion of gas from the atmosphere to the ground (Chen et al., 2011). This may cause several symptoms in plants, but the cause of plant damage in soils is often questioned and the literature suggests that it is more related to the production of toxic substances than the oxygen deficiency in the roots themselves (Morales-Olmedo, Ortiz, & Sellés, 2015). However, there was no symptom of stress in the I110N8 treatment (Figure 1D), which may suggest a better acclimatization by the co-limitation between irrigation above field capacity and high nitrogen dose.

Albarenque, Basso, Caviglia, and Melchiori (2016) used the concept of water–nitrogen co-limitation to explore maize response to availability of resources. Co-limitation is operationally identified when the output response of a biological system (e.g. plant or population growth) to two or more inputs is greater than its response to each factor in isolation. Interactions between water and nitrogen influence processes ranging from the ecosystem to the molecular level. Water–nitrogen interactions affect crop yield, leaf stoichiometry, photosynthesis, senescence and root-to-shoot translocation. The hypothesis of Bloom et al. (1985) that plant production is maximised when it is equally limited by all resources, is reworded in terms of co-limitation and formulated in quantitative terms, i.e., for a given intensity of aggregate stress, plant production is proportional to degree of resource co-limitation.

According to Ågren, Wetterstedt, and Billberger (2012), co-limitation occur at very strict nutrient ratios (optimum ratios) and the rate control on growth by one nutrient depends on the rate control by another nutrient of another process, where two nutrients both limit growth, but because of the multiple limitation of resources, the co-limitation will always exist and plants should always be driven towards the point of optimum nutrient ratios, where it is difficult to know whether the optimum is actually a single value or rather a range of ratios and a consequence of such balancing of resources is a variable root:shoot allocation.

#### 4. Conclusion

There was a correlation between the occurrence of necrosis, apical necrosis, abscission and chlorosis with the decrease of nitrogen and the stain and wilting with water deficit. *Ocimum gratissimum* has higher tolerance of to water stress and its greater sensitivity to nitrogen variation.

#### References

- Ade-Ademilua, E. O., Obi, H. O., & Craker, L. E. (2013). Growth and essential oil yield of african basil, *Ocimum gratissimum*, under light and water stress. *Journal of Medicinally Active Plants*, 1, 143-149.
- Agrawal, A., Pandey, R. S., & Sharma, B. (2010). Water pollution with special reference to pesticide contamination in India. *Journal of Water Resource and Protection*, 2, 432-448. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2010.25050>
- Ågren, G. I., Wetterstedt, J. Å. M., & Billberger, M. F. K. (2012). Nutrient limitation on terrestrial plant growth—Modeling the interaction between nitrogen and phosphorus. *New Phytology*, 194, 953-960. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04116.x>
- Albarenque, S. M., Basso, B., Caviglia, O. P., & Melchiori, R. J. M. (2016). spatio-temporal nitrogen fertilizer response in maize: field study and modeling approach. *Agronomy Journal*, 108, 1-13. <https://doi.org/10.2134/agnonj2016.02.0081>
- Azevedo, B. M. de, Bomfim, G. V. do, Nascimento Neto, J. R. do, Viana, T. V. D. A., & Vasconcelos, D. V. (2016). Idepths and yield response factor in the productive phase of yellow melon. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38, 1-13. <https://doi.org/10.1590/0100-29452016802>
- Bashan, Y. (1994). Symptom expression and ethylene production in leaf blight of cotton caused by *Alternaria macrospora* and *Alternaria alternata* alone and in combination. *Canadian Journal of Botany*, 72, 1574-1579. <https://doi.org/10.1139/b94-194>



- Bloom, A. J., Chapin, F. S., & Mooney, H. A. (1985). Resource limitation in plants-an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 363-392. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.16.110185.002051>
- Bonou, J., Baba-Moussa, F., Noumavo, P. A., Ahouandjinou, H., Adéoti, K., Métognon, I., ... Baba-Moussa, L. (2016). Composition chimique et influence de différents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. *European Scientific Journal*, 12, 162-171. <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n27p162>
- Carter, M. R., & Gregorich, E. G. (2008). *Soil sampling and methods of analysis* (2nd. ed.) Canadian Society of Soil Science, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton.
- Casanova, L. M., Gu, W., Costa, S. S., & Jeppesen, P. B. (2017). Phenolic substances from *Ocimum* species enhance glucose-stimulated insulin secretion and modulate the expression of key insulin regulatory genes in mice pancreatic islets. *Journal of Natural Products*, 80, 3267-3275. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00699>
- Chen, X., Dhungel, J., Bhattarai, S. P., Torabi, M., Pendergast, L., & Midmore, D. J. (2011). Impact of oxygation on soil respiration, yield and water use efficiency of three crop species. *Journal of Plant Ecology*, 4, 236-248. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtq030>
- Chiu, Y.-W., Chao, P.-Y., Tsai, C.-C., Chiou, H.-L., Liu, Y.-C., Hung, C.-C., ... Liu, J.-Y. (2014). *Ocimum gratissimum* is effective in prevention against liver fibrosis *in vivo* and *in vitro*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 42, 833-852. <https://doi.org/10.1142/S0192415X14500530>
- Desprez-Loustau, M.-L., Marçais, B., Nageleisen, L.-M., Piou, D., & Vannini, A. (2006). Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. *Annals of Forest Science*, 63, 597-612. <https://doi.org/10.1051/forest:2006040>
- Evans, R. G., & Sadler, E. J. (2008). Methods and technologies to improve efficiency of water use. *Water Resources Research*, 44, 1-7. <https://doi.org/10.1029/2007WR006200>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
- Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 1039-1042. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Hanaoka, H., Noda, T., Shirano, Y., Kato, T., Hayashi, H., Shibata, D., ... Ohsumi, Y. (2002). Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an Arabidopsis autophagy gene. *Plant Physiology*, 129, 1181-93. <https://doi.org/10.1104/pp.011024>
- Houndou, J. B. F., Jazet, P. M. D., Lazar, G., Raducanu, D., Caraman, I., Bassene, E., ... Lazar, I. M. (2016). Spectral and chemometric analyses reveal antioxidant properties of essential oils from four Cameroonian *Ocimum*. *Industrial Crops and Products*, 80, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.077>
- Kosma, D. K., Bourdenx, B., Bernard, A., Parsons, E. P., Lu, S., Joubes, J., & Jenks, M. A. (2009). The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151, 1918-1929. <https://doi.org/10.1104/pp.109.141911>
- Lehmeier, C. A., Wild, M., & Schnyder, H. (2013). Nitrogen stress affects the turnover and size of nitrogen pools supplying leaf growth in a grass. *Plant Physiology*, 162, 2095-2105. <https://doi.org/10.1104/pp.113.219311>
- Lima, R. L. S. de, Gheyi, H. R., Azevedo, C. A. V. de, Sofiatti, V., Carvalho, G. S., & Cazetta, J. O. (2015). Nutrient allocation among stem, leaf and inflorescence of jatropha plants. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 19, 760-766. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n8p760-766>
- Lund, S. T., Stall, R. E., & Klee, H. J. (1998). Ethylene regulates the susceptible response to pathogen infection in tomato. *Plant Cell*, 10, 371-382. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.3.371>
- Maillard, A., Diquélou, S., Billard, V., Lainé, P., Garnica, M., Prudent, M., ... Ourry, A. (2015). Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00317>
- Mancosu, N., Snyder, R., Kyriakakis, G., & Spano, D. (2015). water scarcity and future challenges for food production. *Water*, 7, 975-992. <https://doi.org/10.3390/w7030975>

- Maqsood, M. A., Awan, U. K., Aziz, T., Arshad, H., Ashraf, N., & Ali, M. (2016). Nitrogen management in calcareous soils: Problems and solutions. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53, 79-95. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/16.4867>
- Masclaux-Daubresse, C. (2016) Autophagy controls carbon, nitrogen, and redox homeostasis in plants. *Autophagy*, 12, 896-897. <https://doi.org/10.4161/auto.36261>
- Morales-Olmedo, M., Ortiz, M., & Sellés, G. (2015). Effects of transient soil waterlogging and its importance for rootstock selection. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75, 45-56. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392015000300006>
- Moswetsi, G., Fanadzo, M., & Ncube, B. (2017). Cropping systems and agronomic management practices in smallholder farms in south africa: constraints, challenges and opportunities. *Journal of Agronomy*, 16, 51-64. <https://doi.org/10.3923/ja.2017.51.64>
- Nguefack, J., Dongmo, J. B. L., Dakole, C. D., Leth, V., Vismer, H. F., Torp, J., ... Nkengfack, A. E. (2009). Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 151-156. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.009>
- Oliva, J., Stenlid, J., & Martínez-Vilalta, J. (2014). The effect of fungal pathogens on the water and carbon economy of trees: Implications for drought-induced mortality. *New Phytologist*, 203, 1028-1035. <https://doi.org/10.1111/nph.12857>
- Ormeño, E., & Fernandez, C. (2012). Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. *Current Bioactive Compounds*, 8, 71-79. <https://doi.org/10.2174/157340712799828188>
- Osuagwu, G. G. E., Edeoga, H. O., & Osuagwu, A. N. (2010). The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin potential of the leaves of *Ocimum gratissimum* L. *Recent Research in Science and Technology*, 2, 27-33.
- Pandey, S. (2017). Phytochemical constituents, pharmacological and traditional uses of *Ocimum gratissimum* L. in tropics. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4, 4234-4242.
- Perez, M. R. (2015). Regulating farmer nutrient management: a three-state case study on the Delmarva Peninsula. *Journal of Environment Quality*, 44, 402-414. <https://doi.org/10.2134/jeq2014.07.0304>
- R Core Team. (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Ren, H., Xu, Z., Zhang, W., Jiang, L., Huang, J., Chen, S., Wang, L., & Han, X. (2013). Linking ethylene to nitrogen-dependent leaf longevity of grass species in a temperate steppe. *Annals of Botany*, 112, 1879-1885. <https://doi.org/10.1093/aob/mct223>
- Ren, H., Xu, Z., Huang, J., Clark, C., Chen, S., & Han, X. (2011). Nitrogen and water addition reduce leaf longevity of steppe species. *Annals of Botany*, 107, 145-155. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq219>
- Ruan, L., Wei, K., Wang, L., Cheng, H., Zhang, F., Wu, L., ... Zhang, C. (2016). Characteristics of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  fluxes in tea (*Camellia sinensis*) roots measured by scanning ion-selective electrode technique. *Scientific Reports*, 6, 1-8. <https://doi.org/10.1038/srep38370>
- Sirousmehr, A., Arbabi, J., & Asgharipour, M. R., (2014). Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Advances in Environmental Biology*, 8, 880-890.
- USDA-NRCS. (1999). *Soil Taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys* (2nd ed.). Natural Resources Conservation Service, U.S. Department of Agriculture. Retrieved from [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_051232.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051232.pdf)
- Stefanelli, D., Goodwin, I., & Jones, R. (2010). Minimal nitrogen and water use in horticulture: Effects on quality and content of selected nutrients. *Food Research International*, 43, 1833-1843. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.022>
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., & Murphy, A. (2014). *Plant Physiology and Development* (6th ed.). Sinauer Associates Inc.
- Thomasson, A. J. (1978). Towards an objective classification of soil structure. *Journal of Soil Science*, 29, 38-46. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1978.tb02029.x>

- Van Den Berg, F., Robert, C., Shaw, M. W., & Van Den Bosch, F. (2007). Apical leaf necrosis and leaf nitrogen dynamics in diseased leaves: A model study. *Plant Pathology*, 56, 424-436. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01565.x>
- Van Den Berg, F., Van Den Bosch, F., Powers, S. J., & Shaw, M. W. (2008). Apical leaf necrosis as a defence mechanism against pathogen attack: Effects of high nutrient availability on onset and rate of necrosis. *Plant Pathology*, 57, 1009-1016. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01865.x>
- Viégas, I. J. M., Cordeiro, R. A. M., de Almeida, G. M., Silva, D. A., da Silva, B. C., Okumura, R. S., ... Freitas, J. M .N. (2018). Growth and visual symptoms of nutrients deficiency in mangosteens (*Garcinia mangostana* L.). *American Journal of Plant Sciences*, 9, 1014-1028. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.95078>
- Wang, X., & Xing, Y. (2017). Evaluation of the effects of irrigation and fertilization on tomato fruit yield and quality: A principal component analysis. *Scientific Reports*, 7, 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00373-8>

### Copyrights

Copyright for this article is retained by the author(s), with first publication rights granted to the journal.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

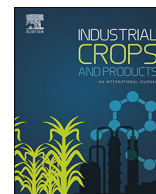
**Anexo B** – Artigo 2 publicado na revista *Industrial Crops and Products*

Título do artigo: **Effect of different water application rates and nitrogen fertilisation on growth and essential oil of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.)**

Revista: **Industrial Crops and Products (ISSN 0926-6690)**

Qualis: **A2 (Biotecnologia) e B1 (Biodiversidade)**

Fator de Impacto: **3.849**



## Effect of different water application rates and nitrogen fertilisation on growth and essential oil of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.)

Crisálida Machado Vilanova<sup>a</sup>, Kátia Pereira Coelho<sup>b</sup>, Tássio Rômulo Silva Araújo Luz<sup>a</sup>, Daniella Patrícia Brandão Silveira<sup>a</sup>, Denise Fernandes Coutinho<sup>a</sup>, Emanuel Gomes de Moura<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmacy, Biological and Health Sciences Center, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>b</sup> Department of Agricultural Engineering, Agrarian Sciences Center, State University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Field capacity  
Nutrient  
Leaf  
Volatile oil  
Aromatic compounds

### ABSTRACT

*Ocimum gratissimum* L. (clove basil) is a popular medicinal plant with vast potential for use in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. The effects of different water application rates, 60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>), 100% (I<sub>100</sub>) and 110% (I<sub>110</sub>) of field capacity (FC), and nitrogen fertilization, 0 (N<sub>0</sub>), 40 (N<sub>2</sub>), 80 (N<sub>4</sub>) and 160 (N<sub>8</sub>) kg of nitrogen/ha, on growth and essential oil of this species were studied. The experiment was carried out for 60 days in a greenhouse in a completely randomised design with three replicates. The isolated volatile constituents were analysed by GC–MS. There was a significant ( $P < 0.05$ ) effect on the growth and production of *O. gratissimum* essential oil for water application rate, nitrogen and the interaction between these two factors. The maximum values of width (8.3 cm), length (11.5 cm) and number of leaves (301.3), leaf dry matter (52.5 g/plant), essential oil content (1.58%) and oil yield (82.9 mL/plant) were obtained in the I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment. Twenty compounds were identified in each clove basil essential oils with predominance of phenylpropanoids in the I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment and of monoterpenes in the other treatments. A water application rate above field capacity together with nitrogen doses higher than normally recommended improves plant growth and increases the production of its essential oil by modifying the metabolic pathway.

### 1. Introduction

The essential oils are reported in aromatic plants distributed mainly in the Mediterranean and tropical countries (Pandey et al., 2014). Essential oils as well as their isolated compounds are widely used in cosmetic (Sarkic and Stappen, 2018), food and pharmaceutical industries (Elshafie and Camele, 2017).

The essential oils are complex mixtures of volatile compounds of low molecular weight, which the constituents fall mainly into two distinct chemical classes: terpenes and phenylpropanoids (Moghaddam and Mehdizadeh, 2017). They are produced by various differentiated structures and are usually stored in the trichomes (glandular hairs), epidermal cells (conical-papillate cells), ducts (secretory canal) or cavities (secretory pockets) of plants (Rehman et al., 2016).

Plants collectively produce thousands of essential oils, whose emission and storage allow plants to withstand numerous abiotic and biotic stress conditions and to mediate ecological interactions with the biotic environment (Ormeño and Fernandez, 2012). However, environmental constraints can limit various physiological and metabolic responses like solute and antioxidant accumulation and expression of

stress-specific genes, which interfere with essential oils production (Ahanger et al., 2017). The amounts of essential oils produced under stress conditions can be modified, depending on the species and magnitude of the stress (Pradhan et al., 2017).

Under natural conditions, plants rarely experience single abiotic factors one at a time, but are much more likely to be exposed to multiple stressors simultaneously (Castro et al., 2017). The influence of multiple stress factors commonly experienced by plants in field environments is often interactive. Knowledge of how multiple stressors affect secondary metabolite accumulation in plants will provide more information to evaluate the biological roles of these metabolites in mitigating stress and provide criteria for describing their optimum yields and quality (Ncube et al., 2012). Hence, this provides a means of ensuring quality in phytomedicine, which has increased in importance in tropical regions, not just due to its strength as an alternative therapy, but also because of the prevalence of neglected diseases in the local communities (Cheuka et al., 2016).

*Ocimum gratissimum* L., a dicotyledonous shrub plant, which belongs to the Lamiaceae family, stands out for the quality, quantity, and chemical diversity of the essential oils it produces. These oils have been

\* Corresponding author.

E-mail address: [egmoura@elointernet.com.br](mailto:egmoura@elointernet.com.br) (E.G. de Moura).

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.047>

Received 16 March 2018; Received in revised form 2 August 2018; Accepted 15 August 2018

0926-6690/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

used in applications in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. Some of these essential oil compounds have antibacterial, insecticidal and antioxidant properties with high demand on the international market of the fine perfumery industry (Santos et al., 2016). It is also popularly used in herbal medicine for treating several diseases, such as upper respiratory tract infection, fever, piles, cough, diarrhoea and pneumonia (Pandey, 2017).

Despite several studies dealing with the effect of water and nutrient stress on *O. gratissimum* (Osugwu et al., 2010; Ormeño and Fernandez, 2012; Ade-Ademilua et al., 2013), information about the influence of multiple and interactive stress factors commonly experienced by plants in the field is scarce. In these tropical circumstances, with high potential evapotranspiration rate and soils having low contents of organic matter, crop production is often co-limited by both water and nitrogen availability and inadequate soil management. Consequently, it is estimated that production may be increased by 45–70% for most crops following improvements in water and N management and by understanding their interactions in affecting crop yield (Sadras et al., 2016).

Available water is defined as the difference between the amount of water in a soil at field capacity and the amount of water in a soil at a permanent wilting point (Lopez and Barclay, 2017). Field capacity corresponds to the highest limit of available water and represents the moisture of the soil after drainage of the water contained in the macropores by gravity. This moisture condition favors higher absorption of water and nutrients by plants and therefore has been recommended as content to satisfactory plant growth (Clay and Trooien, 2017).

A sufficiently suitable availability of nitrogen can increase the essential oil contents in *O. gratissimum* due to promotion of terpenoid emissions by rising electron transport rate and leaf photosynthesis, which provide ATP requirements and carbon substrate availability for isoprene synthesis. This is supported by previous studies that reported a direct relationship between photosynthetic carbon products and terpenoid biosynthesis as well as in studies where positive relationships between leaf or soil nitrogen and terpenoid concentration in leaves has been found (Ormeño and Fernandez, 2012). According to Chude et al. (2012) the dose of 90 kg/ha may be recommended for medicinal crops in tropical conditions.

Although water and nitrogen stress have been reported as the main cause of low production of essential oil in crops, largely unpredictable interactions are a fundamental cause of complexity in processes of plant growth and yield of essential oil when affected by environmental stress (Mohidin et al., 2015; Alves et al., 2017; Bortolheiro and Silva, 2017; Fahad et al., 2017; Gong et al., 2018; Khan et al., 2018). This can cause contradictory results of water and nitrogen stress on essential oil production, when treated alone. Implying that the combined effect of various stresses is more diverse, research efforts aimed at understanding this diversity is essential. Therefore, the aim of this work was to evaluate the combined effect of water and nitrogen on yield and quality of the essential oil of *O. gratissimum* in tropical conditions.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Installation and design of the experiment

The study was carried out in 2016 (September–November) in a greenhouse at Maranhão State University, São Luís, Brazil (2°30'S and 44°18' W). While conducting the experiment, the mean greenhouse temperature was 28 °C, with maximum temperature of 33.8 °C and minimum temperature of 24.9 °C. The mean relative humidity was 71.4%, with the maximum and minimum relative humidity of 77.3% and 68.2%, respectively.

The soil in the study was classified as Ultisol (Soil Taxonomy: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys, 1999) and its chemical properties were determined (Carter and Gregorich, 2008), as follows in Table 1.

**Table 1**

Chemical properties of the soil used in the experiments.

| Parameter                               | Unit                 | Value |
|-----------------------------------------|----------------------|-------|
| Ca <sup>2+</sup>                        | mmol/dm <sup>3</sup> | 32.0  |
| Mg <sup>2+</sup>                        | mmol/dm <sup>3</sup> | 49.0  |
| K <sup>+</sup>                          | mmol/dm <sup>3</sup> | 3.30  |
| Al <sup>3+</sup>                        | mmol/dm <sup>3</sup> | 1.00  |
| H <sup>+</sup>                          | mmol/dm <sup>3</sup> | 4.00  |
| Na <sup>+</sup>                         | mmol/dm <sup>3</sup> | 5.70  |
| SB                                      | mmol/dm <sup>3</sup> | 90.0  |
| CTC                                     | mmol/dm <sup>3</sup> | 95.0  |
| MO                                      | mg/dm <sup>-3</sup>  | 20.0  |
| P                                       | mg/dm <sup>-3</sup>  | 25.0  |
| Ph (CaCl <sub>2</sub> )                 |                      | 8.30  |
| Na <sup>+</sup> /CTC                    | %                    | 6.00  |
| Al <sup>3+</sup> /Al <sup>3+</sup> + SB | %                    | 1.10  |
| V                                       | %                    | 94.7  |

### 2.2. Conduction of the greenhouse experiment

The experiment was conducted in plastic pots with a capacity of 10 dm<sup>3</sup> in a completely randomised design with three replicates, a 5 × 3 factorial arrangement, which consisted of five water regimes, taking into account the percentage of the soil field capacity and three nitrogen doses. The pots were filled uniformly with 10 kg of sieved and homogenised soil. Four seeds of *O. gratissimum* were sown in each vase. To ensure satisfactory development, all plants were fully irrigated until thinning 14 days after sowing, when water application rate and nitrogen fertilization treatments were initiated by keeping two plants per pot. A total of 60% (I<sub>60</sub>), 70% (I<sub>70</sub>), 80% (I<sub>80</sub>), 90% (I<sub>90</sub>) and 100% (I<sub>100</sub>) of field capacity (FC) was used. The volumetric soil moisture content at the FC was determined collecting three replicates of soil samples before the planting in volumetric rings with a 100-cm<sup>3</sup> capacity. The samples were saturated, weighed, placed on a tension table and equilibrated at −10 kPa (Thomasson, 1978). This volumetric soil moisture content was considered to 100% FC (I<sub>100</sub>). The I<sub>100</sub> treatments were used as controls for adding water at the other water application rate. In order to maintain soil in different water regimes, all pots were weighed and adjusted daily at the same time each day. Nitrogen (as urea source) was applied to roots in doses of 0.0, 2.0 and 4.0 g of nitrogen (N) per pot, which correspond to 0 (N<sub>0</sub>), 40 (N<sub>2</sub>) and 80 (N<sub>4</sub>) kg of N/ha, in four equal fractions at 0, 15, 30 and 45 days after emergence (DAE). We also evaluated an additional treatment with 110% FC (I<sub>110</sub>) and 8.0 g of N per pot, which corresponds to 160 kg of N/ha (N<sub>8</sub>). All plants were harvested between 12:00 a.m. and 2:00 p.m. at 60 DAE, when they showed the highest vegetative growth, that is, in the inflorescence. A voucher specimen (MAR-9037) was deposited in the Herbarium of Maranhão, Biology Department, Federal University of Maranhão, Brazil.

### 2.3. Evaluation of morphometric parameters

For the morphometric analyses, the following parameters were considered: leaf size (length and width), number of leaves and dry mass of leaves per plant. All determined during the harvest period at 60 DAE. The length and width of the leaves were measured in the middle third of the largest leaves of each plant by means of a ruler graduated in centimetres. The dry mass of the leaves per plant, expressed in grams per plant, was established by weighing after drying all the leaves of the greenhouse plant with air circulation at 40 °C until constant weight.

### 2.4. Essential oil isolation

All fresh leaves were oven dried at 40 °C until constant weight, crushed and then subjected to hydrodistillation for three hours using a Clevenger-type apparatus, according to the method described in the

Brazilian Pharmacopoeia (Anvisa, 2010). The essential oils obtained were dried with anhydrous sodium sulphate (Merck Chemical Co., Germany) and stored in amber flasks at  $-4^{\circ}\text{C}$  until chemical analysis. The content and yield of the essential oils were determined according to Coutinho et al. (2007).

## 2.5. Chemical analysis of essential oils

The chemical analyses were performed on a Shimadzu GC-17 A gas chromatograph GCMS-QP5050 A coupled with an HP5972 mass spectrometer and equipped with BPX5 column (5% phenyl polysilphenylene-siloxane, 30 m x 0.25 mm id, 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness) using gas helium as entrainment gas at the flow rate of 2.7 mL/min. The temperature was set to remain at  $50^{\circ}\text{C}$ . The injector and detector temperatures were  $280^{\circ}\text{C}$ . A total of 1  $\mu\text{l}$  aliquot was injected in ethyl acetate, with a 150 kPa column pressure, linear velocity of 59.1, with total entrainment flow of 30 mL/min and scan mode 0.5 s.

## 2.6. Identification of components in essential oil extracts

The components of the essential oils were identified by comparing their mass spectra and retention indices (RI) with those of authentic substances in a reference computer library (NIST, 2005; Adams, 2007). The relative percentage of components was calculated using the peak area of each substance in the chromatogram.

## 2.7. Statistical analyses

Data were analysed using the R (R Core Team, 2015) and Sisvar 5.6 (Ferreira, 2011) software. Analysis of variance (ANOVA) was performed and means were compared using the LSD test at 5% significance level. The Principal Components Analysis (PCA) was performed by R (R Core Team, 2015) to investigate the similarities between the components of essential oils of treatments. All the graphics were done with Sigma Plot 10.0 software (Systat Software, San Jose, CA).

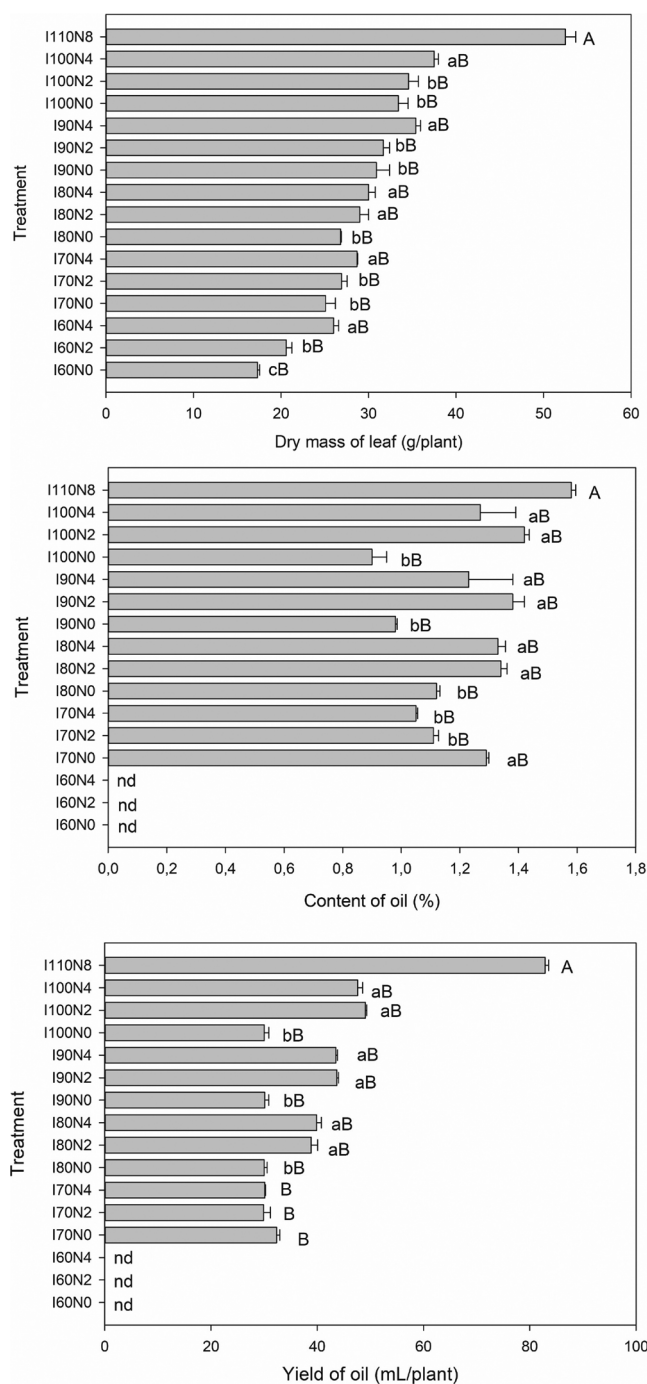
## 3. Results

### 3.1. Morphometric parameters and essential oil production

There was a significant ( $P < 0.05$ ) effect on the morphometric parameters and production of essential oil for water and nitrogen application rate and on the interaction between these two factors.

The effect of different water application rates and nitrogen fertilization in the width and length of leaf and in number of leaves are shown in Tables S1 and S2 of Supplementary Material. The width and length of leaves, for  $N_0$  and  $N_2$  there were no differences between  $I_{60}$ ,  $I_{70}$ , and  $I_{80}$ , but in  $I_{100}$  they were greater than in those treatments. In the dose  $N_4$ , in  $I_{90}$  and  $I_{100}$ , the width and length of leaves also were higher than in  $I_{80}$ ,  $I_{70}$  and  $I_{60}$  ( $P < 0.05$ ). For number of leaves  $I_{90}$ , as well as  $I_{100}$  were higher than the treatments with less water in all doses of nitrogen (Table S1). Differences in the width and length of leaves for nitrogen doses were found out only in  $I_{90}$ , when in  $N_4$  they were greater than  $N_0$  and  $N_2$ . In addition, the number of leaves was greater for  $N_4$ , in  $I_{90}$  and  $I_{100}$  (Table S2).

However, the main effects were noted for dry mass and production of essential oil (Figs. 1 and 2). The dry mass of leaves was affected by the water application rate in all doses of nitrogen, such as  $I_{60} < I_{70} < I_{80} < I_{90} < I_{100}$ . There was a considerable reduction in the content and yield of essential oil in the treatment  $I_{60}$  for all nitrogen doses, to the point of being impossible to quantify the yield. Among other treatments, lower content of oil was achieved by  $I_{70}$  water application rate for the nitrogen doses  $N_2$  and  $N_4$  ( $P < 0.05$ ). In  $N_0$ , the oil content decreased with the increase of the water application rate and of the dry matter of leaves, such as in  $I_{70}$ , it was greater than in  $I_{80}$ ,  $I_{90}$  and  $I_{100}$ ; however this effect did not produce differences in yield of

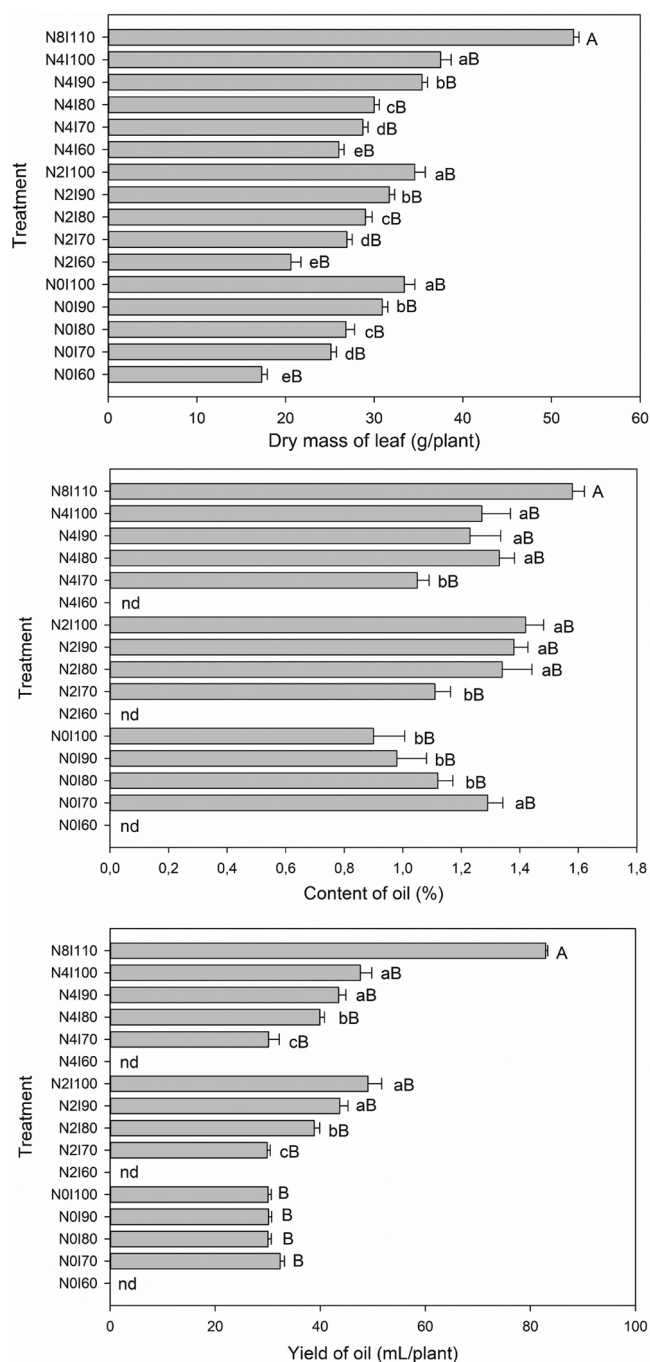


**Fig. 1.** Effect of different water application rate on each dose of nitrogen in the morphometric parameters and in production of essential oil of *Ocimum gratissimum* L. Horizontal lines at the top of the bars indicate standard error. Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) for different Field Capacity (I) inside dose of Nitrogen (N) without additional treatment of  $I_{110}N_8$ . Different uppercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) for different Field Capacity (I) inside dose of Nitrogen (N) with additional treatment of  $I_{110}N_8$ . nd = not determined.

oil. In contrast, in  $N_2$  and  $N_4$  content of oil was lower in  $I_{70}$  than in these other treatments. In the same way, except for  $N_0$ , yield of oil was increased by water application, such that it was greater in  $I_{90}$  and  $I_{100}$  than in  $I_{70}$  and  $I_{80}$ , without differences between them (Fig. 1).

The dry mass of leaves was affected by the nitrogen doses in all water application rates, as follows:  $N_0 < N_2 < N_4$ . The content and yield of oil also were increased by nitrogen dose in  $I_{80}$ ,  $I_{90}$  and  $I_{100}$ . In





**Fig. 2.** Effect of different nitrogen doses at each water application rate on morphometric parameters and production of essential oil of *Ocimum gratissimum* L. Horizontal lines at the top of the bars indicate standard error. Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) for different dose of Nitrogen (N) inside Field Capacity (I) without additional treatment of  $I_{110}N_8$ . Different uppercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) for different dose of Nitrogen (N) inside Field Capacity (I) with additional treatment of  $I_{110}N_8$ . nd = not determined.

these treatments  $N_0$  was lower than  $N_2$  and  $N_4$ , which did not differ between them. Both, morphometric parameters, dry mass of leaves and content of oil was very high in  $I_{110}N_8$ . As such, this yield oil was almost double in this treatment than in the other treatments ( $I_{90}N_4$ ,  $I_{100}N_2$  and  $I_{100}N_4$ ) (Fig. 2).

### 3.2. Chemical composition of essential oil

Twenty compounds (99.99%) were identified in essential oils in each treatment. There were differences in the chemical composition of *O. gratissimum* essential oil between treatments submitted to different rates of water application and nitrogen fertilization (Table 2). There were huge differences for methyleugenol content between  $I_{110}N_8$  (70.37%) compared to other treatments ( $< 2.0\%$ ). Other remarkable differences were  $\beta$ -caryophyllene (6.51% to trace) and *o*-cymene (4.48% to trace). On the other hand, other components were lower in  $I_{110}N_8$  as linalool ( $> 29.65\%$  to trace), 1,8-cineole ( $> 17.88\%$  to 1.44%) and  $\alpha$ -bergamotene ( $> 8.32\%$  to trace). In the treatments  $I_{110}N_8$  phenylpropanoids compounds predominated (70.37%), while under other treatment, monoterpenes be most prominent ( $> 61.78\%$ ).

According to principal component analysis (PCA), the first principal component (methyleugenol) represented 79.5% of the total variance for the different water application rates and nitrogen fertilization between  $I_{110}N_8$  and other treatments, while the second principal component (linalool) represented only 8.6% (Fig. 3(a) and (b)).

The score plot showed the  $I_{110}N_8$  treatment had a very different distribution of the other treatments in which its constituents were formed by phenylpropanoid (methyleugenol), monoterpenes ( $\gamma$ -terpinene and *o*-cymene) and sesquiterpenes ( $\alpha$ -bergamotene,  $\beta$ -caryophyllene,  $\beta$ -selinene, isocaryophyllene and humulene) without correlation with the other treatments (Fig. 3(a) and (b)). However, in the other treatments there were two clusters with similarity: cluster 1: with positive correlation with methyleugenol (first component):  $I_{80}N_0$ ,  $I_{80}N_2$ ,  $I_{80}N_4$ ,  $I_{90}N_0$  and  $I_{100}N_0$ ; cluster 2: with positive correlation with methyleugenol (first component) and linalool (second component):  $I_{70}N_0$ ,  $I_{70}N_2$ ,  $I_{70}N_4$ ,  $I_{90}N_2$ ,  $I_{90}N_4$ ,  $I_{100}N_2$  and  $I_{100}N_4$  (Fig. 3a). The analysis of the distribution of the chemical compounds by PCA indicate also which in the cluster 1 is a combination of the phenylpropanoid (eugenol), monoterpene (*d*-limonene), ester (eugenyl acetate) and sesquiterpenes ( $\alpha$ -bergamotene,  $\beta$ -cedrene,  $\tau$ -cadinol and  $\gamma$ -cadinene and  $\beta$ -elemene); while the cluster 2 is composed of monoterpenes (1,8-cineole,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpineol, sabinene and linalool) and esters (octyl acetate and bornyl acetate) (Fig. 3(b)).

In the analysis the distribution of the treatments without  $I_{110}N_8$  treatment by PCA, the first (linalool) and second principal (1,8-cineole) component represented, respectively, 42.5% and 14.72% of the total variance for the different water application rates and nitrogen fertilization (Fig. 4(a) and (b)).

In the other PCA done without  $I_{110}N_8$  treatment there were four clusters of cooperating: cluster 1: with positive correlation with linalool (first component) between  $I_{70}N_4$ ,  $I_{90}N_0$ ,  $I_{90}N_2$ ,  $I_{90}N_4$  and  $I_{100}N_4$ ; cluster 2: with positive correlation with 1,8-cineole (second component) between  $I_{80}N_4$  and  $I_{100}N_0$ ; cluster 3: with positive correlation with linalool and 1,8-cineole between  $I_{70}N_0$ ,  $I_{70}N_2$  and  $I_{100}N_2$ ; cluster 4: with negative correlation with linalool and 1,8-cineole between  $I_{80}N_0$  and  $I_{80}N_2$  (Fig. 4(a)). The results obtained from the PCA for the chemical constituents showed also that: cluster 1 is formed by monoterpenes (linalool and sabinene) and ester (octyl acetate); cluster 2 is composed of sesquiterpenes ( $\beta$ -cedrene and  $\alpha$ -bergamotene) and ester (bornyl acetate); cluster 3 consist in monoterpenes ( $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -terpineol and 1,8-cineole); cluster 4 is the arrangement of monoterpene (*d*-limonene), phenylpropanoid (eugenol), ester (eugenyl acetate) and sesquiterpenes ( $\beta$ -elemene,  $\tau$ -cadinol and  $\gamma$ -cadinene) (Fig. 4(b)).

The increase of the N dose influenced the chemical composition in all treatments independent of the rate of application of water, with a lower impact on the treatment  $I_{90}$ , in which there was similarity of composition between the doses of N (Fig. 4(a)).

In the treatments under drought stress, a discrete interaction between the water stress and increase of the concentration of N in relation to the greater synthesis of monoterpenes was observed (Fig. 4(a) and (b)).



**Table 2**  
Essential oil composition of *Ocimum gratissimum* L. in response to different water application rates and nitrogen fertilization.

| COMPONENT       |                         | RI   | I <sub>70</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>70</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>70</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>80</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>80</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>80</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>90</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>90</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>90</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>100</sub> N <sub>0</sub> | I <sub>100</sub> N <sub>2</sub> | I <sub>100</sub> N <sub>4</sub> | I <sub>110</sub> N <sub>8</sub> |     |       |     |       |   |       |      |       |   |       |      |       |
|-----------------|-------------------------|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----|-------|-----|-------|---|-------|------|-------|---|-------|------|-------|
| 1               | Sabinene                | 897  | 1.07                           | h                              | 1.10                           | g                              | 1.4                            | a                              | 1.15                           | f                              | 1.01                           | i                               | 1.15                            | f                               | 1.34                            | b   | 1.24  | c   | 1.18  | e | 1.10  | g    | 1.14  | f | 1.21  | d    | -     |
| 2               | α-Thujene               | 902  | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | -    | 0.40  |
| 3               | β-Pinene                | 943  | 3.60                           | c                              | 4.07                           | a                              | 3.99                           | b                              | 3.16                           | g                              | 2.73                           | k                               | 3.08                            | i                               | 3.39                            | d   | 3.14  | h   | 3.28  | e | 2.98  | j    | 2.99  | j | 3.21  | f    | -     |
| 4               | α-Pinene                | 948  | 1.83                           | d                              | 2.12                           | a                              | 1.94                           | b                              | 1.86                           | c                              | 1.26                           | j                               | 1.53                            | h                               | 1.76                            | e   | 1.52  | h,i | 1.62  | f | 1.47  | k    | 1.50  | i | 1.58  | g    | 0.23  |
| 5               | β-Myrcene               | 958  | 2.25                           | c                              | 2.64                           | b                              | 2.88                           | a                              | 1.72                           | g                              | 1.61                           | i                               | 1.70                            | h                               | 1.89                            | f   | 2.08  | d   | 1.94  | e | 1.49  | k    | 1.55  | j | 1.71  | g,h  | 0.22  |
| 6               | γ-Terpinene             | 998  | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 2.03 |       |
| 7               | d-Limonene              | 1018 | 1.09                           | b                              | -                              | -                              | -                              | -                              | 0.91                           | d                              | 0.78                           | f                               | 0.90                            | d                               | 1.21                            | a   | 0.92  | c   | 0.77  | f | 0.85  | e    | -     | - | 0.72  | g    | -     |
| 8               | α-Cymene                | 1042 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 4.48 |       |
| 9               | 1,8-Cineole             | 1059 | 24.08                          | c                              | 24.60                          | b                              | 25.22                          | a                              | 19.22                          | k                              | 17.88                          | l                               | 21.08                           | j                               | 22.32                           | g   | 22.99 | e   | 21.69 | h | 21.28 | i    | 22.73 | f | 24.01 | d    | 1.44  |
| 10              | Linalool                | 1082 | 33.02                          | f                              | 30.06                          | k                              | 34.24                          | e                              | 31.97                          | i                              | 32.31                          | h                               | 31.05                           | j                               | 32.78                           | g   | 37.03 | a   | 36.55 | b | 29.65 | l    | 36.3  | c | 34.34 | d    | -     |
| 11              | 1-Octen-3-ol acetate    | 1109 | 0.69                           | a                              | 0.56                           | b                              | 0.45                           | d                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | 0.53  | c | -     | -    |       |
| 12              | Camphor                 | 1121 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | 0.73                            | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | -    |       |
| 13              | Terpinen-4-ol           | 1137 | -                              | -                              | 0.54                           | a                              | 0.39                           | b                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 0.38 |       |
| 14              | α-Terpineol             | 1143 | 1.72                           | h                              | 1.93                           | c                              | 1.86                           | e                              | 1.39                           | k                              | 1.70                           | i                               | 1.83                            | f                               | 1.83                            | f   | 1.89  | d   | 1.76  | g | 1.96  | b    | 2.02  | a | 1.69  | j    | -     |
| 15              | δ-Terpineol             | 1166 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | 0.58 | -     | - | -     | -    |       |
| 16              | Octyl acetate           | 1183 | 1.48                           | g                              | 1.57                           | c                              | 1.64                           | b                              | 1.53                           | d                              | 1.23                           | i                               | 1.39                            | e,f                             | 1.90                            | a   | 1.57  | c   | 1.57  | c | 1.26  | h    | 1.39  | f | 1.40  | e    | -     |
| 17              | Thymol methyl ether     | 1231 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 0.23 |       |
| 18              | Thymol                  | 1262 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 2.66 |       |
| 19              | Bornyl acetate          | 1277 | 2.98                           | e                              | 3.84                           | b                              | 1.92                           | l                              | 2.21                           | i                              | 2.50                           | g                               | 2.83                            | f                               | 2.02                            | k   | 3.02  | d   | 2.36  | h | 3.88  | a    | 3.26  | c | 2.15  | j    | -     |
| 20              | Methylugenol            | 1361 | 1.06                           | h,i                            | 1.18                           | f                              | 1.08                           | h                              | 1.00                           | j                              | 0.91                           | k                               | 1.36                            | e                               | 1.57                            | c   | 0.80  | l   | 1.44  | d | 1.59  | b    | 1.16  | g | 1.05  | i    | 70.37 |
| 21              | Eugenol                 | 1392 | 1.32                           | k                              | 1.80                           | h                              | 2.38                           | d                              | 2.48                           | c                              | 2.76                           | a                               | 2.12                            | f                               | 2.53                            | b   | 1.49  | i   | 1.92  | g | 2.54  | b    | 2.27  | e | 1.41  | j    | -     |
| 22              | β-Elemene               | 1398 | 0.96                           | e                              | 1.10                           | d                              | 0.67                           | i                              | 1.31                           | a                              | 1.20                           | c                               | 1.22                            | b                               | 0.90                            | f   | 0.87  | g   | 0.71  | h | 1.22  | b    | -     | - | 0.71  | h    | -     |
| 23              | β-Cedrene               | 1421 | 1.17                           | f                              | 1.34                           | e                              | 1.11                           | h                              | 1.63                           | c                              | 1.82                           | a                               | 1.76                            | b                               | 1.13                            | g,h | 1.14  | g   | 1.06  | i | 1.52  | d    | 1.08  | i | 1.04  | j    | -     |
| 24              | α-Bergamotene           | 1430 | 8.94                           | i                              | 10.58                          | d                              | 8.44                           | j                              | 11.47                          | c                              | 12.65                          | a                               | 11.56                           | b                               | 9.30                            | f   | 9.20  | g   | 8.32  | k | 9.66  | e    | 8.93  | i | 8.96  | h    | -     |
| 25              | γ-Cadinene              | 1435 | 3.20                           | f                              | 2.81                           | g                              | 2.53                           | i                              | 3.84                           | c                              | 4.45                           | a                               | 4.02                            | b                               | 3.29                            | e   | 2.79  | g,h | 2.78  | h | 3.49  | d    | 2.41  | j | 2.78  | h    | -     |
| 26              | β-Selinene              | 1469 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 3.08 |       |
| 27              | α-Selinene              | 1474 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 1.64 |       |
| 28              | 4-epi-α-Acoradiene      | 1475 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 0.32 |       |
| 29              | Isocaryophyllene        | 1476 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 2.62 |       |
| 30              | β-Caryophyllene         | 1494 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 6.51 |       |
| 31              | Caryophyllene oxide     | 1507 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 0.46 |       |
| 32              | (Z)-γ-Bisabolene        | 1515 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 0.81 |       |
| 33              | Spathulenol             | 1536 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | 0.84                           | b                              | 0.70                           | d                               | 0.64                            | e                               | -                               | -   | 0.52  | g   | 0.55  | f | 1.69  | a    | 0.53  | g | 0.72  | c    | 0.20  |
| 34              | Eugenyl acetate         | 1552 | 1.79                           | i                              | 1.18                           | l                              | 1.55                           | k                              | 2.61                           | e                              | 2.86                           | d                               | 1.60                            | j                               | 3.24                            | b   | 1.95  | h   | 2.52  | f | 3.97  | a    | 3.01  | c | 2.44  | g    | -     |
| 35              | 9-epi-(E)-Caryophyllene | 1572 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 0.24 |       |
| 36              | Humulene                | 1579 | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                              | -                               | -                               | -                               | -                               | -   | -     | -   | -     | - | -     | -    | -     | - | -     | 1.68 |       |
| 37              | α-Cadinol               | 1580 | 6.96                           | g                              | 6.23                           | h                              | 5.67                           | k                              | 8.99                           | a                              | 8.61                           | b                               | 8.23                            | d                               | 6.16                            | i   | 5.28  | l   | 7.20  | f | 8.36  | c    | 5.92  | j | 8.02  | e    | -     |
| 38              | epi-Cubanol             | 1627 | 0.77                           | f                              | 0.75                           | g                              | 0.62                           | i                              | 1.03                           | a                              | 1.01                           | b                               | 0.96                            | d                               | 0.70                            | h   | 0.58  | j   | 0.78  | f | 0.98  | c    | 0.64  | h | 0.88  | e    | -     |
| Monoterpene     |                         |      | 71.65                          |                                | 70.9                           |                                | 73.85                          |                                | 63.59                          |                                | 61.78                          |                                 | 65.15                           |                                 | 69.27                           |     | 73.83 |     | 71.15 |   | 64.66 |      | 72.13 |   | 70.62 |      | 12.07 |
| Sesquiterpene   |                         |      | 22.00                          |                                | 22.81                          |                                | 19.04                          |                                | 29.11                          |                                | 30.44                          |                                 | 28.39                           |                                 | 21.48                           |     | 20.38 |     | 21.40 |   | 26.92 |      | 19.51 |   | 23.11 |      | 17.56 |
| Phenylpropanoid |                         |      | 2.38                           |                                | 2.98                           |                                | 3.46                           |                                | 3.48                           |                                | 3.67                           |                                 | 3.48                            |                                 | 4.10                            |     | 2.29  |     | 3.36  |   | 4.13  |      | 3.43  |   | 2.46  |      | 70.37 |
| Ester           |                         |      | 3.96                           |                                | 3.31                           |                                | 3.64                           |                                | 4.14                           |                                | 4.09                           |                                 | 2.99                            |                                 | 5.14                            |     | 3.52  |     | 4.09  |   | 5.23  |      | 4.93  |   | 3.84  |      | 0.00  |
| Total           |                         |      | 99.99                          |                                | 99.99                          |                                | 99.99                          |                                | 99.99                          |                                | 99.99                          |                                 | 99.99                           |                                 | 99.99                           |     | 99.99 |     | 99.99 |   | 99.99 |      | 99.99 |   | 99.99 |      | 99.99 |

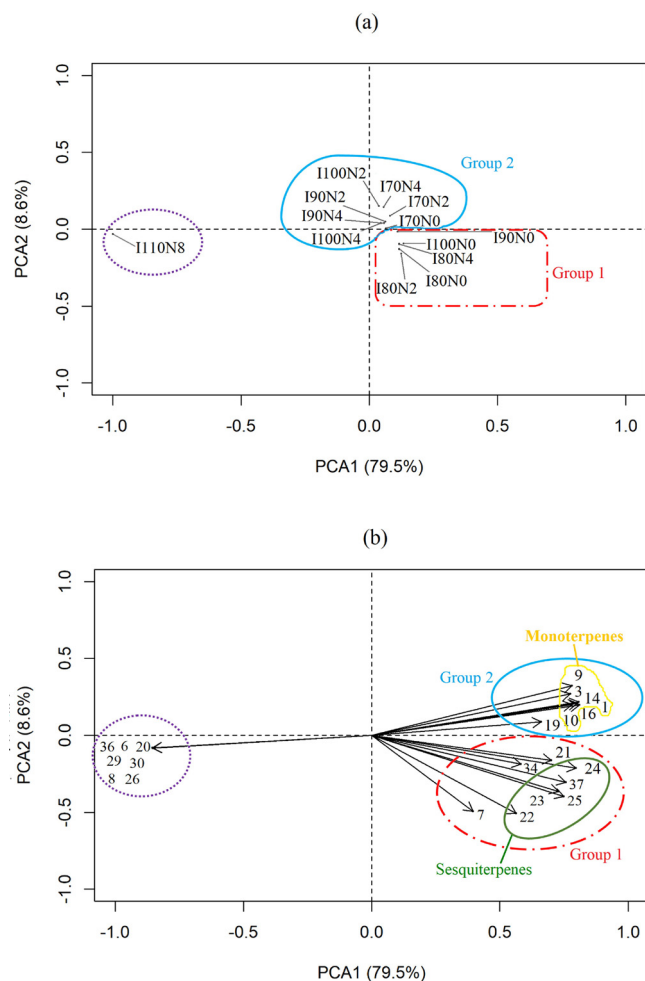
Data are mean (n = 3). The main components are shown in boldface values.

Mean with different lowercase letters in the line differ between itself by LSD test at 5%.

RI = retention index, Kovat's index according to the literature (see [Adams, 2007](#) and [NIST, 2005](#)).

I<sub>70</sub> = 70% Field Capacity (FC), I<sub>80</sub> = 80% FC, I<sub>90</sub> = 90% FC, I<sub>100</sub> = 100% FC and I<sub>110</sub> = 110% FC with N<sub>0</sub> = 0 g of Nitrogen (N)/ha, N<sub>2</sub> = 40 g of N/ha, N<sub>4</sub> = 80 g of N/ha and N<sub>8</sub> = 160 kg of N/ha.

- = not detected.



**Fig. 3.** Distribution of the treatments (a) and chemical constituents (b) of the essential oil of *O. gratissimum* L. in relation to the two principal components through analysis of the principal component analysis (PCA) for different water application rates and nitrogen fertilization with additional treatment of 110% field capacity and 160 kg of N/ha (I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>). Projection of the average contents of the essential oil compounds onto the first two principal axes (+ and – indicate positive and negative correlations with axes, respectively). Numbers represented in the plain correspond to those compounds reported in Table 2.

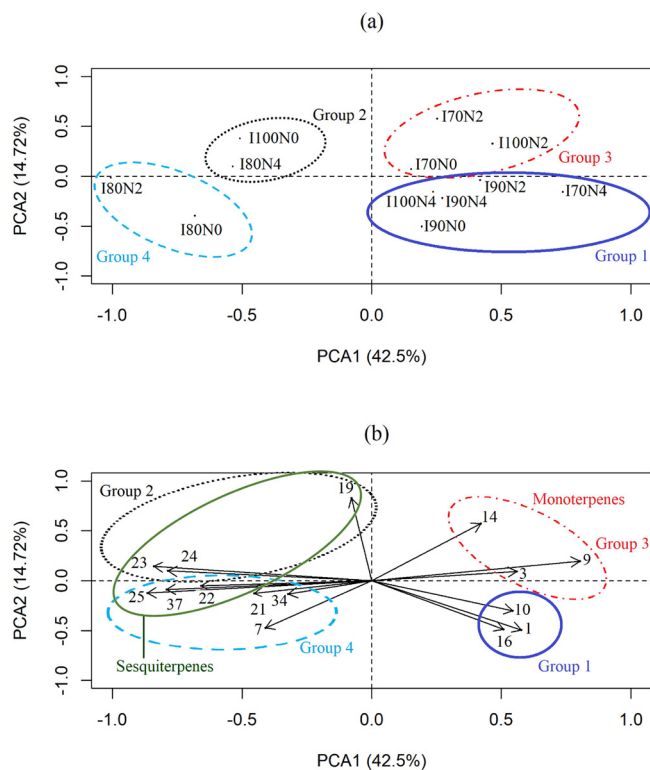
## 4. Discussion

### 4.1. Morphometric parameters and essential oil production

We evaluated the effect of different water application rates and nitrogen fertilization on the *Ocimum gratissimum* growth and on the production of essential oil (EO) from its leaves.

Results of morphometric parameters showed high sensitivity of *O. gratissimum* to soil water deficit in tropical conditions. Larger leaves and a higher number of leaves were produced with soil moisture nearest to field capacity. Leaf growth and leaf appearance rate are much more sensitive to water stress than photosynthesis and transpiration (Tardieu, 2013). The I<sub>100</sub> treatment produced almost a 50% higher number of larger leaves for dose of nitrogen N<sub>4</sub> than the treatments with lower rate water application. It is worth highlighting that this difference was much narrower in the N<sub>0</sub> and N<sub>2</sub> doses (Table S1).

The reduction in leaf area and plant growth is considered an early response to water deficit, since it allows the plant to reduce its transpiration, thus increasing water use efficiency (Basu et al., 2016; Fathi and Tari, 2016). Therefore, it is believed that the decrease of the leaf area of *O. gratissimum* under water stress observed in our study (I<sub>60</sub> and



**Fig. 4.** Distribution of the treatments (a) and chemical constituents (b) of the essential oil of *O. gratissimum* L. in relation to the two principal components through analysis of the principal component analysis (PCA) for different water application rates and nitrogen fertilization without additional treatment of 110% field capacity and 160 kg of N/ha (I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>). Projection of the average contents of the essential oil compounds onto the first two principal axes (+ and – indicate positive and negative correlations with axes, respectively). Numbers represented in the plain correspond to those compounds reported in Table 2.

I<sub>70</sub> treatments) is primarily due to the reduction of the cellular elongation. Water reduction limits plant cell elongation by reducing cell turgor, which depends on water and osmotic pressure (Feng et al., 2016). In turn, the large differences in number of leaves can be explained by the increased rate and duration of leaf appearance in I<sub>100</sub> and I<sub>110</sub>, as well as, by a more accelerated abscission process in treatments with lower rate water application. The leaf appearance rate is usually calculated from the quotient of the number of leaves produced from sowing until flowering and the time elapsed between these events. Leaf appearance rate can be slowed or even inhibited by water stress (Martínez-Eixarch et al., 2013; Davidson et al., 2017).

In turn, water stress situation increases production of plant ethylene and abscisic acid (Salazar et al., 2015; Joshi et al., 2018), which are hormone activators of foliar abscission (Zhao et al., 2016; Iqbal et al., 2017). The concentration of these hormones determines a plant's ability to decrease transpiration as a way to slow the symptoms of dehydration (Yang et al., 2014; Zhao et al., 2016).

Together, larger size and a greater number of the leaves resulted in differences of dry matter of leaves in any level of water rate application (Table S1 and Fig. 1). Water stress reduces dry matter yield primarily by leaf area development and the consequent effect on accumulated leaf number. Leaf area growth determines the light interception capacity of a crop and is often used as a surrogate for plant growth in high-throughput phenotyping systems (Weraduwage et al., 2015). The relationship between leaf area growth and growth in terms of mass will depend on how carbon is partitioned among new leaf and of the transpiration rate, stomatal conductance, and leaf nitrogen content. Both, transpiration rate and stomatal conductance are dependent on soil water content (Wang et al., 2012; Weraduwage et al., 2015).

Our results also showed high sensitivity of *O. gratissimum* to nitrogen application to increase dry matter of leaves, in all soil water level application used (Fig. 2). Increased N supply can lead to higher leaf N concentrations, which promote higher photosynthetic rates and radiation use efficiency (Chen et al., 2016; Shi et al., 2016; Khan et al., 2017). Therefore, nitrogen is a key factor regulating photosynthetic responses to soil water application because it is a major component of rubisco and other photosynthetic enzymes and structures (Sun et al., 2016; Zhong et al., 2017).

Elevated concentrations of N in leaves and soil water have synergistic effects on photosynthesis and biomass production (Kim et al., 2008; Dinh et al., 2017). Low N supply, on the other hand, can decrease or even eliminate the positive effect of soil water (Wang et al., 2012). The difference in leaf dry matter between  $N_4I_{100}$  and  $N_8I_{110}$  of 40% (37.5–52.5 g/plant) suggest that in tropical conditions the response of *O. gratissimum* to elevated level of water and nitrogen to production of leaf biomass demand application of these inputs in a dosage greater than the commonly recommended.

Generally, in water stress conditions the reduction of the dry mass correlates with the increase of the values of content and yield of the EO (Emami Bistgani et al., 2017). However, this issue is controversial, although several authors have reported increased production of EO with reduced dry mass by soil water reduction (Baher et al., 2002; Ozturk et al., 2004; Bahreininejad et al., 2014; Anderson et al., 2016), some researchers have associated the reduction of the content and the yield of EO with the reduction of the dry mass as a function of the water reduction (Letchamo et al., 1994; Eiasu et al., 2008; Azizi et al., 2009; Askary et al., 2018).

With respect to N, increasing the dose of N may increase the production of EO (Said-Al Ahl et al., 2009; Singh et al., 2016), as well as decrease it (Azizi et al., 2009). In addition, in the studies of Arabaci and Bayram (2004) and Afkari (2016) with *O. basilicum* (sweet basil), the highest production of EO was obtained in treatments lacking N. Our results show that oil content increases with water stress and decreases in dry matter only when in nitrogen stress conditions (Fig. 2). When some nitrogen dose was applied, interactions between water and nitrogen increased content and yield of EO drastically in such a way that there was 74% difference in EO yield between  $N_4I_{100}$  and  $N_8I_{110}$ . This difference can be accounted for by variation in the number and dry matter of leaves, and in EO oil content. In our study, results of this interaction can be verified comparing the  $N_4I_{100}$  treatment with  $N_2I_{100}$  (nitrogen stressed) or with  $N_4I_{70}$  (water stressed) in our study. Nitrogen applications generally increase EO content and yield in aromatic plants by enhancing the amount of biomass yields per unit area, leaf area development and photosynthetic rate (Askary et al., 2018).

An important feature of multiple stressors is that their effects are frequently non-additive. Albarenque et al. (2016) used the concept of water–nitrogen co-limitation to explore maize response to availability of resources. Co-limitation is operationally identified when the output response of a biological system (e.g. plant or population growth) to two or more inputs is greater than its response to each factor in isolation. Interactions between water and nitrogen influence processes ranging from the ecosystem to the molecular level. Water–nitrogen interactions affect crop yield, leaf stoichiometry, photosynthesis, senescence and root-to-shoot translocation. The hypothesis of Bloom et al. (1985) that plant production is maximised when it is equally limited by all resources, is reworded in terms of co-limitation and formulated in quantitative terms, i.e., for a given intensity of aggregate stress, plant production is proportional to degree of resource co-limitation.

#### 4.2. Chemical composition of essential oil

It is known that abiotic factors, such as water and nutritional stress, have the potential to induce physiological changes in plants with metabolic pathway modifications (Olivoto et al., 2017). The reduction in water application rates and in nitrogen fertilization caused relative

abundance changes in the EO composition, but the chemotype was maintained and the main compounds were the same. However, the  $I_{110}N_8$  treatment caused a chemotype switch in the EO and relevant differences in the overall composition, with an increment of the relative abundance of phenylpropanoids, coupled with a relevant decrement in the abundance of monoterpenes.

There was a marked divergence of the chemical composition between the treatment  $I_{110}N_8$ , which presented methyleugenol as the major component (70.37%), followed by  $\beta$ -caryophyllene (6.51%) and *o*-cymene (4.48%) and in the other treatments, in which linalool (29.65 to 37.03%), 1.8-cineole (17.88 to 25.22%) and  $\alpha$ -bergamotene (8.32 to 12.65%) predominated as the major components. Methyleugenol is a phenylpropanoid, originating via shikimate in cytosol (Tan and Nishida, 2012), while *o*-cymene, linalool and 1.8-cineole are monoterpenes, originating from mevalonate in cytosol and methylerythritol-phosphate in plastids (Karupiah et al., 2017).  $\beta$ -Caryophyllene and  $\alpha$ -bergamotene are sesquiterpenes synthesized by farnesyl diphosphate, generally in the cytosol (Palmer-Young et al., 2015). The qualitative alteration of the chemical composition of EO occurred in treatment  $I_{110}$  resulted, therefore, of the a modification of the metabolic pathway.

There are three possible hypothesis for the alteration in the chemical composition of the EO of  $I_{110}N_8$ , especially in relation to methyleugenol. First, the light during harvested influenced the synthesis of the methyleugenol. Second, the activity of phenylpropanoid biosynthesis regulating enzymes, such as phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and eugenol *O*-methyltransferase (EOMT), may have been stimulated by stress. Third, there was biochemically dependent co-limitation by both water and nitrogen.

Such a drastic change was also observed by de Vasconcelos Silva et al. (1999) who analysed the chemical variation during daytime of constituents of EO of *O. gratissimum* leaves. In this study, the considerable variation was observed in the eugenol yield, with 98%, in the EO extracted from leaves harvested at 12.00 a.m. and 11% in the EO extracted from leaves harvested at 05.00 p.m., while 1.8-cineole, the second major component, showed an abnormal variation from zero at 12.00 a.m. until 75.5% at 05.00 p.m. In our study, the leaves were harvested between 10:00 a.m. and 12:00 a.m., initiating from the  $I_{60}N_8$  treatment and ending with the  $I_{110}N_8$  treatment. At 10:00 a.m. de Vasconcelos Silva et al. (1999) reported increased of linalool and 1.8-cineole and at 11:00 a.m. the researchers cited increased of eugenol, decreased of 1.8-cineole and absence of linalool, similars ours results with  $I_{110}N_8$  treatment.

Different wavelengths on plant could be modulate the compounds present in the EO. Ascrizzi et al. (2018) in the investigation of the influence of red light on the chemical composition of the EO of *Petroselinum crispum* (parsley) too reported a switch in the chemotype from myristicin, a phenylpropanoid, of the control sample to (E,E)- $\alpha$ -farnesene, a sesquiterpene, of the end of the day monochromatic red (660 nm) treatment.

In addition, the activity of phenylpropanoid biosynthesis regulating enzymes, such as PAL, may have contributed to this biosynthetic pathway change. The enzyme PAL is sensitive to environmental stimuli and is the first key enzyme in the metabolism of phenylpropanoids, responsible for catalysing the deamination of phenylalanine (aromatic amino acid derived from the shikimate pathway) in cinnamic acid (Payyavula et al., 2012). As in more irrigated regimes there is an intense increase in the activity of PAL (Machado et al., 2013; Wang et al., 2014), it is believed that the greater water application rate in the  $I_{110}N_8$  treatment may have altered the levels of PAL, which provoked an increase of phenylpropanoids.

Besides PAL, cinnamate 4-hydroxylase (C4H), coniferyl alcohol acyltransferase (CFAT), eugenol synthase (EGS) and eugenol *O*-methyltransferase (EOMT) are also important in the phenylpropanoids pathway, especially in synthesis of methyleugenol. C4H utilize cinnamic acid as substrate to produce coumaric acid, intermediate of the coniferyl alcohol (Hirata et al., 2016). Coniferyl alcohol is monolignol

alcohol intermediate of the lignin biosynthetic pathway and serve as the precursor for phenylpropanoid biosynthesis. This alcohol is first converted to acetate by CFAT. The reductive elimination of the acetate moiety, which is catalyzed by EGS or by isoeugenol synthase (IGS) yields the propenyl side chain (Anand et al., 2016). Eugenol and isoeugenol have the same precursor: coniferyl acetate. The coniferyl acetate may produce isoeugenol by IGS or it may form eugenol by EGS. Methylation of eugenol and isoeugenol at the para -OH group of the phenyl ring is catalyzed by EOMT and isoeugenol O-methyl transferase (IOMT) to form their methyl ether derivatives, methyleugenol and methylisoeugenol, respectively (Anand et al., 2016; Hirata et al., 2016). EGS also utilizes coumaryl acetate as substrate to produce chavicol. However, chavicol did not synthesized by *O. gratissimum* in our treatments in conform by Hirata et al. (2016), which demonstrated that coniferyl acetate is the preferred substrate over coumaryl acetate by EGS in *Ocimum* species.

Thus, considering that there was no production of chavicol, isoeugenol and methylisoeugenol in  $I_{110}N_8$ , our hypothesis is that there was also stimulation of EOMT, in addition to PAL, in this treatment. The O-methyltransferases, as OEMT, constitute a large family of enzymes that methylate the oxygen atom of a variety of secondary metabolites including phenylpropanoids and this O-methylation plays a key role in stress tolerance (Lam et al., 2007). This may lead also to the hypothesis that the other treatments with deficit water and low dose of nitrogen were perceived as a less stressful environment by *O. gratissimum* and, consequently, PAL and EOMT enzymes were less induced and the phenylpropanoids were minor synthesized in these treatments, as can be observed by PCA analysis (Fig. 3(b)), in which cluster 2 ( $I_{70}N_0$ ,  $I_{70}N_2$ ,  $I_{70}N_4$ ,  $I_{90}N_2$ ,  $I_{90}N_4$ ,  $I_{100}N_2$  and  $I_{100}N_4$ ) did not show correlation with phenylpropanoids.

Nitrogen applied at an increased rate can also modify the chemical composition of EO, as was can be observed by PCA analysis that revealed the chemical variability in relation to the increase of the dose of N (Fig. 4). Nitrate ( $NO_3^-$ ) and ammonium ( $NH_4^+$ ) are two major inorganic N forms for plants in soils. Due to various factors (e.g., root interference, soil moisture and soil microorganisms), the reciprocal transformation between ammonium and nitrate is very common in soils. Thus, roots are always ready to absorb both forms of nitrogen in soils (Ruan et al., 2016). Nitrogen uptake and use by plants are dependent, among others, on the type of fertilizer (nitrogen form) and its amount (nitrogen rate). The response of plants to different nitrogen forms depends on the concentration of  $NH_4^+$  and  $NO_3^-$  ions in the nutritional environment, whereas the excess uptake of  $NH_4^+$  ions causes disturbances in plant metabolism leading even to poisoning (Nurzyńska-Wierdak, 2013).

Kong et al. (2017), for example, showed in their study with *Triticum aestivum* (wheat),

that excess nitrogen altered the secondary metabolism vegetable in such a way that there were 99 different metabolites between the treatments with normal and excessive nitrogen fertilization. Nurzyńska-Wierdak and Borowski, 2011 in their research with *O. basilicum* also reported an increase of methyleugenol and decrease of eugenol with higher doses of N, similar by ours findings. Perhaps *O. gratissimum* in our study also considered the dose of 160 kg of N/ha a more stressful factor than the other doses of N and this stress along with water application rate above field capacity have contributed to the higher production of phenylpropanoids according to with the biochemically dependent co-limitation theory.

The concept of water and N co-limitation has been used to describe how these competing resources are allocated during growth, it has been proposed that growth is optimum when water and N are equally limiting (Riar et al., 2016), in our research, *O. gratissimum* also showed higher leaf growth in the  $I_{110}N_8$  (Figs. 1 and 2), which reinforces this hypothesis of co-limitation. In  $I_{110}N_8$  the N dose and the water application rate suggest a synergistic relationships between nitrogen and water on the production of phenylpropanoids by co-limitation.

According to Ågren et al. (2012), co-limitation occur at very strict nutrient ratios (optimum ratios) and the rate control on growth by one nutrient depends on the rate control by another nutrient of another process, where two nutrients both limit growth, but because of the multiple limitation of resources, the co-limitation will always exist and plants should always be driven towards the point of optimum nutrient ratios, where it is difficult to know whether the optimum is actually a single value or rather a range of ratios and a consequence of such balancing of resources is a variable root:shoot allocation. In addition, emerging evidence highlights the importance of microbial and fungal endophytes in the tissues of large terrestrial higher plants (Bracken et al., 2015). The fungal endophytes can also decline the diversity of root-associated bacteria with higher soil moisture, whereas in its absence, bacterial diversity increases with higher soil moisture (Bell-Dereske et al., 2017). However, their effects (like increase of concentration of N in shoots and roots) generally depend on water supply (Bowles et al., 2018).

This can explain the divergence of our results in relation to the studies of Hazzoumi et al. (2015). These researchers reported that the mycorrhization decrease phenolic compounds (like phenylpropanoids) in *O. gratissimum* under drought stress and increase the yield of EO, regardless of the water status of the plant (stressed or not), what demonstrates the improvement of the plant and its better acclimatization to the stress when in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi. However, in our study, although in treatments with greater drought stress has occurred decrease in phenolic compounds (Figs. 3 and 4), in these treatments there was no increase in essential oil content and improvement in plant growth, such as in  $I_{110}N_8$  treatment (which showed better acclimatization with the higher yield of EO and major plant growth in relation the all treatments) (Tables S1–S2 and Figs. 1 and 2).

The recommended doses of N varies between species of *Ocimum*: for *O. basilicum* the fertilization rate is 40–120 kg of N/ha, but the optimum fertilizer dose recommended for *O. sanctum* is 120 kg of N/ha (Smitha et al., 2014). Our results (Figs. 1 and 2) indicate that the 160 kg dose of N/ha is the optimum fertilizer dose recommended for crop of *O. gratissimum* and show that *O. gratissimum* support N doses possibly considered toxic by other species, probably due to synergistic interactions between multiple limiting resources like water, N and microbial and fungal endophytes (i.e., co-limitation).

The phenomenon of co-limitation also explanation the relative balance between the constituents and their amounts in the other treatments, demonstrating that plants created a dynamic equilibrium where all resources were equally limiting to growth in accordance by hypothesis of Bloom et al. (1985).

The results obtained from PCA analysis revealed the existence of chemical variability in the other treatments with different deficit water and nitrogen fertilization (Fig. 4(a) and (b)). The increased production of 1.8-cineole ( $I_{70}N_4$ ,  $I_{80}N_4$  and  $I_{90}N_2$ ) and linalool ( $I_{70}N_4$ ,  $I_{80}N_2$ ,  $I_{90}N_2$  and  $I_{100}N_4$ ) with increasing N dose (Table 2) were respectively similar to that reported by Zheljaskov et al. (2008) and Taie et al. (2010), in their studies with *O. basilicum*. The decrease of eugenol with increasing N dose ( $I_{80}N_4$ ,  $I_{90}N_2$  and  $I_{100}N_4$ ) was also obtained with *O. basilicum* by Nurzyńska-Wierdak and Borowski (2011). The EO can also undergo qualitative changes in their chemical composition due to drought stress (Bettaieb et al., 2009). However, generally, this stress by causes only quantitative changes in the major components of EO (Laribi et al., 2009; Caser et al., 2016; Maatallah et al., 2016; Mckiernan et al., 2016), such as in our results.

Concerning the terpenoids, monoterpenes and sesquiterpenes are derived from the condensation of isopentenyl diphosphate (IPP) and its allylic isomer, dimethylallyl diphosphate (DMAPP). Condensation of one DMAPP and two IPP molecules catalyzed by farnesyl diphosphate synthase (FPPS) leads to the formation of farnesyl diphosphate (FPP) in the cytosol whereas the condensation of one DMAPP and one IPP catalyzed by geranyl diphosphate synthase (GPPS) leads to the formation



of geranyl diphosphate (GPP) in the plastid. GPP and FPP are substrates of terpene synthases for the synthesis of mono- and sesquiterpenes respectively (Despinasse et al., 2017).

According to Prieto et al. (2011) limonene is used as a substrate for the synthesis of terpene derivatives and can be biotransformed into oxygenated monoterpenes, such as  $\alpha$ -terpineol and linalool (that may be formed through terpineol), which are monoterpenoids that have a significantly higher added value than limonene. The correlation between  $\alpha$ -terpineol and linalool was verified in cluster 2 by PCA analysis (Fig. 3) and in the treatment I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> in which the absence of these three compounds was contacted (Table 2). In addition, 1,8-cineole (also known as eucalyptol) can result by a cyclization reaction from  $\alpha$ -terpineol (Piechulla et al., 2016), which can to explain its production in the treatments, except in I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, where microbial and fungal endophytes can have been the responsible for 1,8-cineole biosynthesis. The PCA analysis showed the correlation between 1,8-cineole and  $\alpha$ -terpineol in cluster 3 formed by I<sub>70</sub>N<sub>0</sub>, I<sub>70</sub>N<sub>2</sub> and I<sub>100</sub>N<sub>2</sub> treatments and according to Shaw et al. (2015), endophytic fungi synthesize an abundance of terpenes including 1,8-cineole and the mutagenesis of this terpene synthase produce an active site asparagine critical for water capture and specificity during cineole synthesis, the same mechanism used in plants.

In relation to the other major components of the I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment, *o*-cymene is a monoterpene and  $\beta$ -caryophyllene is sesquiterpene, and both terpenes did not produce in other treatments. The formation of *o*-cymene in I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> probably occurred from the oxidation of  $\alpha$ -pinene in air by the atmospheric oxidants OH, O<sub>3</sub> and NO<sub>3</sub> similarity obtained by Gratien et al. (2011) in their studies with *p*-cymene, while the higher N dose and the higher water application rate promoted the activation of the enzyme  $\beta$ -caryophyllene synthase resulting in the production of  $\beta$ -caryophyllene only in I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. In the other treatments,  $\beta$ -caryophyllene was replaced by another sesquiterpene,  $\alpha$ -bergamotene, which have the same FPP precursor. This reflects the preference of FPP for  $\beta$ -caryophyllene synthase over  $\alpha$ -bergamotene synthase in I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>. The our findings are in accordance with studies by Ardanuy et al. (2017), which a higher concentration of  $\beta$ -caryophyllene was detected in plants under higher nitrogen.

The PCA analysis revealed the similarity between I<sub>110</sub>N<sub>8</sub>, I<sub>80</sub>N<sub>0</sub> and I<sub>80</sub>N<sub>2</sub> treatments in relation to the classes of compounds: all three treatments had a correlation with monoterpenes, sesquiterpenes and phenylpropanoids (Figs. 3 and 4). Among the terpenes, monoterpene hydrocarbons have been shown to ameliorate abiotic stress in a number of plant species via two proposed mechanisms: membrane stabilization and direct antioxidant effects. While sesquiterpene hydrocarbons not only share the structural properties thought to lend protective qualities to monoterpene hydrocarbons, but also react rapidly with ozone, suggesting that sesquiterpenes may similarly enhance tolerance of abiotic stresses (Palmer-Young et al., 2015).

*O. gratissimum* has several scientifically proven therapeutic abilities, such as a hypoglycaemic agent (Casanova et al., 2014, 2017); antioxidant (Hzoonda et al., 2016); antifungal (Nguefack et al., 2009); antibacterial (Saha et al., 2013); and in treating hepatopathies (Chiu et al., 2014), among others. Considering only the main component of I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> (methyleugenol) and the two major components of the other treatments (linalool and 1,8-cineole), this change in the metabolic pathway and in the chemical composition, as well as the increase in content and yield of EO occurred in the I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment, can impact the quality, efficacy and safety of a possible final product developed from *O. gratissimum*.

Methyleugenol is a compound with antiallergic, antianaphylactic, anti-inflammatory effects (Tang et al., 2015), has trypanocidal action *in vitro* (Giongo et al., 2017) and reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation (Choi et al., 2010). This compound is used as a flavouring agent in food products (jellies, baked goods, non-alcoholic beverages, chewing gum, candy, puddings, relishes and ice cream) and it is also widely used as a

fragrance ingredient in perfumes, toiletries and detergents (IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2013). On the other hand, linalool, which also is widely used in the food and cosmetic industry due to its flavourful and fragrant properties (Letizia et al., 2003; Caputi and Aprea, 2011), exhibits antinociceptive, antileishmanial and antimicrobial biological activities (Mohr et al., 2017). In addition, linalool affects hypoglycemia (Deepa and Anuradha, 2011) and in combinatorial therapy with limonene improves management of diabetes (More et al., 2014). While 1,8-cineole has been reported to ameliorate dysfunction of endothelial cells (Linghu et al., 2016) and has gastroprotective (Rocha Caldas et al., 2015), anti-inflammatory and repellent (Dhakad et al., 2018) properties.

Thus, the absence linalool, 1,8-cineole and limonene with the increase in the production of methyleugenol in I<sub>110</sub>N<sub>8</sub> treatment show that water application rate above field capacity together with nitrogen doses higher than normally recommended can affect chemical composition and, consequently, can influence the use of the EO of *O. gratissimum* in the pharmaceutical, food and cosmetics industry. Therefore, our results suggest that the management of water and nitrogen in *O. gratissimum* can alter the quality of its EO to such an extent as to modify the therapeutic and commercial value of the EO this plant. For this reason, other studies of the chemical composition of EO relative to environmental factors may provide more information about what determines its chemical variability.

## 5. Conclusions

*O. gratissimum* is very sensitive to water and nitrogen stress. Our study demonstrated that in tropical conditions a water application rate above field capacity together with nitrogen doses higher than normally recommended improves *O. gratissimum* growth and increases the production of its essential oil by modifying the metabolic pathway. The change in the chemical composition of the essential oil caused by water and nitrogen interactions extends possible applications of *O. gratissimum* by the pharmaceutical and cosmetics industry.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.047>.

## References

- Ardanuy, A., Pastor, V., Glauser, G., Christou, P., Turlings, T., Albajes, R., 2017. Genotype, nitrogen and herbivory shape plant defense: the case of a vitamin-enriched maize. *BioRxiv* 160333, 1–33. <https://doi.org/10.1101/160333>.
- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th ed. Allured Publ., Carol Stream, IL, USA.
- Ade-Ademilua, E.O., Obi, H.O., Craker, L.E., 2013. Growth and essential oil yield of African basil, *Ocimum gratissimum*, under light and water stress. *JMAP* 1, 143–149. <http://scholarworks.umass.edu/jmap/vol1/iss4/5>.
- Afkari, A., 2016. The effects of water deficit stress on physiological and biochemical changes of medicinal plants *Ocimum basilicum* L. under climatic conditions in Ardabil, Iran. *IJBR* 7, 54–60. <https://bipublication.com/files/2016048Afkari.pdf>.
- Ågren, G.I., Wetterstedt, J.Å.M., Billberger, M.F.K., 2012. Nutrient limitation on terrestrial plant growth - modeling the interaction between nitrogen and phosphorus. *New Phytol.* 194, 953–960. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04116.x>.
- Ahanger, M.A., Akram, N.A., Ashraf, M., Alyemeni, M.N., Wijaya, L., Ahmad, P., 2017. Plant responses to environmental stresses—from gene to biotechnology. *AoB Plants* 9, 1–17. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx025>.
- Albarez, S.M., Basso, B., Cavaglia, O.P., Melchiorri, R.J.M., 2016. Spatio-temporal nitrogen fertilizer response in maize: field study and modeling approach. *Agron. J.* 108, 1–13. <https://doi.org/10.2134/agronj2016.02.0081>.
- Alves, L.S., Stark, E.M.L.M., Zonta, E., Fernandes, M.S., dos Souza Santos, A.M., de, S.R., 2017. Different nitrogen and boron levels influence the grain production and oil content of a sunflower cultivar. *Acta Sci. Agron.* 39, 59–66. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i1.30941>.
- Anand, A., Jayaramaiah, R.H., Beedkar, S.D., Singh, P.A., Joshi, R.S., Mulani, F.A., Dholakia, B.B., Puneekar, S.A., Gade, W.N., Thulasiram, H.V., Giri, A.P., 2016. Comparative functional characterization of eugenol synthase from four different *Ocimum* species: implications on eugenol accumulation. *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* 1864, 1539–1547. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.08>.

- 004.
- Anderson, V.M., Archbold, D.D., Geneve, R.L., Ingram, D.L., Jacobsen, K.L., 2016. Fertility source and drought stress effects on plant growth and essential oil production of *Calendula officinalis*. *HortScience* 51, 342–348. <http://hortsci.ashspubs.org/content/51/4/342.abstract>.
- Anvisa, 2010. Brazilian Pharmacopoeia, 5th. ed. Brazilian Health Surveillance Agency ANVISA, Brasília, Brazil. <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/2845829/FBrsileira+Volume+1+INGLES+com+alerta.pdf/f9a3480f-b71e-4a30-b459-d07368eaf6ee>.
- Arabaci, O., Bayram, E., 2004. The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimum basilicum* L. (basil). *J. Agron.* 3, 255–262. <https://doi.org/10.3923/ja.2004.255.262>.
- Ascrizzi, R., Fraternali, D., Flamini, G., 2018. Photochemical response of parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) grown under red light: the effect on the essential oil composition and yield. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 185, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.06.006>.
- Askary, M., Behdani, M.A., Parsa, S., Mahmoodi, S., Jamialahmadi, M., 2018. Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. *Ind. Crops Prod.* 111, 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.056>.
- Azizi, A., Yan, F., Honermeier, B., 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Ind. Crops Prod.* 29, 554–561. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.11.001>.
- Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M., Bagher Rezaei, M., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour Fragr. J.* 17, 275–277. <https://doi.org/10.1002/ffj.1097>.
- Bahreinejad, B., Razmjoo, J., Mirza, M., 2014. Effect of water stress on productivity and essential oil content and composition of *Thymus carmanicus*. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 17, 717–725. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.901605>.
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., Pereira, A., 2016. Plant adaptation to drought stress. *F1000Research* 5, 1–10. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>.
- Bell-Dereske, L., Takacs-Vesbach, C., Kivlin, S.N., Emery, S.M., Rudgers, J.A., 2017. Leaf endophytic fungus interacts with precipitation to alter belowground microbial communities in primary successional dunes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93, 1–16. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix036>.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M.E., Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 120, 271–275. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.10.016>.
- Bloom, A.J., Chapin, F.S., Mooney, H.A., 1985. Resource limitation in plants-an economic analogy. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16, 363–392. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.16.110185.002051>.
- Bortolheiro, F.P.A.P., Silva, M.A., 2017. Physiological response and productivity of safflower lines under water deficit and rehydration. *An. Acad. Bras. Cienc.* 89, 3051–3066. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170475>.
- Bowles, T.M., Jackson, L.E., Cavagnaro, T.R., 2018. Mycorrhizal fungi enhance plant nutrient acquisition and modulate nitrogen loss with variable water regimes. *Glob. Change Biol.* 24, e171–e182. <https://doi.org/10.1111/gcb.13884>.
- Bracken, M.E.S., Hillebrand, H., Borer, E.T., Seabloom, E.W., Cebrian, J., Cleland, E.E., Elser, J.J., Gruner, D.S., Harpole, W.S., Ngai, J.T., Smith, J.E., 2015. Signatures of nutrient limitation and co-limitation: responses of autotroph internal nutrient concentrations to nitrogen and phosphorus additions. *Oikos* 124, 113–121. <https://doi.org/10.1111/oik.01215>.
- Rocha Caldas, G.F., da S. Oliveira, A.R., Araújo, A.V., Lafayette, S.S.L., Albuquerque, G.S., Silva-Neto, J., da C. Costa-Silva, J.H., Ferreira, F., da Costa, J.G.M., Wanderley, A.G., 2015. Gastroprotective mechanisms of the monoterpene 1,8-cineole (eucalyptol). *PLoS One* 10, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134558>.
- Caputi, L., Aprea, E., 2011. Use of terpenoids as natural flavouring compounds in food industry. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* 3, 9–16. <https://doi.org/10.2174/2212798411103010009>.
- Carter, M.R., Gregorich, E.G., 2008. *Soil Sampling and Methods of Analysis*, 2nd. ed. Canadian Society of Soil Science, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton.
- Casanova, L.M., da Silva, D., Sola-Penna, M., de Magalhães Camargo, L.M., de Moura Celestrini, D., Tinoco, L.W., Costa, S.S., 2014. Identification of chicoric acid as a hypoglycemic agent from *Ocimum gratissimum* leaf extract in a biomonitoring in vivo study. *Fitoterapia* 93, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.12.024>.
- Casanova, L.M., Gu, W., Costa, S.S., Jeppesen, P.B., 2017. Phenolic substances from *Ocimum* species enhance glucose-stimulated insulin secretion and modulate the expression of key insulin regulatory genes in mice pancreatic islets. *J. Nat. Prod.* 80, 3267–3275. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00699>.
- Caser, M., D'Angiolillo, F., Chitarra, W., Lovisolo, C., Ruffoni, B., Pistelli, L., Pistelli, L., Scariot, V., 2016. Water deficit regimes trigger changes in valuable physiological and phytochemical parameters in *Helichrysum petiolare* Hilliard & B.L. Burt. *Ind. Crops Prod.* 83, 680–692. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.053>.
- Castro, A.H.F., de Alvarenga, A.A., Barbo, J.P.R.A.D., Mansur, T.D.O.F., de Paula, A.C.C.F.F., 2017. Seasonal patterns of phenylalanine ammonia-lyase activity and total phenol and tannin contents in *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. *Ciência Florest* 27, 1037–1048. <https://doi.org/10.5902/1980509828679>.
- Chen, B., Yang, H., Song, W., Liu, C., Xu, J., Zhao, W., Zhou, Z., 2016. Effect of N fertilization rate on soil alkali-hydrolyzable N, subtending leaf N concentration, fiber yield, and quality of cotton. *Crop J.* 4, 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.03.006>.
- Cheuka, P., Mayoka, G., Mutai, P., Chibale, K., 2016. The role of natural products in drug discovery and development against neglected tropical diseases. *Molecules* 22, 1–41. <https://doi.org/10.3390/molecules22010058>.
- Chiu, Y.-W., Chao, P.-Y., Tsai, C.-C., Chiou, H.-L., Liu, Y.-C., Hung, C.-C., Shih, H.-C., Lai, T.-J., Liu, J.-Y., 2014. *Ocimum gratissimum* is effective in prevention against liver fibrosis in vivo and in vitro. *Am. J. Chin. Med.* 42, 833–852. <https://doi.org/10.1142/S0192415X14500530>.
- Choi, Y.K., Cho, G.-S., Hwang, S., Kim, B.W., Lim, J.H., Lee, J.-C., Kim, H.C., Kim, W.-K., Kim, Y.S., 2010. Methyleneolol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation. *Free Radic. Res.* 44, 925–935. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.490837>.
- Chude, V.O., Olayiwola, S.O., Osho, A.O., Daudu, C.K., 2012. *Fertilizer Use and Management Practices for Crops in Nigeria*, 4th ed. Federal Ministry of Agriculture and Rural Development, Abuja.
- Clay, D.E., Trooien, T.P., 2017. Understanding soil water and yield variability in precision farming. *Practical Mathematics for Precision Farming*, pp. 136–147. <https://doi.org/10.2134/practicalmath2016.0025>.
- R. Core Team, 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Coutinho, D.F., Dias, C.S., Barbosa-Filho, J.M., Agra, M.F., Martins, R.M., Silva, T.M.S., da-Cunha, E.V.L., Silva, M.S., Craveiro, A.A., 2007. Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. *J. Essent. Oil Res.* 19, 482–484. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699958>.
- Davidson, A., Da Silva, D., DeJong, T.M., 2017. The phyllochron of well-watered and water deficit mature peach trees varies with shoot type and vigour. *AoB Plants* 9, 1–9. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx042>.
- de Vasconcelos Silva, M., Craveiro, A., Abreu Matos, F., Machado, M.I., Alencar, J., 1999. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. *Fitoterapia* 70, 32–34. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(98\)00020-3](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(98)00020-3).
- Deepa, B., Anuradha, C.V., 2011. Linalool, a plant derived monoterpene alcohol, rescues kidney from diabetes-induced nephropathic changes via blood glucose reduction. *Diabetol. Croat.* 40, 121–137.
- Despinasse, Y., Fiorucci, S., Antonczak, S., Moja, S., Bony, A., Nicolé, F., Baudino, S., Magnard, J.-L., Jullien, F., 2017. Bornyl-diphosphate synthase from *Lavandula angustifolia*: a major monoterpene synthase involved in essential oil quality. *Phytochemistry* 137, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.01.015>.
- Dhakad, A.K., Pandey, V.V., Beg, S., Rawat, J.M., Singh, A., 2018. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review. *J. Sci. Food Agric.* 98, 833–848. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8600>.
- Dinh, T.H., Watanabe, K., Takaragawa, H., Nakabaru, M., Kawamitsu, Y., 2017. Photosynthetic response and nitrogen use efficiency of sugarcane under drought stress conditions with different nitrogen application levels. *Plant Prod. Sci.* 20, 412–422. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2017.1371570>.
- Eiasu, B.K., Soundy, P., Steyn, J.M., 2008. High irrigation frequency and brief water stress before harvest enhances essential oil yield of rose-scented geranium (*Pelargonium capitatum* × *P. radens*). *HortScience* 43, 500–504. <http://hortsci.ashspubs.org/content/43/2/500.full>.
- Elshafie, H.S., Camele, I., 2017. An overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health. *Biomed Res. Int.* 2017, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2017/268468>.
- Emami Bistgani, Z., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M., 2017. Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Crop J.* 5, 407–415. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>.
- Fahad, S., Bajwa, A.A., Nazir, U., Anjum, S.A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M.Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., Huang, J., 2017. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front. Plant Sci.* 8, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01147>.
- Fathi, A., Tari, D.B., 2016. Effect of drought stress and its mechanism in plants. *Int. J. Life Sci.* 10, 1–6. <https://doi.org/10.3126/ijls.v10i1.14509>.
- Feng, W., Lindner, H., Robbins, N.E., Dinnyen, J.R., 2016. Growing out of stress: the role of cell- and organ-scale growth control in plant water-stress responses. *Plant Cell* 28, 1769–1782. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00182>.
- Ferreira, D.F., 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35, 1039–1042. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.
- Giongo, J.L., Vaucher, R.A., Da Silva, A.S., Oliveira, C.B., de Mattos, C.B., Baldissera, M.D., Sagrillo, M.R., Monteiro, S.G., Custódio, D.L., Souza de Matos, M., Sampaio, P.T., Teixeira, H.F., Koester, L.S., da Veiga Junior, V.F., 2017. Trypanocidal activity of the compounds present in *Aniba canellila* oil against *Trypanosoma evansi* and its effects on viability of lymphocytes. *Microb. Pathog.* 103, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.12.006>.
- Gong, H.-D., Geng, Y.-J., Yang, C., Jiao, D.-Y., Chen, L., Cai, Z.-Q., 2018. Yield and resource use efficiency of *Plukenetia volubilis* plants at two distinct growth stages as affected by irrigation and fertilization. *Sci. Rep.* 8, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18342-6>.
- Gratien, A., Johnson, S.N., Ezell, M.J., Dawson, M.L., Bennett, R., Finlayson-Pitts, B.J., 2011. Surprising formation of p-cymene in the oxidation of α-pinene in air by the atmospheric oxidants OH, O<sub>3</sub>, and NO<sub>3</sub>. *Environ. Sci. Technol.* 45, 2755–2760. <https://doi.org/10.1021/es103632b>.
- Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., Hassan Elharchli, E., Joutei, K.A., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L.). *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40538-015-0035-3>.
- Hirata, H., Ohnishi, T., Watanabe, N., 2016. Biosynthesis of floral scent 2-phenylethanol in rose flowers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 80, 1865–1873. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1191333>.
- Hzouda, J.B.F., Jazet, P.M.D., Lazar, G., Raducanu, D., Caraman, I., Bassene, E., Boyom, F.F., Lazar, I.M., 2016. Spectral and chemometric analyses reveal antioxidant

- properties of essential oils from four Cameroonian *Ocimum*. Ind. Crops Prod. 80, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.07>.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2013. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum. 101, 9–549. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK373192/pdf/Bookshelf\\_NBK373192.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK373192/pdf/Bookshelf_NBK373192.pdf).
- Iqbal, N., Khan, N.A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A., Khan, M.I.R., 2017. Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. Front. Plant Sci. 8, 1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00475>.
- Joshi, R., Singla-Pareek, S.L., Pareek, A., 2018. Engineering abiotic stress response in plants for biomass production. J. Biol. Chem. 293, 5035–5043. <https://doi.org/10.1074/jbc.TM117.000232>.
- Karuppiiah, V., Ranaghan, K.E., Leferink, N.G.H., Johannissen, L.O., Shanmugam, M., Ni Cheallagh, A., Bennett, N.J., Kearsey, L.J., Takano, E., Gardiner, J.M., van der Kamp, M.W., Hay, S., Mulholland, A.J., Leys, D., Scrutton, N.S., 2017. Structural basis of catalysis in the bacterial monoterpene synthases linalool synthase and 1,8-cineole synthase. ACS Catal. 7, 6268–6282. <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b01924>.
- Khan, S., Anwar, S., Kuai, J., Ullah, S., Fahad, S., Zhou, G., 2017. Optimization of nitrogen rate and planting density for improving yield, nitrogen use efficiency, and lodging resistance in oilseed rape. Front. Plant Sci. 8, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00532>.
- Khan, S., Anwar, S., Kuai, J., Noman, A., Shahid, M., Din, M., Ali, A., Zhou, G., 2018. Alteration in yield and oil quality traits of winter rapeseed by lodging at different planting density and nitrogen rates. Sci. Rep. 8, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18734-8s>.
- Kim, K.-I., Clay, D.E., Carlson, C.G., Clay, S.A., Trooien, T., 2008. Do synergistic relationships between nitrogen and water influence the ability of corn to use nitrogen derived from fertilizer and soil? Agron. J. 100, 551. <https://doi.org/10.2134/agronj2007.0064>.
- Kong, L., Xie, Y., Hu, L., Si, J., Wang, Z., 2017. Excessive nitrogen application dampens antioxidant capacity and grain filling in wheat as revealed by metabolic and physiological analyses. Sci. Rep. 7, 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep43363>.
- Lam, K.C., Ibrahim, R.K., Behdad, B., Dayanandan, S., 2007. Structure, function, and evolution of plant O-methyltransferases. Genome 50, 1001–1013. <https://doi.org/10.1139/G07-077>.
- Laribi, B., Bettaiieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A., Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. Ind. Crops Prod. 30, 372–379. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.005>.
- Letchamo, W., Marquard, R., Holz, J., Gosselin, A., 1994. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. Angew. Botanik 68, 83–88.
- Letizia, C., Cocchiara, J., Lalko, J., Api, A., 2003. Fragrance material review on linalool. Food Chem. Toxicol. 41, 943–964. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(03\)00015-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(03)00015-2).
- Linghu, K., Lin, D., Yang, H., Xu, Y., Zhang, Y., Tao, L., Chen, Y., Shen, X., 2016. Ameliorating effects of 1,8-cineole on LPS-induced human umbilical vein endothelial cell injury by suppressing NF- $\kappa$ B signaling in vitro. Eur. J. Pharmacol. 789, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.07.039>.
- Lopez, F.B., Barclay, G.F., 2017. Plant anatomy and physiology. Pharmacognosy. pp. 45–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00004-4>.
- Maatallah, S., Nasri, N., Hajlaoui, H., Albouchi, A., Elaissi, A., 2016. Evaluation changing of essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) under water deficit stress conditions. Ind. Crops Prod. 91, 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.001>.
- Machado, M., Felizardo, C., Fernandes-Silva, A.A., Nunes, F.M., Barros, A., 2013. Polyphenolic compounds, antioxidant activity and l-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. “Cobrançosa” under different irrigation regimes. Food Res. Int. 51, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.056>.
- Martínez-Eixarch, M., Zhu, D., del M. Catalá-Fornier, M., Pla-Mayor, E., Tomás-Navarro, N., 2013. Water, nitrogen and plant density affect the response of leaf appearance of direct seeded rice to thermal time. Rice Sci. 20, 52–60. [https://doi.org/10.1016/S1672-6308\(13\)60108-0](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(13)60108-0).
- McKiernan, A.B., Potts, B.M., Brodribb, T.J., Hovenden, M.J., Davies, N.W., McAdam, S.A.M., Ross, J.J., Rodemann, T., O'Reilly-Wapstra, J.M., 2016. Responses to mild water deficit and rewetting differ among secondary metabolites but are similar among provenances within *Eucalyptus* species. Tree Physiol. 36, 133–147. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv106>.
- Moghaddam, M., Mehdiadeh, L., 2017. Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. Soft Chemistry and Food Fermentation. pp. 379–419. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811412-4.00013-8>.
- Mohidin, H., Hanafi, M.M., Rafii, Y.M., Abdullah, S.N.A., Idris, A.S., Man, S., Idris, J., Sahebi, M., 2015. Determination of optimum levels of nitrogen, phosphorus and potassium of oil palm seedlings in solution culture. Bragantia 74, 247–254. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0408>.
- Mohr, F.B.M., Lermen, C., Gazim, Z.C., Gonçalves, J.E., Alberton, O., 2017. Antifungal activity, yield, and composition of *Ocimum gratissimum* essential oil. Genet. Mol. Res. 16, 1–10. <https://doi.org/10.4238/gmr16019542>.
- More, T.A., Kulkarni, B.R., Nalawade, M.L., Arvindekar, A.U., 2014. Antidiabetic activity of linalool and limonene in streptozotocin-induced diabetic rat: a combinatorial therapy approach. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 6, 159–163. <https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/1537/10275>.
- Ncube, B., Finnie, J.F., Van Staden, J., 2012. Quality from the field: the impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. S. Afr. J. Bot. 82, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.05.009>.
- Nguefack, J., Dongmo, J.B.L., Dakole, C.D., Leth, V., Vismer, H.F., Torp, J., Guemdjom, E.F.N., Mbeffo, M., Tangue, O., Fotio, D., Zollo, P.H.A., Nkengapaka, A.E., 2009. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. Int. J. Food Microbiol. 131, 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2009.02.009>.
- NIST, 2005. Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH). NIST Standard Reference Database. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA. <https://www.nist.gov/srd/nist-standard-reference-database-1a-v17>.
- Nurzyńska-Wierdak, R., 2013. Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants? Acta Sci. Pol. Hortorum 12, 3–16. [http://www.hortorumcultus.actapol.net/pub/12\\_5\\_3.pdf](http://www.hortorumcultus.actapol.net/pub/12_5_3.pdf).
- Nurzyńska-Wierdak, R., Borowski, B., 2011. Changes in the content and chemical composition of sweet basil essential oil under the influence of fertilization of plants with nitrogen and potassium. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, DDD Pharm. 24, 133–145.
- Olivoto, T., Nardino, M., Carvalho, I.R., Follmann, D.N., Szareski, V.J., Ferrari, M., Pelegrin, A.J., Souza, V.Q., 2017. Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: a review. Afr. J. Agric. Res. 12, 71–84. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11677>.
- Ormeño, E., Fernandez, C., 2012. Effect of soil nutrient on production and diversity of volatile terpenoids from plants. Curr. Bioact. Compd. 8, 71–79. <https://doi.org/10.2174/157340712799828188>.
- Osugwu, G.G.E., Edeoga, H.O., Osugwu, A.N., 2010. The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin potential of the leaves of *Ocimum gratissimum* L. Recent Res. Sci. Technol. 2, 27–33. <http://updatepublishing.com/journal/index.php/rst/article/view/372>.
- Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A., Gurbuz, B., 2004. Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). J. Bot. 36, 787–792. [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/36\(4\)/PJB36\(4\)787.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/36(4)/PJB36(4)787.pdf).
- Palmer-Young, E.C., Veit, D., Gershenzon, J., Schuman, M.C., 2015. The sesquiterpenes (e)- $\beta$ -farnesene and (e)- $\alpha$ -bergamotene quench ozone but fail to protect the wild tobacco *Nicotiana attenuata* from ozone, UVB and drought stresses. PLoS One 10, 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127296>.
- Pandey, S., 2017. Phytochemical constituents, pharmacological and traditional uses of *Ocimum gratissimum* L. in tropics. IAJPS 4, 4234–4242. <http://oaji.net/articles/2017/1210-1511110546.pdf>.
- Pandey, A.K., Singh, P., Tripathi, N.N., 2014. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4, 682–694. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C77>.
- Payyavula, R.S., Navarre, D.A., Kuhl, J.C., Pantoja, A., Pillai, S.S., 2012. Differential effects of environment on potato phenylpropanoid and carotenoid expression. BMC Plant Biol. 12, 1–17. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-39>.
- Piechulla, B., Bartel, R., Brosemann, A., Effmert, U., Bouwmeester, H., Hippauf, F., Brandt, W., 2016. The  $\alpha$ -terpineol to 1,8-cineole cyclization reaction of tobacco terpene synthases. Plant Physiol. 172, 2120–2131. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01378>.
- Pradhan, J., Sahoo, S.K., Lalotra, S., Sarma, R.S., 2017. Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. Int. J. Plant Sci. 12, 309–313. <https://doi.org/10.15740/HAS/IJPS/12.2/309-313>.
- Prieto, S.G.A., Perea, V.J.A., Ortiz, L.C.C., 2011. Microbial biotransformation of (R)-(+)-limonene by *Penicillium digitatum* DSM 62840 for producing (R)-(+)-terpineol. Vitae 18, 63–172. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v18n2/v18n2a07.pdf>.
- Rehman, R., Hanif, M.A., Mushtaq, Z., Mochona, B., Qi, X., 2016. Biosynthetic factories of essential oils: the aromatic plants. Nat. Prod. Chem. Res. 4, 1–11. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000227>.
- Riar, A., Gill, G., McDonald, G., 2016. Effect of post-sowing nitrogen management on co-limitation of nitrogen and water in canola and mustard. F. Crop. Res. 198, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.08.021>.
- Ruan, L., Wei, K., Wang, L., Cheng, H., Zhang, F., Wu, L., Bai, P., Zhang, C., 2016. Characteristics of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  fluxes in tea (*Camellia sinensis*) roots measured by scanning ion-selective electrode technique. Sci. Rep. 6, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep38370>.
- Sadras, V.O., Hayman, P.T., Rodriguez, D., Monjardino, M., Bielich, M., Unkovich, M., Mudge, B., Wang, E., 2016. Interactions between water and nitrogen in Australian cropping systems: physiological, agronomic, economic, breeding and modelling perspectives. Crop Pasture Sci. 1–35. <https://doi.org/10.1071/CP16027>.
- Saha, S., Dhar, T.N., Sengupta, C., Ghosh, P., 2013. Biological activities of essential oils and methanol extracts of five *Ocimum* species against pathogenic bacteria. Czech J. Food Sci. 31, 194–202. <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/89890.pdf>.
- Said-Al Ahl, H.A.H., Omer, E.A., Naguib, N.Y., 2009. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. Int. Agrophys. 23, 269–275. [http://www.old.international-agrophysics.org/artkyuly/international\\_agrophysics/IntAgr\\_2009\\_23\\_269.pdf](http://www.old.international-agrophysics.org/artkyuly/international_agrophysics/IntAgr_2009_23_269.pdf).
- Salazar, C., Hernandez, C., Pino, M.T., 2015. Plant water stress: associations between ethylene and abscisic acid response. Chil. J. Agric. Res. 75, 71–79. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392015000300008>.
- Santos, M.S., Souza, L.S., Costa, C.A.S., Gomes, F.P., Costa, L.C.B., Oliveira, R.A., Silva, D.C., 2016. Effects of water deficit on morphology, productivity and chemical composition of *Ocimum africanum* Lour (Lamiaceae). Afr. J. Agric. Res. 11, 1924–1934. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10248>.
- Sarkic, A., Stappen, I., 2018. Essential oils and their single compounds in cosmetics—a critical review. Cosmetics 5, 1–21. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010011>.
- Shaw, J.J., Berbasova, T., Sasaki, T., Jefferson-George, K., Spakowicz, D.J., Dunican, B.F., Portero, C.E., Narváez-Trujillo, A., Strobel, S.A., 2015. Identification of a fungal 1,8-cineole synthase from *Hypoxylon* sp. with specificity determinants in common with the plant synthases. J. Biol. Chem. 290, 8511–8526. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.636159>.
- Shi, D., Li, Y., Zhang, J., Liu, P., Zhao, B., Dong, S., 2016. Increased plant density and reduced N rate lead to more grain yield and higher resource utilization in summer



- maize. J. Integr. Agric. 15, 2515–2528. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61355-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61355-2).
- Singh, M., Khan, M.M.A., Naeem, M., 2016. Effect of nitrogen on growth, nutrient assimilation, essential oil content, yield and quality attributes in *Zingiber officinale* Rosc. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 15, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.11.002>.
- Smitha, G.R., Varghese, T.S., Manivel, P., 2014. Cultivation of *Ocimum*. IARC-Directorate of Medicinal and Aromatic Plants Research, Gujarat, India. <http://www.dmapr.org.in/Publications/Bulletine/ocimum%2016-1-15.pdf>.
- Soil Taxonomy: a basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 1999. 2nd ed. Natural Resources Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook. [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_051232.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051232.pdf).
- Sun, J., Ye, M., Peng, S., Li, Y., 2016. Nitrogen can improve the rapid response of photosynthesis to changing irradiance in rice (*Oryza sativa* L.) plants. Sci. Rep. 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep31305>.
- Tan, K.H., Nishida, R., 2012. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. J. Insect Sci. 12, 1–60. <https://doi.org/10.1673/031.012.5601>.
- Tang, F., Chen, F., Ling, X., Huang, Y., Zheng, X., Tang, Q., Tan, X., 2015. Inhibitory effect of methyleugenol on ige-mediated allergic inflammation in RBL-2H3 cells. Mediators Inflamm. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/463530>.
- Tardieu, F., 2013. Plant response to environmental conditions: assessing potential production, water demand, and negative effects of water deficit. Front. Physiol. 4. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00017>.
- Thomasson, A.J., 1978. Towards an objective classification of soil structure. J. Soil Sci. 29, 38–46. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1978.tb02029.x>.
- Wang, M., Shi, S., Lin, F., Hao, Z., Jiang, P., Dai, G., 2012. Effects of soil water and nitrogen on growth and photosynthetic response of manchurian ash (*Fraxinus mandshurica*) seedlings in Northeastern China. PLoS One 7, 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030754>.
- Wang, G., Cao, F., Chang, L., Guo, X., Wang, J., 2014. Temperature has more effects than soil moisture on biosynthesis of flavonoids in ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) leaves. New For. 45, 797–812. <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9437-5>.
- Weraduwage, S.M., Chen, J., Anozie, F.C., Morales, A., Weise, S.E., Sharkey, T.D., 2015. The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. Front. Plant Sci. 6, 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00167>.
- Yang, W., Yin, Y., Jiang, W., Peng, D., Yang, D., Cui, Y., Wang, Z., 2014. Severe water deficit-induced ethylene production decreases photosynthesis and photochemical efficiency in flag leaves of wheat. Photosynthetica 52, 341–350. <https://doi.org/10.1007/s11099-014-0037-6>.
- Zhao, Y., Chan, Z., Gao, J., Xing, L., Cao, M., Yu, C., Hu, Y., You, J., Shi, H., Zhu, Y., Gong, Y., Mu, Z., Wang, H., Deng, X., Wang, P., Bressan, R.A., Zhu, J.-K., 2016. ABA receptor PYL9 promotes drought resistance and leaf senescence. Proc. Natl. Acad. Sci. 113, 1949–1954. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522840113>.
- Zhong, C., Cao, X., Hu, J., Zhu, L., Zhang, J., Huang, J., Jin, Q., 2017. Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in rice grown under different nitrogen levels. Front. Plant Sci. 8, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01079>.



**Anexo C** – Artigo de revisão publicado na revista *Scientia Amazonia*

Título do artigo: **Composição química de *Ocimum gratissimum* L.: uma revisão de literatura.**

Revista: *Scientia Amazonia* (ISSN 2238.1910)

Qualis: **C (Biotecnologia e Biodiversidade)**



## **Composição química de *Ocimum gratissimum* L.: uma revisão de literatura**

Crisálida Machado Vilanova<sup>1</sup>, Emanuel Gomes de Moura<sup>2</sup>, Denise Fernandes Coutinho Moraes<sup>3</sup>

### **Resumo**

*Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) é uma herbácea distribuída em todo o Brasil e muito utilizada na fitoterapia por suas diversas propriedades farmacológicas. O objetivo deste trabalho foi compilar o conhecimento sobre a composição química da alfavaca. Os compostos fenólicos predominam nessa espécie vegetal e em seu óleo essencial destacam-se monoterpenos e sesquiterpenos como constituintes mais isolados. Ainda são escassas informações sobre o efeito de fatores intrínsecos e extrínsecos sobre seus metabólitos.

**Palavras-Chave:** *Ocimum gratissimum*, constituintes químicos, alfavaca, óleo essencial.

**Chemical composition of *Ocimum gratissimum* L.: A literature review.** *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) is an herbaceous plant distributed in the Brazil and widely used in phytotherapy due to its various pharmacological properties. The objective of this work was compiled on chemical composition and biological activities of alfavaca. Phenolic compounds predominate in this plant species and in their essential oil monoterpenes and sesquiterpenes stand out as more isolated constituents. There is still scarce information on the effect of intrinsic and extrinsic factors on its metabolites.

**Key-words:** *Ocimum gratissimum*, chemical constituents, alfavaca, essential oil.

---

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE, Professora Mestre, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Cidade Universitária Dom Delgado. Departamento de Farmácia. Avenida dos Portugueses, 1.966, CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil. Autora para Correspondência: [crisalida.vilanova@ufma.br](mailto:crisalida.vilanova@ufma.br)

<sup>2</sup> Professor Doutor do Programa BIONORTE, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caixa Postal 09, Tirirical, CEP 65054-970, São Luís, MA, Brasil, [egmoura@elointernet.com.br](mailto:egmoura@elointernet.com.br)

<sup>3</sup> Professora Doutora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde, UFMA, Cidade Universitária Dom Delgado. Departamento de Farmácia. Avenida dos Portugueses, 1.966, CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil, [deniseufma2013@gmail.com](mailto:deniseufma2013@gmail.com)

## 1. Introdução

O metabolismo dos vegetais pode ser definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprindo o organismo de energia, renovando suas moléculas e garantindo a continuidade do estado organizado (SILVA e ABREU, 2016).

O metabolismo vegetal varia de acordo com sua fisiologia e pode ser dividido em primário e secundário (SOUSA e SOUSA, 2017) e os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados recebem o nome de metabólitos (SIMÕES et al., 2017), os quais também são divididos em dois grupos, metabólitos primários e secundários (LATTANZIO, 2013).

Os metabólitos primários estão relacionados com processos de fotossíntese, respiração e transporte de solutos e proporcionam funções essenciais para a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução dos vegetais (SEYFRIED et al., 2016). Proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos, aminoácidos e carboidratos fazem parte desse grupo (KERBAUY, 2012).

Ao contrário dos metabólitos primários, os metabólitos secundários são um grande grupo de fitoquímicos que não estão diretamente envolvidos nos processos vitais do vegetal (GUPTA et al., 2017), mas são componentes importantes no mecanismo de defesa contra parasitas (fungos, insetos, bactérias), nas características atrativas para agentes polinizadores e dispersores de sementes, nas relações de competição planta-planta e de simbioses plantas-microorganismos (OLIVOTO et al., 2017) e podem conferir proteção contra estresses ambientais (AKULA e RAVISHANKAR, 2011).

Enquanto os metabólitos primários são de ocorrência ampla e generalizada, os metabólitos secundários são considerados de ocorrência restrita e, podem, inclusive, serem utilizados para a classificação quimiotaxômica de uma espécie vegetal (SINGH, 2016).

Os vegetais sintetizam uma miríade de metabólitos secundários que são derivados do metabolismo central ou primário. Mais de 100 mil fitoquímicos foram isolados de diferentes fontes de vegetais até o momento e esses fitoquímicos são sintetizados nos vegetais para uma necessidade especializada em um conjunto específico de condições ecológicas, pois sua

biossíntese é altamente consumidora de energia. A biossíntese e a acumulação de metabólitos secundários em vegetais são o resultado de uma regulação rigorosa de suas máquinas biossintéticas (GUPTA et al., 2017) e são controladas no nível de expressão gênica por fatores específicos do desenvolvimento e do tecido ou por sinais externos (FITS e MEMELIN, 2000).

Os metabólitos secundários apresentam estruturas complexas, baixa massa molecular e distintas atividades biológicas (SEYFRIED et al., 2016) e são utilizados pelo homem como produtos farmacêuticos, cosméticos, corantes, flavorizantes, inseticidas, dentre outros (GUPTA et al., 2017). Alguns dos principais grupos de metabólitos secundários incluem glicosídeos, alcaloides, óleos essenciais, flavonoides, fenois e terpenoides (SINGH, 2016) e podem ser divididos em três grupos principais quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (OLIVOTO et al., 2017).

*Ocimum gratissimum* L., pertencente à família Lamiaceae, é uma herbácea aromática, perene, anual e de base lenhosa (SHARMA et al., 2011), conhecida popularmente no Brasil como alfavaca, alfavaca-cravo, alfavacão, dentre outros nomes (RIOS e PASTORE JR., 2011).

Trata-se de uma espécie vegetal nativa da Ásia e África, naturalizada no continente americano (GRIN-GLOBAL, 2016) e distribuída em todo o Brasil (FLORA DO BRASIL, 2018) com amplo emprego na fitoterapia e por comunidades tradicionais do Nordeste brasileiro, especialmente no tratamento de: gripe (SILVA et al., 2012; POVH e ALVES, 2013; SILVA et al., 2015; CUNHA et al., 2015), calmante (SILVA et al., 2012), micose (POVH e ALVES, 2013), antiespasmódico (SOUSA et al., 2010), indisposições gerais (NETO et al., 2014), incluindo febre, sinusite, dores de ouvido, afecções dos olhos, diarreia, cólicas menstruais, transtornos do sistema nervoso e afecções genitourinárias (RODRIGUES e ANDRADE, 2014).

Algumas das atividades farmacológicas de *Ocimum gratissimum* já foram comprovadas cientificamente, destacando-se: a diurética e hipoglicêmica (NEGRI, 2005; OGUANOBI et al., 2012; AKPAN et al., 2014); a antimicrobiana (BRAGA et al., 2007; NGUEFACK et al., 2009; SILVA et al., 2010; PRASANNABALAJI et al.,

2012; JOSHI 2013; SAHA et al., 2013; DJEUSSI et al., 2013; BONOU et al., 2016; IGBINOSA & IDEMUDIA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016) e a antioxidante (PEREIRA e MAIA, 2007; OBOH et al., 2008; AKINMOLADUN et al., 2010; CHIU et al., 2013; JOSHI 2013; VENUPRASAD et al., 2014; AKINRINDE et al., 2016; HZOUNDA et al., 2016).

Em razão de sua importância e destaque na fitoterapia e na medicina tradicional popular e por ser uma espécie da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS – Renisus (BRASIL, 2009), este trabalho tem por objetivo realizar uma revisão da literatura sobre estudos químicos de *Ocimum gratissimum*.

## 2. Metodologia

Foi realizado um levantamento bibliográfico de publicações do período de 1930 a 2017 utilizando-se as bases de dados do Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Biblioteca Virtual em Saúde e as ferramentas de pesquisa *Google acadêmico*, *Pubmed* e *Scielo*. Foi utilizado como descritor de pesquisa o termo “*ocimum gratissimum*”. A lista inicial foi analisada excluindo-se estudos que não estivessem relacionados aos objetivos da pesquisa, estudos sem indicação clara da parte da planta e sem indicação do solvente utilizado na extração e aquelas informações pessoais de autores.

## 3. Composição química

Nos estudos químicos há predominância do uso de solventes polares (água e álcool) nos métodos extrativos. Nas partes aéreas de *Ocimum gratissimum* L. já foram identificados: ácido cinâmico; ácido rosmarínico; ácido *p*-cumarínico; ácido hidroxibenzoico; ácido ferulico e ácido

litospérmico (BORA et al., 2011). Contudo, as folhas destacam-se como a parte da planta mais pesquisada nos estudos químicos dessa espécie vegetal, nas quais já foram relatadas as presenças de: ácido ascórbico (OBOH et al., 2008); ácido sinápico (NANGIA-MAKKER et al., 2007; PEREIRA e MAIA, 2007; VENUPRASAD et al., 2014); apigenina (NANGIA-MAKKER et al., 2007; VENUPRASAD et al., 2014); ácido *L*-caftárico; ácido *L*-chicórico; eugenil- $\beta$ -*D*-glucopiranosídeo; vicenina-2 (CASANOVA et al., 2014); metil-eugenol; apigenina 7,4,'-dimetil-éter; himenoxina; luteolina; nevadensina; salvigenina; xantomícol; basilimosídeo (VENUPRASAD et al., 2014); quercetina; ácido protocatecuico; epigallocatequina galato; ácido gálico; naringina (CHIU et al., 2012); rutina; catequina; epicatequina; ácido cafeico (CHIU et al., 2012; LI et al., 2012); glicosídeo cardiotônico (AKINMOLADUN et al., 2010; AKPAN et al., 2014) e glicosídeo cianogênico (NWEZE e EZE, 2009; OKOLI et al., 2010).

Os estudos etnofarmacológicos (SILVA et al., 2012; ALVES e POVH, 2013; NETO et al., 2014; RODRIGUES e ANDRADE, 2014; CUNHA et al., 2015) mostram que as comunidades tradicionais utilizam principalmente as folhas nas formas de infuso e decocto nas preparações fitoterápicas com *Ocimum gratissimum*, o que justifica o destaque desse órgão vegetal e dos solventes polares nas pesquisas químicas (Tabelas 1 e 2).

Nos estudos de *screening* fitoquímico, os compostos fenólicos são preponderantes nessa espécie vegetal, com destaque para a classe dos taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas, terpenos, esteroides, polifenóis e triterpenos (Tabela 1).

Tabela 1 – Classes de metabólitos secundários identificadas em *Ocimum gratissimum* L. em estudos de *screening* fitoquímico publicados entre 1999 e 2016.

| Classe de metabólitos | Preparação | Parte usada | Referência                                                                     |
|-----------------------|------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Alcaloides            | EA         | F           | Aziba et al., 1999; Tanko et al., 2008; Gupta et al., 2011; Akpan et al., 2014 |
|                       | EC         | F           | Gupta et al., 2011                                                             |
|                       | EE         | F           | Nweze e Eze, 2009; Koubala et al., 2013;                                       |
|                       |            | PA          | Dasmadhu e Harindran, 2014                                                     |
|                       | EP         | F           | Mann, 2012                                                                     |
|                       |            |             | Gupta et al., 2011                                                             |



|                     |    |    |                                                                                                                                 |
|---------------------|----|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | EM | F  | Braga et al., 2007; Akinmoladun et al., 2010; Okoli et al., 2010; Coutinho et al., 2011; Gupta et al., 2011; Kumar et al., 2011 |
|                     |    | I  | Braga et al., 2007                                                                                                              |
|                     |    | PA | Djeussi et al., 2013                                                                                                            |
| Antraquinonas       | EA | F  | Akpan et al., 2014                                                                                                              |
|                     | EE | PA | Mann, 2012                                                                                                                      |
| Auronas             | EH | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
|                     | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Açúcares redutores  | EE | F  | Nweze e Eze, 2009                                                                                                               |
| Aglicona esteroidal | EE | F  | Nweze e Eze, 2009                                                                                                               |
| Carboidratos        | EA | F  | Offiah e Chikwendu, 1999; Gupta et al., 2011; Akpan et al., 2014                                                                |
|                     | EE | F  | Dasmadhu e Harindran, 2014                                                                                                      |
|                     |    | PA | Mann, 2012                                                                                                                      |
|                     | EM | F  | Okoli et al., 2010                                                                                                              |
| Catequinas          | EH | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
|                     | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Chalconas           | EH | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
|                     | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Esteroides          | EA | F  | Offiah e Chikwendu, 1999; Tanko et al., 2008                                                                                    |
|                     | EE | F  | Dasmadhu e Harindran, 2014                                                                                                      |
|                     |    | PA | Mann, 2012                                                                                                                      |
|                     | EP | F  | Okoli et al., 2010                                                                                                              |
|                     | EM | F  | Braga et al., 2007; Akinmoladun et al., 2010; Kumar et al., 2011; Gupta et al., 2015                                            |
|                     |    | PA | Djeussi et al., 2013                                                                                                            |
| Fenois              | EA | F  | Akpan et al., 2014                                                                                                              |
|                     | EE | PA | Mann, 2012                                                                                                                      |
|                     |    | F  | Koubala et al., 2013                                                                                                            |
|                     | EM | F  | Akinmoladun et al., 2010                                                                                                        |
|                     |    | PA | Djeussi et al., 2013                                                                                                            |
| Flavonas            | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Flavonoides         | EA | F  | Oboh et al., 2008; Tanko et al., 2008; Gupta et al., 2011; Lee et al., 2013; Gontijo et al., 2014                               |
|                     | EC | F  | Gupta et al., 2011                                                                                                              |
|                     | EE | PA | Bora et al., 2011; Mann, 2012                                                                                                   |
|                     |    | F  | Koubala et al., 2013                                                                                                            |
|                     | ÉP | F  | Gupta et al., 2011                                                                                                              |
|                     | EH | F  | Oboh et al., 2008                                                                                                               |
|                     | EM | F  | Braga et al., 2007; Akinmoladun et al., 2010; Okoli et al., 2010; Gupta et al., 2011; Kumar et al., 2011; Gupta et al., 2015    |
|                     |    | I  | Braga et al., 2007                                                                                                              |
| Flavonois           | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Flavononois         | EH | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
|                     | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Leucoantocianidinas | EH | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
|                     | EM | F  | Coutinho et al., 2011                                                                                                           |
| Polifenois          | EA | F  | Oboh et al., 2008; Chiu et al., 2013; Lee et al., 2013; Ze-Long et al., 2013                                                    |
|                     |    | PA | Chiu et al., 2013                                                                                                               |
|                     | EE | F  | Dasmadhu e Harindran, 2014                                                                                                      |
|                     |    | PA | Bora et al., 2011                                                                                                               |
|                     | EH | F  | Oboh et al., 2008                                                                                                               |
|                     | EM | F  | Gupta et al., 2015                                                                                                              |
|                     |    | PA | Djeussi et al., 2013                                                                                                            |
| Resina              | EM | F  | Okoli et al., 2010                                                                                                              |
| Saponinas           | EA | F  | Tanko et al., 2008; Akpan et al., 2014; Gontijo, Fietto e Leite, 2014                                                           |
|                     | EE | F  | Nweze e Eze, 2009; Koubala et al., 2013; Dasmadhu e Harindran, 2014                                                             |
|                     |    | PA | Mann, 2012                                                                                                                      |



|             |    |         |                                                                                                                                                                             |
|-------------|----|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Taninos     | EM | F       | Braga et al., 2007; Okoli et al., 2010; Gupta et al., 2011; Kumar et al., 2011                                                                                              |
|             | EA | F       | Offiah e Chikwendu, 1999; Tanko et al., 2008; Gupta et al., 2011; Akpan et al., 2014; Gontijo et al., 2014                                                                  |
|             | EE | F<br>PA | Nweze e Eze, 2009; Koubala et al., 2013<br>Mann, 2012                                                                                                                       |
|             | EH | F       | Coutinho et al., 2011                                                                                                                                                       |
|             | EM | PA<br>F | Djeussi et al., 2013<br>Braga et al., 2007; Akinmoladun et al., 2010; Okoli et al., 2010; Coutinho et al., 2011; Gupta et al., 2011; Kumar et al., 2011; Gupta et al., 2015 |
| Terpenos    |    | I       | Braga et al., 2007                                                                                                                                                          |
|             | EA | F       | Tanko et al., 2008; Gupta et al., 2011                                                                                                                                      |
|             | EC | F       | Gupta et al., 2011                                                                                                                                                          |
|             | EE | F<br>PA | Nweze e Eze, 2009; Koubala et al., 2013<br>Bora et al., 2011; Mann, 2012                                                                                                    |
|             | EP | F       | Okoli et al., 2010; Gupta et al., 2011                                                                                                                                      |
|             | EH | F       | Coutinho et al., 2011                                                                                                                                                       |
|             | EM | F       | Akinmoladun et al., 2010; Coutinho et al., 2011; Gupta et al., 2011; Kumar et al., 2011; Gupta et al., 2015                                                                 |
| Triterpenos | EA | F       | Offiah e Chikwendu, 1999                                                                                                                                                    |
|             | EM | I<br>PA | Braga et al., 2007<br>Djeussi et al., 2013                                                                                                                                  |
| Xantonas    | EH | F       | Coutinho et al., 2011                                                                                                                                                       |
|             | EM | F       | Coutinho et al., 2011                                                                                                                                                       |

Legenda: EE = extrato etanólico; EA = extrato aquoso; EM = extrato metanólico; EH = extrato hexânico; EC = extrato clorofórmico; EP = extrato em éter de petróleo; F = folha; I = inflorescência; PA = parte aérea

Os componentes dos óleos essenciais são os compostos mais estudados quimicamente nessa espécie vegetal, onde os monoterpenos sobressaem-se como a classe química mais abundante, seguidos pelos sesquiterpenos. A extração predominante nesses estudos é hidrodestilação (Tabela 2)

A hidrodestilação é o método convencional de extração dos óleos essenciais e se baseia na evaporação desses compostos por aquecimento da água ou outros solventes seguido pela liquefação dos vapores em um condensador (RASSEM et al., 2016).

Tabela 2 - Componentes químicos identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. em estudos publicados entre 1999 e 2016.

| Componente                        | Parte usada | Referência                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Fenilpropanoide</b><br>eugenol | F           | Silva et al., 1999; Vieira et al., 2001; Lahlou et al., 2004; Lemos et al., 2005; Faria et al., 2006; Freire et al., 2006; Ueda-Nakamura et al., 2006; Matasyoh et al., 2007; Pereira e Maia, 2007; Matasyoh et al., 2008; Oliveira et al., 2009; Borges et al., 2012; Saha et al., 2013; Boijink et al., 2016; Oliveira et al., 2016; Ribeiro et al., 2016; Smitha e Tripathy, 2016 |
|                                   | I           | Silva et al., 2010; Smitha e Tripathy, 2016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|                                   | PA          | Faria et al., 2006; Joshi, 2013                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                                   | F           | Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| metil-eugenol                     | F           | Smitha e Tripathy, 2016; Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| metil-iso-eugenol                 | I           | Smitha e Tripathy, 2016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Monoterpeno</b>                |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 1,3,8- <i>p</i> -metatrieno       | F           | Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 1,8-cineol                        | F           | Silva et al., 1999; Vieira et al., 2001; Ngassouma et al., 2003; Lahlou et al., 2004; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Tatsadjieu et al., 2008; Oliveira et al., 2009; Boijink et al., 2016; Oliveira et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                                                            |
|                                   | PA          | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |





CIÊNCIA EXATAS E DA TERRA

|                                      |    |                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3,9-epoxi- <i>p</i> -menta-1,8-dieno | F  | Ngassouma et al., 2003; Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                           |
| 4-terpineol                          | F  | Silva et al., 1999; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                                                                                                                            |
| $\alpha$ -felandreno                 | F  | Ngassouma et al., 2003; Tchoumboungang et al., 2005; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                            |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| $\alpha$ -pineno                     | F  | Silva et al., 1999; Lahlou et al., 2004; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Saha et al., 2013; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                  |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| $\alpha$ -terpineno                  | F  | Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                           |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| $\alpha$ -terpineol                  | F  | Silva et al., 1999; Ngassouma et al., 2003; Lahlou et al., 2004; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                             |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| $\alpha$ -terpinoleno                | F  | Ngassouma et al., 2003                                                                                                                                                                                                                                    |
| $\alpha$ -tujeno                     | F  | Tchoumboungang et al., 2005; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Smitha e Tripathy, 2016                                                                                                                                                      |
|                                      | I  | Smitha e Tripathy, 2016                                                                                                                                                                                                                                   |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| $\beta$ -3-careno                    | F  | Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                                                   |
| $\beta$ -felandreno                  | F  | Tchoumboungang et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                      |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno       | F  | Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                                |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno       | F  | Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                 |
| $\beta$ -ocimeno                     | F  | Oliveira et al., 2016                                                                                                                                                                                                                                     |
|                                      | PA | Tchoumboungang et al., 2005; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                              |
| $\beta$ -pineno                      | F  | Lahlou et al., 2004; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Saha et al., 2013; Boijink et al., 2016; Oliveira et al., 2016; Ribeiro et al., 2016 |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| $\beta$ -terpineno                   | F  | Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                                                   |
| $\beta$ -terpineol                   | F  | Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                                                   |
| $\beta$ -tujono                      | F  | Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                                                   |
| $\delta$ -3-careno                   | F  | Tchoumboungang et al., 2005                                                                                                                                                                                                                               |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| $\delta$ -terpineol                  | F  | Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                                                                                                                                                |
| $\gamma$ -terpineno                  | F  | Vieira et al., 2001; Ngassouma et al., 2003; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Hounda et al., 2016                                                                                         |
|                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                              |
| $\gamma$ -terpineol                  | F  | Vieira et al., 2001                                                                                                                                                                                                                                       |
| $\gamma$ -terpinoleno                | F  | Bonou et al., 2016                                                                                                                                                                                                                                        |
|                                      | PA | Joshi, 2013                                                                                                                                                                                                                                               |
| <i>p</i> -cimeneno                   | F  | Lemos et al., 2005                                                                                                                                                                                                                                        |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>p</i> -cimeno                     | F  | Vieira et al., 2001; Ngassouma et al., 2003; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Bonou et al., 2016                                                                 |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>p</i> -cimen-7-ol                 | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>p</i> -cimen-8-ol                 | F  | Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                 |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>p</i> -mentano-1,3,8-trieno       | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| borneol                              | F  | Tamgue et al., 2011                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| canfeno                              | F  | Vieira et al., 2001; Tchoumboungang et al., 2005; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                          |
|                                      | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                           |
| cânfora                              | F  | Tchoumboungang et al., 2005; Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al.,                                                                                                                                                                                      |



|                                                           |    |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| carvacrol                                                 | F  | 2008; Tamgue et al., 2011; Saha et al., 2013                                                                                                                                                                                                                         |
|                                                           | PA | Lemos et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                          |
| cineol                                                    | F  | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| cis-4-caranono                                            | P  | Saha et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                                    |
| cis-ocimeno                                               | F  | Joshi, 2013                                                                                                                                                                                                                                                          |
|                                                           |    | Lahlou et al., 2004; Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                                                                                        |
| citral                                                    | F  | Saha et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                                    |
| citral A                                                  | F  | Tchoumboungang et al., 2005                                                                                                                                                                                                                                          |
| citral B (neral)                                          | F  | Tchoumboungang et al., 2005                                                                                                                                                                                                                                          |
| citronelal                                                | F  | Tchoumboungang et al., 2005; Saha et al., 2013                                                                                                                                                                                                                       |
|                                                           | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| dehidro- <i>p</i> -cimeno                                 | F  | Ngassouma et al., 2003; Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                                      |
| estragol (metil-chavicol)                                 | F  | Vieira et al., 2001                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                                                           | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| geraniol                                                  | F  | Vieira et al., 2001; Saha et al., 2013                                                                                                                                                                                                                               |
| hidrato cis-sabineno                                      | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| hidrato trans-sabineno                                    | F  | Tamgue et al., 2011                                                                                                                                                                                                                                                  |
|                                                           | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| limoneno                                                  | F  | Ngassouma et al., 2003; Tchoumboungang et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                         |
|                                                           | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| linalol                                                   | F  | Silva et al., 1999; Lahlou et al., 2004; Tchoumboungang et al., 2005; Freire, Marques e Costa, 2006; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Saha et al., 2013; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016; Sumitha e Thoppil, 2016 |
|                                                           | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| metil-ester-timol                                         | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| mirceno                                                   | F  | Silva et al., 1999; Lahlou et al., 2004; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Bonou et al., 2016; Ribeiro et al., 2016               |
|                                                           | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| neo-alo-ocimeno                                           | F  | Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                            |
| nerol                                                     | F  | Tchoumboungang et al., 2005                                                                                                                                                                                                                                          |
| sabineno                                                  | F  | Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Tatsadjieu et al., 2008; Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                                                     |
|                                                           | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| terpinen-4-ol                                             | F  | Tchoumboungang et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                 |
| terpin-4-ol                                               | F  | Vieira et al., 2001; Lemos et al., 2005                                                                                                                                                                                                                              |
|                                                           | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| terpinoleno                                               | F  | Vieira et al., 2001; Tchoumboungang et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                            |
|                                                           | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                         |
| trans-4-caranono                                          | PA | Joshi, 2013                                                                                                                                                                                                                                                          |
| trans-ocimeno                                             | F  | Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016                                                                                                                                                                             |
| trans- <i>p</i> -ocimeno                                  | F  | Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                                                                                              |
| trans-tujono                                              | F  | Nguemtchouin et al., 2013                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                                           | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| umbelulone                                                | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Diterpeno</b>                                          |    |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| fitol                                                     | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Triterpeno</b>                                         |    |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 6,10,14,18,22-tetracosapentaeno-2-ol,                     | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                                                                                              |
| 3-bromo-2,6,10,15,19,23-hexametil-,                       |    |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (all-e)-                                                  |    |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| megastigmatrienono                                        | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Sesquiterpeno</b>                                      |    |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 1,2-epóxidohumuleno                                       | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                                                                                                      |
| (1à,4aà,8aà)-1,2,3,4,4 <sup>a</sup> ,5,6,8 <sup>a</sup> - | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                                                                                              |





octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-naftaleno

6-isopropenil-4,8<sup>a</sup>-dimetil-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidronaftalen-2,3-diol7-epi- $\alpha$ -selineno $\alpha$ -amorfenos(Z)- $\alpha$ -bisaboleno $\alpha$ -bourboneno $\alpha$ -cadinol $\alpha$ -cariofileno $\alpha$ -copaeno $\alpha$ -cubebeno $\alpha$ -farneseno $\alpha$ -humuleno $\alpha$ -selineno $\alpha$ -trans-bergamoteno $\beta$ -bisaboleno $\beta$ -cariofileno $\beta$ -copaeno $\beta$ -cubebeno $\beta$ -elemeno $\beta$ -farneseno(E)- $\beta$ -farneseno $\beta$ -selineno $\gamma$ -cadineno $\gamma$ -cariofileno $\gamma$ -muuroleno $\delta$ -cadineno $\delta$ -elemeno $\lambda$ -selineno

alo-aromadendreno

ar-turmerono

F

F

PA

F

F

F

F

F

F

I

PA

F

F

F

PA

F

PA

PA

F

F

I

PA

F

PA

F

PA

F

I

PA

F

F

F

I

PA

F

F

F

I

PA

F

I

PA

F

F

PA

F

F

Sumitha e Thoppil, 2016

Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Tamgue et al., 2011

Lemos et al., 2005

Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Tchoumboungang et al., 2005

Tamgue et al., 2011

Vieira et al., 2001; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Tamgue et al., 2011; Smitha e Tripathy, 2016

Silva et al., 2010; Smitha e Tripathy, 2016

Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Nguemtchouin et al., 2013

Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008

Lahlou et al., 2004; Lemos et al., 2005; Freire et al., 2006; Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Lahlou et al., 2004; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Oliveira et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008

Silva et al., 1999; Ngassouma et al., 2003; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Oliveira et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Silva et al., 2010

Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Tatsadjieu et al., 2008; Nguemtchouin et al., 2013

Joshi, 2013

Tatsadjieu et al., 2008; Nguemtchouin et al., 2013; Smitha e Tripathy, 2016

Joshi, 2013

Silva et al., 1999; Lahlou et al., 2004; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Nguemtchouin et al., 2013; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Smitha e Tripathy, 2016

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Tatsadjieu et al., 2008

Lemos et al., 2005

Lahlou et al., 2004; Freire et al., 2006; Tamgue et al., 2011; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Oliveira et al., 2016

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Tchoumboungang et al., 2005

Vieira et al., 2001

Vieira et al., 2001; Tchoumboungang et al., 2005; Boijink et al., 2016; Ribeiro et al., 2016

Silva et al., 2010

Joshi, 2013

Tchoumboungang et al., 2005; Tamgue et al., 2011; Nguemtchouin et al., 2013

Silva et al., 2010

Joshi, 2013

Tchoumboungang et al., 2005

Vieira et al., 2001

Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014

Tchoumboungang et al., 2005

Sumitha e Thoppil, 2016

|                              |    |                                                                                                                                                                                          |
|------------------------------|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| bergamoteno                  | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                  |
| bisaboleno                   | F  | Tatsadjieu et al., 2008                                                                                                                                                                  |
| cariofileno                  | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                  |
| cis- $\beta$ -guaïeno        | F  | Lemos et al., 2005                                                                                                                                                                       |
| cis-muurola-4-(14),5-dieno   | PA | Joshi, 2013                                                                                                                                                                              |
| copaeno                      | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                  |
| curlono                      | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                  |
| epi-cubebol                  | PA | Joshi, 2013                                                                                                                                                                              |
| espatulenol                  | F  | Vieira et al., 2001; Lemos et al., 2005                                                                                                                                                  |
| germacreno A                 | F  | Freire et al., 2006                                                                                                                                                                      |
| germacreno D                 | F  | Lahlou et al., 2004; Lemos et al., 2005; Tchoumboungang et al., 2005; Freire et al., 2006; Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008; Ngumtchouin et al., 2013; Oliveira et al., 2016 |
|                              | PA | Joshi, 2013; Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                             |
| isolongifoleno               | F  | Smitha e Tripathy, 2016                                                                                                                                                                  |
|                              | I  | Smitha e Tripathy, 2016                                                                                                                                                                  |
| nerolidol                    | F  | Tchoumboungang et al., 2005                                                                                                                                                              |
| óxido-cariofileno            | F  | Lemos et al., 2005; Tatsadjieu et al., 2008; Ngumtchouin et al., 2013; Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                           |
|                              | PA | Kpadonou-Kpoviessi et al., 2014                                                                                                                                                          |
| T-cadinol                    | F  | Tchoumboungang et al., 2005                                                                                                                                                              |
| trans-cariofileno            | F  | Lahlou et al., 2004; Freire et al., 2006; Matasyoh et al., 2007; Matasyoh et al., 2008                                                                                                   |
| turnerono                    | F  | Sumitha e Thoppil, 2016                                                                                                                                                                  |
| trans-muurola-4-(14),5-dieno | PA | Joshi, 2013                                                                                                                                                                              |

Legenda: F = folha; I = inflorescência; PA = parte aérea

Em geral, os terpenoides são predominantes nos óleos essenciais das plantas, mas muitos desses óleos são constituídos também por fenilpropanoides (SANGWAN et al., 2001), como no caso de *Ocimum gratissimum*, que apresenta, inclusive, o fenilpropanoide eugenol como um dos compostos mais identificados no seu óleo essencial (Tabela 2). É importante frisar que terpenos e fenilpropanoides possuem rotas biossintéticas distintas: os terpenos são originados pelas vias do ácido mevalônico e do metileritritol-fosfato (DUDAREVA et al., 2013), enquanto que os fenilpropanoides são formados pela via do ácido chiquímico (TAN e NISHIDA, 2012). As estruturas químicas dos componentes mais isolados e identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. estão dispostas na Figura 1.

Os óleos essenciais presentes nos vegetais consistem em uma mistura complexa de compostos químicos, cada uma das quais tem certas propriedades químicas e físicas que, em combinação com suas diferentes proporções, dão aos óleos essenciais características distintivas. As diferenças no aroma entre os tipos de plantas resultam de diferenças na volatilidade e quantidade de produtos químicos nos óleos essenciais (FIGUEIREDO et al., 2008) e isso pode, inclusive, impactar na qualidade do óleo essencial.

A composição química do óleo essencial das folhas e da inflorescência de *Ocimum gratissimum* apresenta grandes alterações dependendo da localização geográfica, fase de crescimento e época de coleta (SMITHA e TRIPATHY, 2016). Os componentes majoritários do óleo essencial das folhas dessa espécie podem variar de zero a 98,02% devido apenas a diferenças na hora de coleta (SILVA et al., 1999), sendo recomendada a colheita das suas folhas pela manhã ou entre 11 e 13 horas, período em que o teor de eugenol é mais elevado (PEREIRA e MOREIRA, 2011).

A síntese dos metabólitos secundários depende diretamente da produção dos metabólitos primários resultantes de processos fisiológicos básicos dos vegetais, como fotossíntese e glicólise. Qualquer fator capaz de alterar os mecanismos fisiológicos do vegetal, como luz, temperatura, vento, umidade e potencial hídrico, acarreta na maior ou menor produção de metabólitos primários, como carboidratos e proteínas, e consequentemente, altera a produção de metabólitos secundários, como heterosídeos cianogênicos, resinas, fenóis simples, taninos, terpenos, saponinas, flavonoides, antocianinas, antocianidinas, alcaloides, cumarinas e os componentes de óleos essenciais (TAIZ et al., 2014).

Fatores intrínsecos, relacionados à genética da planta, como a disponibilidade de

pigmentos fotossintetizantes ou de enzimas e cofatores, assim como os fatores extrínsecos, decorrentes do ambiente no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Ressalta-se que os fatores extrínsecos podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário do vegetal (MORAIS, 2009; SIMÕES et al., 2017).

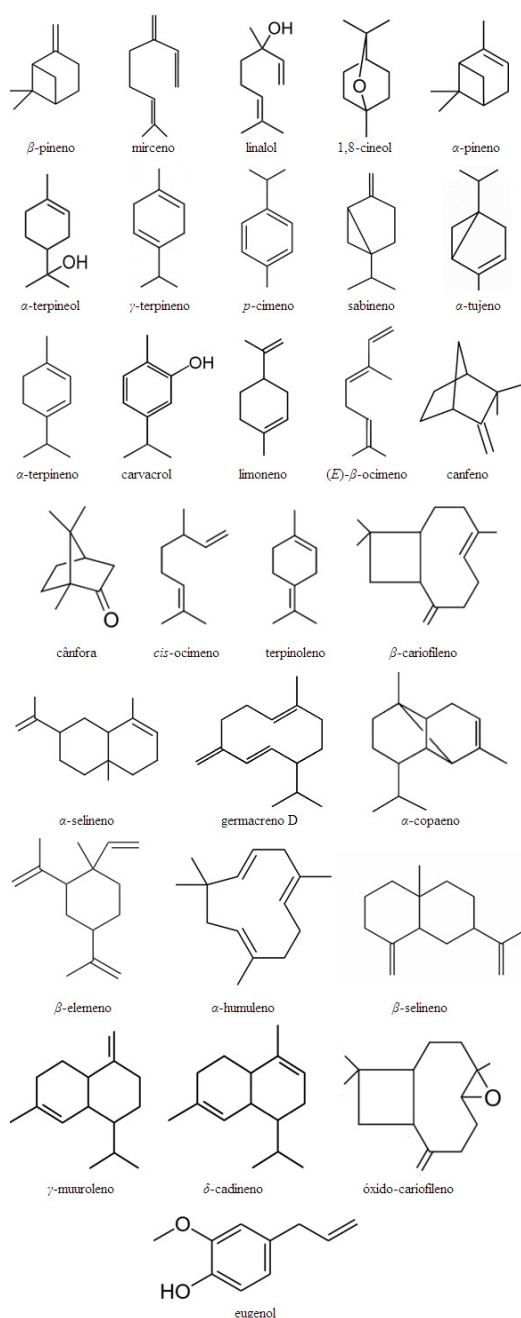


Figura 1 - Estrutura química dos principais componentes identificados no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L.

Dentre os diversos fatores abióticos que influenciam a síntese de metabólitos primários e secundários no vegetal merecem destaque: as interações planta/planta, planta/insetos e planta/micro-organismos; idade e estágio de desenvolvimento; luminosidade; temperatura; sazonalidade; pluviosidade; nutrição; época e horário de coleta; bem como técnicas de colheita e pós-colheita (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Os óleos essenciais são tão importantes em *Ocimum gratissimum* que até os seus componentes majoritários são utilizados na identificação de quimitipos da espécie. Verma et al. (2013), por exemplo, citam um quimiotipo caracterizado pela presença de eugenol, (Z)- $\beta$ -ocimeno, germacreno D e (E)-cariofileno, como constituintes majoritários do óleo essencial da parte aérea dessa planta. No entanto, existem até três quimiotipos para essa espécie, estabelecidos em função do principal componente majoritário do óleo essencial das suas folhas: eugenol, geraniol e timol (VIEIRA et al., 2001; VIANNA, 2009; CAROVIÉ-STANKO et al., 2011).

Estudos de variabilidade química do óleo essencial em relação aos fatores ambientais podem fornecer informações sobre o que determina seu polimorfismo químico (ZOUARI et al., 2012).

No óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* também foram relatadas as presenças de: vanilina (JOSHI, 2013; SAHA et al., 2013); ácido palmítico (VENUPRASAD et al., 2014); octan-3-one (KPADONOU-KPOVIESSI et al., 2014); vitamina E; metil-éster-iso-palmítico; anidrido palmítico; ácido metil-éster 7,10-octadecadienoico; ácido metil-éster 7,10,13-hexadecatrienoico; ácido metil-éster 6,9,12,15-docosatetraenoico; 1,3,7,7-tetrametil-; murolano-3,9(11)-dieno-10-peroxi; 1-(2,5-dimetoxifenil)-propanol; 2-(4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidro-naftalen-2-il)-prop-2-en-1-ol; 2-metil-5-(1)-ciclopenteno-1-metanol; cardol; 4,4,11,11-tetrametil-7-tetraciclo [6.2.1.0(3.8)0(3.9)] undecanol; 4-bromo-2-adamantanol; 2-benzil-2-metil-1,3-oxatolano; ledeno; spirio-10-(2,11-dioxabicyclo[4.4.1]undeca-3,5-dieno)-2'-(oxirano); spatulenol; 4-(dimetoximetil)-1,2-dimetoxi-benzeno (ddb); 4-hidroxi-2-metoxibenzaldeído;  $\alpha$ -canfolenal; coniferil; ácido verátrico; 1-(4-isopropoxi-3-metoxifenil)-propan-2-ona; 4-hidroxi-2-metilacetofenona; metil-veratril; (E)-metil cinamato; 1,3,3-trimetil-

6-azabicyclo[3.2.1]octano; 4-(5-etenil-1-azabicyclo(2,2,2)octano-2); 3,9-epoxipregn-16-en-20-one, 3-metoxi-7,11,18-triacetoxi-; 3 $\beta$ -(acetiloxi)-5-hidroxi-6 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dimetilpregnan-20-one;  $\gamma$ -sitosterol; 3-alil-6-metoxifenol; 2-etenil-benzofurano; ácido metil-éster-diidroorotato; 3-metoximetil-2,5,5,8a-tetrametil-6,7,8,8a-tetrahidro-2h-cromeno; 1-(1-hidroxibutil)-2,5-dimetoxibenzeno; 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-1-; benzotiofeno-3-carbonitrila (SUMITHA e THOPPIL, 2016); 1-metil-4(1-metiletenil)-benzeno (mmb); acetato de bornila (TAMGUE et al., 2011), hexanal-2 (TATSADJIEU et al., 2008); acetato de linalil (TCHOUMBOUGNANG et al., 2005); metil-salicilato (JOSHI, 2013); metoxibenzeno (VIEIRA et al., 2001).

A importância da identificação química de uma espécie vegetal de uso medicinal está na possibilidade de se elucidar os responsáveis pela ação farmacológica exibida pela planta. Nesse sentido, destaca-se o eugenol, considerado o responsável pela propriedade antisséptica do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (NAKAMURA et al., 1999), e o ácido chicórico, ao qual é atribuída a atividade hipoglicemiante das folhas dessa espécie vegetal (CASANOVA et al., 2014).

De modo geral, os compostos fenólicos se destacam, pois uma das principais atividades farmacológicas de *Ocimum gratissimum*, a antioxidante, é atribuída a esses compostos das classes: polifenóis (OBOH et al., 2008; AKINMOLADUN et al., 2010; CHIU et al., 2013; VENUPRASAD et al., 2014; HZOUNDA et al., 2016), flavonoides (OBOH et al., 2008; AKINMOLADUN et al., 2010; GONTIJO et al., 2014; VENUPRASAD et al., 2014), esteroides, terpenos e alcaloides (AKINMOLADUN et al., 2010).

### 3 Conclusão

Os estudos químicos com *Ocimum gratissimum* ainda são escassos e se concentram principalmente no óleo essencial de suas folhas. Há carência de pesquisas em relação aos efeitos de fatores abióticos sobre sua síntese metabólica e, conseqüentemente, sobre seus componentes químicos. Faltam estudos aprofundados sobre substâncias químicas isoladas e identificadas cientificamente como responsáveis pelas atividades biológicas dessa espécie vegetal.

### Divulgação

Este artigo de revisão é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista Scientia Amazonia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

### Referências

- AKINMOLADUN, A.C.; OBUOTOR, E.M.; FAROMBI, E.O. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging capacities of some nigerian indigenous medicinal plants. *Journal of Medicinal Food*, v.13, n.2, p.444–451, 2010.
- AKINRINDE, A.S.; OYAGBEMI, A.A.; OMOBOWALE, T.O.; ASENUGA, E.R.; AJIBADE, T.O. Alterations in blood pressure, antioxidant status and caspase 8 expression in cobalt chloride-induced cardio-renal dysfunction are reversed by *Ocimum gratissimum* and gallic acid in Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v.36, p.27–37, 2016.
- AKPAN, O.U.; BASSEY, R.B.; AGBA, B.S.; EDEGHA, I.A. Elevation of serum pancreatic amylase and distortion of pancreatic cytoarchitecture in type 1 *diabetes mellitus* rats treated with *Ocimum gratissimum*. *Nigeria Medical Association*, v.55, n.1, p.34–38, 2014.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, v.6, n.11, p.1720–1731, 2011.
- ALVES, G.S.P.; POVH, J.A. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. *Biotemas*, v.26, n.3, p.231–242, 2013.
- AZIBA, P.I.; BASS, D.; ELEGBE, Y. Pharmacological Investigation of *Ocimum gratissimum* in rodents. *Phytotherapy Research*, v.13, n.5, p.427–429, 1999.
- BONOU, J.; BABA-MOUSSA, F.; NOUMAVO, P.A.; AHOUEANDJINO, H.; ADÉOTI, K.; MÉTOGNON, I.; AKPAGANA, K.; MANSOUROU, M.; GBÉNOU, J.D.; TOUKOUROU, F.; BABA-MOUSSA, L. Composition chimique et influence de différents tensioactifs sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus*





*nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. European Scientific Journal, v.12, n.27, p.162-171, 2016.

BORA, K.S.; SHRI, R.; MONGA, J. Cerebroprotective effect of *Ocimum gratissimum* against focal ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. Pharmaceutical Biology, v.49, n.2, p.175-181, 2011.

BORGES, A.M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M.G.; ALVES, J.A.; LUCENA, E.M.P. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.14, n.4, p.656-665, 2012.

BRAGA, F.G.; BOUZADA, M.L.M.; FABRI, R.L.; DE O. MATOS, M.; MOREIRA, F.O.; SCIO, E.; COIMBRA, E.S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. Journal of Ethnopharmacology, v.111, n.2, p.396-402, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. RENISUS-Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. 2009.

CAROVÍÉ-STANKO, K.; LIBER, Z.; POLITEO, O.; STRIKIC, F.; KOLAK, I.; MILOS, M.; SATOVIC, Z. Molecular and chemical characterization of the most widespread *Ocimum* species. Plant Systematics and Evolution, v.294, n.3, p.253-262, 2011.

CASANOVA, L.M.; DA SILVA, D.; SOLA-PENNA, M.; DE MAGALHÃES CAMARGO, L.M.; DE MOURA CELESTRINI, D.; TINOCO, L.W.; COSTA, S.S. Identification of chicoric acid as a hypoglycemic agent from *Ocimum gratissimum* leaf extract in a biomonitoring in vivo study. Fitoterapia, v.93, p.132-141, 2014.

CHIU, C.C.; HUANG, C.Y.; CHEN, T.Y.; KAO, S.H.; LIU, J.Y.; WANG, Y.W.; TZANG, B.S.; HSU, T.C. Beneficial effects of *Ocimum gratissimum* aqueous extract on rats with CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, p.1-9, 2012.

CHIU, Y.W.; LO, H.J.; HUANG, H.J.; CHAO, P.Y.; HWANG, J.M.; HUANG, P.Y.; HUANG, S.J.; LIU, J.Y.; LAI, T.J. The antioxidant and cytoprotective activity of *Ocimum gratissimum* extracts against hydrogen peroxide-induced toxicity in human HepG2 cells. Journal of Food and Drug Analysis, v.21, n.3, p.253-260, 2013.

COUTINHO, H.D.M.; MATIAS, E.F.F.; SANTOS, K.K.A.; SANTOS, F.A.V.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.;

SOUZA, T.M.; ANDRADE, J.C.; SOUZA, C.E.S.; TINTINO, S.R.; GUEDES, G.M.M.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P.; COSTA, J.G.M. Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Croton campestris* A. and *Ocimum gratissimum* L. Biomédica, v.31, n.4, p.608-612, 2011.

CUNHA, M.M.C.; GONDIM, R.S.D.; BONFIM, B.F.; BATALHA JUNIOR, N.J.P.; BARROSO, W.A.; VILANOVA, C.M. Perfil etnobotânico de plantas medicinais comercializadas em feiras livres de São Luís, Maranhão, Brasil. Scientia Plena, v.11, n.12, p.1-12, 2015.

DASMADHU, K.; HARINDRAN, J. Antiarthritic potential of *Ocimum gratissimum* L. in collagen induced arthritic Sprague-Dawley rats. Biomedicine e Aging Pathology, v.4, n.3, p.191-196, 2014.

DJEUSI, D.E.; NOUMEDEM, J.A.; SEUKEP, J.A.; FANKAM, A.G.; VOUEKENG, I.K.; TANKEO, S.B.; NKUETE, A.H.; KUETE, V. Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine, v.13, n.164, p.1-8, 2013.

DUDAREVA, N.; KLEMPIEN, A.; MUHLEMANN, J.K.; KAPLAN, I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. New Phytologist, v.198, n.1, p.16-32, 2013.

FARIA, T.J.; FERREIRA, R.S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J.R.P.; ISHIKAWA, N.K.; BARBOSA, A.M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. Brazilian Archives of Biology and Technology, v.49, n.6, p.867-871, 2006.

FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; PEDRO, L.G.; SCHEFFER, J.J.C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, v.23, n.4, p.213-226, 2008.

FITS, L. van der; MEMELIN, J. ORCA3, a Jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. Science, v.289, p.295-297, 2000.

FLORA DO BRASIL. Lamiaceae. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB23332>>. Acesso em: 26 Fev. 2018



FREIRE, C.M.M.; MARQUES, M.O.M.; COSTA, M. Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology, v.105, n.1-2, p.161–166, 2006.

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

GONTIJO, D.C.; FIETTO, L.C.; LEITE, J.P.V. Avaliação fitoquímica e atividade antioxidante, antimutagênica e toxicológica do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* L. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.16, n.4, p.874-880, 2014.

GRIN-GLOBAL. Taxon: *Ocimum gratissimum* L. Disponível em: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=25483>. Acesso em: 24 nov 2016.

GUPTA, A.; SHETH, N. R.; PANDEY, S.; YADAV, J. S.; JOSHI, S. V. Screening of flavonoids rich fractions of three Indian medicinal plants used for the management of liver diseases. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.25, n.5, p.485–490, 2015.

GUPTA, O. P.; KARKUTE, S. G.; BANERJEE, S.; MEENA, N. L.; DAHUJA, A. Contemporary understanding of miRNA-based regulation of secondary metabolites biosynthesis in plants. Frontiers in Plant Science, v.8, 374, 2017.

GUPTA, V.K.; SINGH, J.; KUMAR, R.; BHANOT, A. Pharmacognostic and preliminary phytochemical study of *Ocimum gratissimum* Linn. (Family: Lamiaceae). Asian Journal of Plant Sciences, v.10, n.7, p.365-369, 2011.

HZOUNDA, J.B.F.; JAZET, P.M.D.; LAZAR, G.; RADUCANU, D.; CARAMAN, I.; BASSENE, E.; BOYOM, F.F.; LAZAR, I.M. Spectral and chemometric analyses reveal antioxidant properties of essential oils from four Cameroonian *Ocimum*. Industrial Crops and Products, v.80, p.101–108, 2016.

IGBINOSA, E.O.; IDEMUDIA, O.G. Anti-vibrio potentials of acetone and aqueous leaf extracts of *Ocimum gratissimum* (Linn). Tropical Journal of Pharmaceutical Research, v.15, n.4, p.743-750, 2016.

JOSHI, R. Chemical composition, In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum*, *O. sanctum* and their major constituents. Indian Journal of

Pharmaceutical Sciences, v.75, n.4, p.457-461, 2013.

KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. 2ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 431 p. 2012.

KOUBALA, B.B.; MIAFO, A.T.; BOUBA, D.; KAMDA, A.G.S.; KANSKI, G. Evaluation of insecticide properties of ethanolic extract from *Balanites aegyptiaca*, *Melia azedarach* and *Ocimum gratissimum* leaves on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Asian Journal of Agricultural Research, v.5, n.5, 93-101, 2013.

KPADONOU-KPOVIESSI, B.G.H.; KPOVIESSI, S.D.S.; LADEKAN, E.Y.; GBAGUIDI, F.; FRÉDÉRICH, M.; MOUDACHIROU, M.; QUETIN-LECLERCQ, J.; ACCROMBESSI, G.C.; BERO, J. In vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activities of crude extracts and essential oils of *Ocimum gratissimum* Linn from Benin and influence of vegetative stage. Journal of Ethnopharmacology, v.155, n.3, p.1417–1423, 2014.

KUMAR, V.; SINHA, M.; BANERJEE, A.; MOHANTY, J. Antinociceptive activity of methanolic extract of *Ocimum gratissimum* (Labiata) on experimental animals. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v.3, n.3, p.64-66, 2011.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, F.L.F.; LEAL-CARDOSO, J.H.; MORAIS, S.M.; DUARTE, G.P. Cardiovascular effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves in rats: role of the autonomic nervous system. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, v.31, n.4, p.219–225, 2004.

LATTANZIO, V. Phenolic compounds: introduction, in: Natural Products. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, p.1543–1580, 2013.

LEE, M.J.; CHEN, H.M.; TZANG, B.S.; LIN, C.W.; WANG, C.J.; LIU, J.Y.; KAO, S.H. *Ocimum gratissimum* aqueous extract protects H9c2 myocardial cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell apoptosis through akt signalling. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, p.1-8, 578060, 2011.

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

LI, P.C.; CHIU, Y.W.; LIN, Y.M.; DAY, C.H.; HWANG, G.Y.; PAI, P.; TSAI, F.J.; TSAI, C.H.;



- KUO, Y.C.; CHANG, H.C.; LIU, J.Y.; HUANG, C.Y. Herbal supplement ameliorates cardiac hypertrophy in rats with CCl<sub>4</sub>-induced liver cirrhosis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, p.1-9, 139045, 2012.
- MANN, A. Phytochemical constituents and antimicrobial and grain protectant activities of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.) grown in Nigeria. International Journal of Plant Research, v.2, n.1, p.51-58, 2012.
- MATASYOH, L.G.; MATASYOH, J.C.; WACHIRA, F.N.; KINYUA, M.G.; MUIGAI, A.W.T.; MUKIAMA, T.K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. African Journal of Biotechnology, v.6, n.6, p.760-765, 2007.
- MATASYOH, L.G.; MATASYOH, J.C.; WACHIRA, F.N.; KINYUA, M.G.; MUIGAI, A.W.T.; MUKIAMA, T.K. Antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum gratissimum* L. from different populations of Kenya. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, v.5, n.2, p.187-193, 2008.
- MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Horticultura Brasileira, v.27, n.2, p.4050-4063, 2009.
- NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A.F.N.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS FILHO, B.P. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.94, n.5, p.675-678, 1999.
- NANGIA-MAKKER, P.; TAIT, L.; SHEKHAR, M. P. V.; PALOMINO, E.; HOGAN, V.; PIECHOCKI, M. P.; FUNASAKA, T.; RAZ, A. Inhibition of breast tumor growth and angiogenesis by a medicinal herb: *Ocimum gratissimum*. International Journal of Cancer, v.121, n.4, p.884-894, 2007.
- NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.41, n.2, p.121-142, 2005.
- NETO, F.R.G.; ALMEIDA, G.S.S.A.; JESUS, N.G.; FONSECA, M.R. Estudo Etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela Comunidade do Sisal no município de Catu, Bahia, Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.16, n.4, p.856-865, 2014.
- NGASSOUM, M.B.; ESSIA-NGANG, J.J.; TATSADJIEU, L.N.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; ADJOUDJI, O. Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. Fitoterapia, v.74, n.3, p.284-287, 2003.
- NGUEFACK, J.; DONGMO, J.B.L.; DAKOLE, C.D.; LETH, V.; VISMER, H.F.; TORP, J.; GUEMDJOM, E.F.N.; MBEFFO, M.; TAMGUE, O.; FOTIO, D.; ZOLLO, P.H.A.; NKENGACK, A.E. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. International Journal of Food Microbiology, v.131, n.2-3, p.151-156, 2009.
- NGUEMTCHOUIN, M.G.M.; NGASSOUM, M.B.; CHALIER, P.; KAMGA, R.; NGAMO, L.S.T.; CRETIN, M. *Ocimum gratissimum* essential oil and modified montmorillonite clay, a means of controlling insect pests in stored products. Journal of Stored Products Research, v.52, p.57-62, 2013.
- NWEZE, E.I.; EZE, E.E. Justification for the use of *Ocimum gratissimum* L in herbal medicine and its interaction with disc antibiotics. BioMed Central Complementary and Alternative Medicine, v.9, n.37, p.1-6, 2009.
- OBOH, G.; RADDATZ, H.; HENLE, T. Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.88, n.14, p.2486-2492, 2008.
- OFFIAH, V.N.; CHIKWENDU, U.A. Antidiarrhoeal effects of *Ocimum gratissimum* leaf extract in experimental animals. Journal of Ethnopharmacology, v.68, n.1-3, p.327-330, 1999.
- OGUANABI, N.I.; CHIJOKE, C.P.; GHASI, S. Anti-diabetic effect of crude leaf extracts of *Ocimum gratissimum* in neonatal streptozotocin induced type-2 model diabetic rats. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v.4, n.5, p.77-83, 2012.
- OKOLI, C.; EZIKE, A.; AGWAGAH, O.; AKAH, P. Anticonvulsant and anxiolytic evaluation of leaf extracts of *Ocimum gratissimum*, a culinary herb. Pharmacognosy Research, v.2, n.1, p.36-39, 2010.
- OLIVEIRA, L.B.S.; BATISTA, A.H.M.; FERNANDES, F.C.; SALES, G.W.P.; NOGUEIRA, N.A.P. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de *Candida*. Revista



Brasileira de Plantas Medicinais, v.18, n.2, p.511-523, 2016.

OLIVOTO, T.; NARDINO, M.; CARVALHO, I.R.; FOLLMANN, D.N.; SZARESKI, V.J.; FERRARI, M.; PELEGRIN, A.J.; SOUZA, V.Q. Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: A review. *African Journal of Agricultural Research*, v.12, n.2, p.71–84, 2017.

PEREIRA, C.A.M.; MAIA, J.F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, n.3, p.624-632, 2007.

PEREIRA, R.C.A.; MOREIRA, A.L.M. *Manjeriço*: cultivo e utilização. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 31p. 2011.

POVH, J.A.; ALVES, G.S.P. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. *Biotemas*, v.26, n.3, p.231-242, 2013.

PRASANNABALAJI, N.; MURALITHARAN, G.; SIVANANDAN, R.N.; KUMARAN, S.; PUGAZHVENDAN, S.R. Antibacterial activities of some Indian traditional plant extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, v.2, n.1, p.S291–S295, 2012.

RASSEM, H.H.A.; NOUR, A.H.; YUNUS, R.M. Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, v.10, n.16, p.117-127, 2016.

RIBEIRO, A.S.; BATISTA, E.D.S.; DAIRIKI, J.K.; CHAVES, F.C.M.; INOUE, L.A.K.A. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrix. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v.38, n.1, p.1-7, 2016.

RIOS, M.N.S.; PASTORE JR., F. Plantas da Amazônia: 450 espécies de uso geral. Brasília: UNB, 3140p. 2011.

RODRIGUES, A.P.; ANDRADE, L.H.C. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela comunidade de Inhamã, Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.16, n.3, p.721-730, 2014.

SAHA, S.; DHAR, T.N.; SENGUPTA, C.; GHOSH, P. Biological activities of essential oils and methanol extracts of five *Ocimum* species against pathogenic bacteria. *Czech Journal of Food Sciences*, v.31, n.2, p.194–202, 2013.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, v.34, n.1, p.3–21, 2001.

SEYFRIED, M.; SOLDERA-SILVA, A.; BOVO, F.; STEVAN-HANCKE, F.R.; MAURER, J.B. B.; ZAWADZKI-BAGGIO, S.F. Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.18, n.1, p.201–214, 2016.

SHARMA, V.; JOSHI, A.; DUBEY, B.K. Comparative pharmacognostical and phytochemical evaluation (leaf) of different species of *Ocimum*. *International Journal of Phytopharmacy*, v.1, n.2, p.43-49, 2011.

SINGH, R. Chemotaxonomy: a tool for plant classification. *Journal of Medicinal Plants Studies*, v. 4, n.2, p. 90-93, 2016.

SILVA, A.C.O.; ABREU LIMA, R.A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v.20, n.1, p.381-388, 2016.

SILVA, C.G.; MARINHO, M.G.V.; LUCENA, M.F.A.; COSTA, J.G.M. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.17, n.1, p.133-142, 2015.

SILVA, L.L.; HELDWEIN, C.G.; REETZ, L.G.B.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C.A.; HEINZMANN, B.M. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.20, n.5, p.700-705, 2010.

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.

SILVA, W.A.; FAGUNDES, N.C.A.; COUTINHO, C.A.; SOARES, A.C.M.; CAMPOS, P.V.; FIGUEIREDO, L.S. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de São João da Ponte-MG. *Revista de Biologia e Farmácia*, v.7, n.1, p.122-131, 2012.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (org.)





Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 502 p., 2017.

SMITHA, G.R.; TRIPATHY, V. Seasonal variation in the essential oils extracted from leaves and inflorescence of different *Ocimum* species grown in Western plains of India. *Industrial Crops and Products*, v.94, p.52–64, 2016.

SOUSA, M.J.M.; MORAL, F.F.; NASCIMENTO, G.N.L.; SOARES, N.P.; AVERSI-FERREIRA, T.A. Medicinal plants used by Itamaraty community nearby Anápolis, Goiás State, Brazil. *Acta Scientiarum*, v.32, n.2, p.177-184, 2010.

SOUSA, R.F.; SOUSA, J.A. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental*, v.11, n.1, p.1-8, 2017.

SUMITHA, K.V.; THOPPIL, J.E. Larvicidal efficacy and chemical constituents of *O. gratissimum* L. (Lamiaceae) essential oil against *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v.115, n.2, p.673–680, 2016.

TAMGUE, O.; BENGUELLA, L.; NGUEFACK, J.; DONGMOA, J.B.L.; DAKOLEA, C.D. Synergism and antagonism of essential oil fractions of *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *International Journal of Plant Pathology*, v.2, n.2, p.51-62, 2011.

TAN, K.H.; NISHIDA, R. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to insect behavior and pollination. *Journal of Insect Science*, v.12, n.56, p.1–60, 2012.

TANKO, Y.; MAGAJI, G.M.; YERIMA, M.; MAGAJ, R.A.; MOHAMMED, A. Antinociceptive and antiinflammatory activities of aqueous leaves extract of *Ocimum gratissimum* (Labiata) in rodents. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, v.5, n.2, p.141–146, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. MOLLER, I.M.; MURPHY, A. *Plant physiology and development*. 6a. ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 761 p. 2014.

TATSADJIEU, N.L.; ETOA, F.X.; MBOFUNG, C.M.F.; NGASSOUM, M.B. Effect of *Plectranthus glandulosus* and *Ocimum gratissimum* essential oils on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin

B1 production. *Tropicultura*, v.26, n.2, p.78-83, 2008.

TCHOUMBOUGNANG, F.; ZOLLO, P.H.A.; DAGNE, E.; MEKONNEN. *In vivo* antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. *Planta Medica*, v.71, n.1, p.20-23, 2005.

TSHILANDA, D.D.; ONYAMBOKO, D.N.; BABADYBILA, P.; NGBOLUA, K.T.; TSHIBANGU, D.S.; DIA FITA DIBWE, E.; MPIANA, P.T. Antisickling activity of ursolic acid isolated from the leaves of *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). *Natural Products and Bioprospecting*, v.5, n.4, p.215-221, 2015.

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

VENUPRASAD, M.P.; KUMAR KANDIKATTU, H.; RAZACK, S.; KHANUM, F. Phytochemical analysis of *Ocimum gratissimum* by LC-ESI-MS/MS and its antioxidant and anxiolytic effects. *South African Journal of Botany*, v.92, p.151–158, 2014.

VERMA, R.S.; PADALIA, R.C.; CHAUHAN, A.; THUL, S.T. Exploring compositional diversity in the essential oils of 34 *Ocimum* taxa from Indian flora. *Industrial Crops and Products*, v.45, p.7–19, 2013.

VIANNA, J.S. Caracterização anatômica, morfológica e química de quimiotipos de *Ocimum gratissimum* Lineu. 2009. 78p. (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade de Brasília-Faculdade de Agronomia e Veterinária, Brasília.

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*, v.29, n.3, p.287-304, 2001.

ZE-LONG, J.; LEI, L.; ZI-GANG, Z.; DAN, L.; BI-WEN, L.; HENG-JIN, L. Aqueous extracts of *Ocimum gratissimum* inhibits lipopolysaccharide-induced interleukin-6 and interleukin-8 expression in airway epithelial cell BEAS-2B. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, v.19, n.10, p.741-748, 2013.



CIÊNCIA EXATAS E DA TERRA

**Scientia Amazonia, v. 7, n.2, C10-C26, 2018**

Revista on-line <http://www.scientia-amazonia.org>

ISSN:2238.1910

ZOUARI, N.; AYADI, I.; FAKHFAKH, N.; REBAI, A.;  
ZOUARI, S. Variation of chemical composition of  
essential oils in wild populations of *Thymus*

*algeriensis* Boiss. et Reut., a North African  
endemic species. Lipids Health Disease, v.11,  
n.28, p.1-12, 2012.