

JULIAN RODRIGUES SILVA

**ESTRESSE POR ALUMÍNIO EM ORÉGANO (*Origanum  
vulgare* L.)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientador: Ernane Ronie Martins

Coorientador: Cândido Alves da Costa

Montes Claros

2015

S586e Silva, Julian Rodrigues.

2015

Estresse por alumínio em orégano (*Origanum vulgare* L.) / Julian Rodrigues Silva. Montes Claro, MG: ICA/UFMG, 2015.

65f.: il.

Dissertação (mestrado) - Ciências Agrárias, área de concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, 2015.

Orientadora: Ernane Ronie Martins.

Banca examinadora: Ernane Ronie Martins, Cândido Alves da Costa, Janini Tatiane Lima Souza Maia, Francine Souza Alves da Fonseca.

Inclui bibliografia: f. 56-64.

1. Metais - toxicologia. 2. Condimentos. 3. Antioxidantes. 4. Metabolismo secundário. 5. Flavonoides. I. Martins, Ernane Ronie. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 633.8

**JULIAN RODRIGUES SILVA**

Estresse por Alumínio em Orégano (*Origanum vulgare* L.)

Aprovado em 28/02/2015

---

Prof. Dr. Ernane Ronie Martins  
(UFMG/ICA)

Dedico esta vitória à minha mãe!

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo milagre da vida.

Ao Professor Ernane, pelos quatro anos de orientação e exemplo como professor.

À Dr. Francine Fonseca, pelas tantas dúvidas esclarecidas e pela didática e leveza, mesmo lidando com coisas tão complexas.

Aos colegas do PET Agronomia da UFMG, pelo apoio na execução dos trabalhos.

Ao professor Cândido, pela disponibilidade em meio à correria do dia a dia.

A UFMG, pela instituição que é.

A Bibliotecária Edélzia, pelo apoio em vários momentos.

Aos colegas do Mestrado em Produção Vegetal, pelas conversas, amizades, planejamentos e aspirações.

A capes, pela concessão da bolsa para o desenvolvimento do projeto

Ao amor da minha vida, Elizangela, pela compreensão de tantas privações.

A todos que contribuíram de alguma forma: meu muito obrigado!

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – Plântulas de *Origanum vulgare* L. com duas semanas após a semente em espuma fenólica. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.....31
- FIGURA 2 – Estrutura de berçário utilizada na produção de *Origanum vulgare* L. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.....32
- FIGURA 3 – Plântulas de *Origanum vulgare* L. com 21 dias após semente na fase de berçário. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.....33
- FIGURA 4 – *Origanum vulgare* L. com 92 dias após semente, cultivado em sistema hidropônico. Instituto de Ciências Agrárias da UFMG/Montes Claros, 2013.....37
- FIGURA 5 – Clorose nas folhas jovens indicando deficiência de ferro em orégano (*Origanum...* submetido ao estresse por alumínio. ICA/UFMG – Campus Montes Claros.....54
- GRÁFICO 1 – Curva de calibração da prolina em etanol, metodologia de Bates (1973). Absorbância em função da concentração de prolina em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .....36
- GRÁFICO 2 – Curva padrão da rutina, para análise de flavonoides totais em *Origanum vulgare* L. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG. Absorbância em função da concentração de rutina,  $\text{mg mL}^{-1}$ .....38

- GRÁFICO 3 – Produção de massa fresca total (MFT), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz (MFR), no cultivo hidropônico de *Origanum vulgare* L. submetido a estresse por Al. (g) = gramas, (dose) = dose de Al em mg L<sup>-1</sup>. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros.....41
- GRÁFICO 4 – Produção de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das folhas (MSF), no cultivo hidropônico de *Origanum vulgare* L., submetido a estresse por Al (g) = gramas, (dose) = dose de Al em mg L<sup>-1</sup>. ICA/ UFMG....37
- GRÁFICO 5 – Teor de prolina livre em função de diferentes doses de Al, em orégano, expresso em  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , (dose) dose de Al em mg L<sup>-1</sup>. Al ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.....44
- GRÁFICO 6 – Teor de flavonoides totais, expressos na forma de rutina equivalente (RE) em mg/g, no orégano, *Origanum vulgare* L. submetido a doses de alumínio (mg/L), em sistema hidropônico de cultivo. ICA-UFMG/Campus Montes Claros.....45
- GRÁFICO 7 – Capacidade de reduzir o DPPH (CRDPPH) do extrato etanólico do orégano, *Origanum vulgare* L submetido a doses de alumínio.....47

- GRÁFICO 8 – Capacidade de consumir o DPPH em 50% (EC50) do extrato etanólico do orégano, *Origanum vulgare* L, submetido a diferentes doses de alumínio. (IC50) = Coeficiente de inibição em  $\mu\text{g m L}^{-1}$ , (dose) = Dose de alumínio em  $\text{mg/L}$  de solução nutritiva.....
- GRÁFICO 9 – Teor acumulado de macronutrientes nas folhas de orégano submetido a estresse por alumínio. Cálcio = (Ca), potássio = (K), nitrogênio (N), (dose) = doses de alumínio em  $\text{mg L}^{-1}$ , ( $\text{mg planta}^{-1}$ ).....51
- GRÁFICO 10 – Teor acumulado de macronutrientes nas folhas de orégano submetido a estresse por alumínio. Fósforo = (P), magnésio = (Mg), enxofre = (S), (dose) = doses de alumínio em  $\text{mg L}^{-1}$ , ( $\text{mg planta}^{-1}$ ).....51
- GRÁFICO 11 – Teor acumulado de micronutrientes nas folhas do orégano, submetido a estresse por alumínio. (dose) = doses de alumínio em  $\text{mg/L}$ , ( $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) = quantidade de nutriente acumulado por planta. Ferro = Fe, manganês = Mn.....53
- GRÁFICO 12 - Teor acumulado de micronutrientes nas folhas do orégano, submetido a estresse por alumínio. (dose) = doses de alumínio em  $\text{mg/L}$ , ( $\mu\text{g/planta}$ ) = quantidade de nutriente acumulado por planta.....53



## LISTA DE TABELAS

- 1 - Constituintes químicos para o preparo de 1000 litros de solução nutritiva, conforme proposta do Instituto Agronômico de Campinas (Furlani 1998), diluídos em 50% e utilizados no cultivo de orégano (*Origanum vulgare* L.), ICA/UFMG, Montes Claros-MG.....35
  
- 2 - Correlação do teor de flavonoides totais na forma de rutina equivalente (RE) e a capacidade de reduzir o DPPH em 50% (EC50) da atividade antioxidante pelo método de DPPH, do orégano submetido a estresse por alumínio.....49

## LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

RE	Rutina Equivalente
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EC <sub>50</sub>	Capacidade do extrato de reduzir o DPPH em 50%
CRDPPH	Capacidade de reduzir o DPPH
CE	Condutividade elétrica
NFT	Nutriente Film Technich
G	Gramma
µL	Microlitro
Mg	Miligrama
µg	Micrograma
L	Litro
Nm	Nanômetro
seg.	Segundos
MFT	massa fresca total
MFPA	massa fresca da parte aérea
MFR	massa fresca da raiz
MSPA	massa seca da parte aérea
MSF	massa seca das folhas
N	nitrogênio
P	Fósforo
K	Potássio
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Fe	Ferro
Al	Alumínio
pH	Potencial hidrogeniônico
Si	Silício
B	Boro
Cu	Cobre

## CAPITULO II – Estresse por Al na produção de Orégano (*Origanum vulgare* L.)

### RESUMO

O orégano é uma planta aromática utilizada ao longo da história humana como objetivo de valorizar e conservar as propriedades dos alimentos, sendo considerado um antioxidante natural. Essa característica está associada às substâncias que são produzidas no seu metabolismo secundário. Sabe-se que tal processo é influenciado por vários fatores de estresses aos quais a planta está submetida. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência do estresse por alumínio na produção do orégano (*Origanum vulgare* L.) em sistema hidropônico. O trabalho foi conduzido no Instituto de Ciências agrárias da UFMG, em Montes Claros –MG, de setembro a dezembro de 2013, em sistema NFT de cultivo, com cinco doses de alumínio na forma de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0; 1,25; 2,5; 3,25; 5 e  $7\text{mg L}^{-1}$  de solução nutritiva) como tratamentos, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e quatro plantas na parcela útil. Ao final de 92 dias após semeadura, foram avaliados o rendimento de biomassa, o teor de prolina livre, o teor de flavonoides totais, a atividade antioxidante (método de DPPH) e o acúmulo de nutrientes nas folhas. O estresse por alumínio causou redução na produção de biomassa do orégano, chegando a reduzir em até 50% o desenvolvimento da planta. Houve efeito de regressão no teor de prolina livre do orégano em função das doses de alumínio, variando entre  $0,48 \mu\text{mol g}^{-1}$  (dose 0) e  $0,62 \mu\text{mol g}^{-1}$  (dose  $7\text{mg L}^{-1}$ ). Foi ajustada uma equação de regressão quadrática para o teor de flavonoides totais (RE), havendo um efeito negativo do estresse com a produção desse metabólito. O valores de RE variaram entre 9,32 e 6,92  $\text{mg g}^{-1}$  de material seco. A atividade antioxidante também foi influenciada pelo estresse por alumínio. Ajustou-se uma equação quadrática para a capacidade de reduzir o DPPH (CRDPPH); os valores variaram entre 68,81% e 80,62%, com maior atividade na dose próxima a  $3,5 \text{mg L}^{-1}$  de alumínio. Os valores referentes à capacidade do extrato de reduzir o DPPH em 50% ( $\text{EC}_{50}$ ) também tiveram uma equação

quadrática ajustada, ocorrendo uma variação entre 127,14  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 83,62  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O estresse por alumínio causou redução do  $\text{EC}_{50}$ , observando-se uma correlação negativa entre RE e a CRDPPH e positiva entre o RE e  $\text{EC}_{50}$ . Destaca-se ainda, que o estresse por alumínio provocou também a diminuição no teor acumulado de todos os nutrientes avaliados. Nesse sentido, conclui-se que o estresse por alumínio ocasionou redução na biomassa do órgão e interferiu na produção de alguns metabólitos secundários e no acúmulo de nutrientes.

**Palavras-chave:** Metal tóxico, plantas condimentares, antioxidante, metabolismo secundário, flavonoides.

## CHAPTER II - Stress per Al in the production of Oregano (*Origanum vulgare L.*)

### ABSTRACT

Oregano is an aromatic plant used throughout human history in order to value and conserve the properties of food, being considered a natural antioxidant. Such characteristic is associated with the substances that are produced in its secondary metabolism. It is known that this process is influenced by various stress factors to which the plant is subjected. In this context, the aim of this study was to evaluate the influence of stress per aluminum in the production of oregano (*Origanum vulgare L.*) in hydroponic system. The work was conducted at the Agricultural Sciences Institute of UFMG, Montes Claros - MG, from September to December 2013 in NFT cultivation system with five aluminum doses in the form of  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0, 1.25, 2.5; 3.25; 5 and 7  $\text{mg L}^{-1}$  of nutrient solution), as treatments, in a completely randomized design with four replications and four plants in the useful portion. At the end of 92 days after sowing they were evaluated the yield of biomass, the free proline content, the content of total flavonoids, antioxidant activity (DPPH method) and the accumulation of nutrients in the leaves. The stress per aluminum caused reduction in biomass production of oregano, reaching reduce up to 50% plant development. There was effect of regression on free proline of the oregano content in function of aluminum doses varying from  $0.48 \mu\text{mol g}^{-1}$  (dose 0) and  $0.62 \mu\text{mol g}^{-1}$  (dose 7  $\text{mg L}^{-1}$ ). It was adjusted a quadratic regression equation for the total flavonoid content (RE), having a negative effect of stress with the production of that metabolite. The RE values varied between 9.32 and 6.92  $\text{mg g}^{-1}$  dry material. The antioxidant activity was also influenced by stress per aluminum. It was adjusted a quadratic equation for the ability to reduce DPPH (CRDPPH); values varied from 68.81% to 80.62%, with greater activity on the next dose to 3.5  $\text{mg L}^{-1}$  of aluminum. The values referents to the ability of the extract to reduce DPPH in 50% ( $\text{EC}_{50}$ ) also had a quadratic equation adjusted, occurring a variation between  $127.14 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $83.62 \mu\text{g L}^{-1}$ . The stress per

aluminum caused reduction of  $EC_{50}$ , noting a negative correlation between RE and CRDPPH and positive between RE and  $EC_{50}$ . It stands out even that the stress per aluminum also caused the decrease in the accumulated content of all assessed nutrients. In that sense, it is concluded that the stress per aluminum caused a reduction in the biomass of oregano and interfered in the production of some secondary metabolites and in nutrient accumulation.

**Keywords:** Toxic Metal, condimental plants, antioxidant, secondary metabolism, flavonoids.

## SUMÁRIO

<b>CAPITULO I REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
2.1 O <i>Origanum vulgare</i> L.....	15
2.2 Potencial do orégano.....	16
2.3 Metabolismo secundário das plantas e seus fatores .....	17
2.4 Atividade antioxidante .....	19
2.5 Toxidez e estresse por Al nas plantas e seus fatores .....	20
2.6 Estresse por Al no cultivo de plantas medicinais e aromáticas .....	21
2.7 O ajustamento osmótico e a prolina .....	22
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 Objetivo geral .....	23
3.2 Objetivos específicos .....	23
<b>CAPITULO II – Estresse por Al na produção de Orégano (<i>Origanum vulgare</i> L.) .....</b>	<b>24</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>24</b>
<b>4 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>4.1 Material e métodos.....</b>	<b>29</b>
4.1.1 Condução do experimento na casa de vegetação.....	29
4.1.2 Fase de semeadura .....	30
4.1.3 Fase de berçário .....	31
4.1.4 Fase definitiva de produção e aplicação dos tratamentos .....	33
4.1.5 Solução nutritiva .....	34
4.1.6 Teor de Prolina Livre.....	35
4.1.7 Colheita do Material Vegetal .....	36
<b>4.2 Análise de flavonoides totais e atividade antioxidante .....</b>	<b>37</b>

4.2.1	Preparo de amostras.....	37
4.2.2	Preparo da curva padrão de rutina para análise de flavonoides	38
4.2.3	Reação do extrato + AlCl <sub>3</sub> e interpretação dos dados.....	38
4.2.4	Avaliação da atividade antioxidante (DPPH).....	39
4.2.5	Acúmulo de nutrientes minerais .....	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
5.1	Produção de biomassa.....	41
5.2	Teor de Prolina Livre.....	43
5.3	Análise de flavonoides totais .....	45
5.4	Análise da atividade antioxidante .....	47
5.5	Acúmulo de nutrientes nas folhas .....	50
6	CONCLUSÕES .....	55
	REFERÊNCIAS.....	56



## CAPITULO I REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 INTRODUÇÃO

A família Lamiaceae possui um grande número de espécies aromáticas largamente utilizadas na culinária como especiarias, com o intuito de que as propriedades organolépticas dos alimentos sejam valorizadas (BOZIN *et al.*, 2006). Além disso, essas espécies apresentam atividades farmacológicas importantes (SOUZA; LORENZI, 2012).

De acordo com Ribeiro e Diniz (2008), o orégano (*Origanum vulgare* L.), um dos representantes mais conhecidos deste grupo, é uma planta aclimatada na América do Norte e nas regiões áridas da América do sul (Chile e Argentina), sendo cultivada extensamente para fins culinários, principalmente devido ao seu alto teor de óleo essencial.

Essa planta também é rica em muitos metabólitos, como os flavonoides e, em razão da sua composição, é considerada um importante antioxidante natural na conservação de alimentos. (BENCHIKHA *et al.*, 2013).

Vários fatores são citados como influenciadores deste metabolismo, conhecido como secundário, nas plantas, tais como sazonalidade, temperatura, disponibilidade de água, horário de coleta, ataque de patógenos, estresse nutricional e estresse por metais tóxicos no solo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; COSTA, *et al.*, 2007; MOSSI, *et al.*, 2011).

Dando destaque ao estresse por metais, o alumínio é o metal mais abundante na crosta terrestre, geralmente está presente em solos ácidos além de ser tóxico para as plantas. O estresse por esse metal é destacado como um dos fatores que influenciam o metabolismo secundário de várias plantas, podendo interferir tanto no teor e composição química do óleo essencial, quanto na produção de flavonoides (MOSSI *et al.*, 2011).

Por outro lado, a resposta da planta diante da exposição a níveis críticos desse metal pode variar muito conforme a tolerância e particularidades da espécie (EPSTEIN; JUNIOR BLOOM, 2006).

Nesse sentido, o sistema de cultivo utilizado pode influenciar diretamente na resposta da planta. Sob essa perspectiva, o sistema

hidropônico de produção se apresenta como uma boa alternativa para o cultivo de plantas medicinais e aromáticas, por possibilitar o controle de fatores abióticos que, em sistemas tradicionais, não seriam controlados de forma eficiente (MARTINEZ; CLEMENTE, 2011).

Embora exista um corrente interesse da comunidade científica por essas especiarias (Hossain *et al.*, 2010), são escassos os estudos voltados para a influência do estresse por alumínio no metabolismo secundário do orégano.

Diante do exposto, objetivou-se com este estudo avaliar a influência do estresse por alumínio no orégano cultivado em sistema hidropônico.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O *Origanum vulgare* L.

A família Lamiaceae possui grande quantidade de espécies medicinais e aromáticas e abrange cerca de 300 gêneros e 7500 espécies. Tais espécies podem ser encontradas em muitas regiões, mas com particular ocorrência na região Mediterrânea, em uma área cultivada de aproximadamente 500 mil hectares em todo o globo (SOUZA; LORENZI, 2005).

O orégano (*Origanum vulgare* L.), um dos representantes mais conhecidos da família Lamiaceae, é uma planta nativa da região mediterrânea da Europa, Norte da África e Oriente Médio. Aclimatada na América do Norte e nas regiões áridas da América do sul (Chile e Argentina), sendo cultivada extensamente para fins culinários (RIBEIRO E DINIZ, 2008). É uma planta herbácea, perene, ereta, aromática, de hastes algumas vezes arroxeadas, de 30 – 50 cm de altura. Possui folhas simples, esparso-pubescentes, de 1 – 2 cm de comprimento, com flores dispostas em glomérulo e reunidas em inflorescências paniculadas terminais (LORENZI; MATOS, 2002).

O orégano é uma importante planta aromática utilizada em muitos países para aromatizar alimentos, sendo os principais países envolvidos na produção e exportação: México, Grécia, Israel, Albânia, Marrocos e Turquia (QUIROGA *et al.*, 2013).

Na Argentina o *O. vulgare* é a erva aromática cultivada mais importante, não só pela área plantada (cerca de 80%), mas também pela demanda de uso e de mercado por parte da população (DAMBOLENA *et al.*, 2010).

## 2.2 Potencial do orégano

Na literatura têm sido observados vários estudos abordando o potencial de utilidades do orégano, principalmente para a indústria. Essa erva possui um rendimento de óleo essencial de aproximadamente 0,15% na planta seca, e os principais compostos majoritários encontrados são c-terpineno (32,10%), o a-terpineno (15,10%), p-cimeno (8,00%) e timol (8,00%) (QUIROGA *et al.*, 2015).

Devido ao seu alto teor de óleo essencial, o orégano é utilizado como condimento na preparação de alimentos. Como planta medicinal, esta erva é utilizada para tratar dores de estômago e também como diurético (CINTRA e MANCINI FILHO, 2001; BERNAL GÓMEZ, 2003). Esta planta possui ainda ação diurética, digestiva, orexígena, analgésica, anti-inflamatória e antisséptica (bactericida, antifúngico, antiviral). É aplicada também no tratamento de doenças respiratórias diversas, tais como rinites, traqueítes, traqueobronquites, e como antitussígeno. Além disso, estudos apontam o orégano como sendo uma planta de alta atividade antioxidante (SOUZA, 2005; RIBEIRO; DINIZ, 2008).

Entre as várias plantas medicinais e aromáticas estudadas, o orégano e seus produtos derivados, tais como extratos de diferentes naturezas, óleo essencial e seus constituintes químicos, têm mostrado eficiência no combate ao crescimento e sobrevivência de bactérias e fungos contaminantes de alimentos, bem como inibindo a produção de toxinas microbianas (SOUZA *et al.*, 2005). Ressalta-se ainda, que orégano é considerado uma especiaria cujo sabor é de alta aceitação pelos consumidores de todo o mundo (Yanishlieva *et al.*, 2006). Em virtude de suas propriedades, essa planta se destaca como uma importante fonte de compostos antimicrobianos viáveis na utilização em sistemas de conservação de alimentos (SOUZA *et al.*, 2005).

Em outros estudos, relacionados à nutrição animal, foram observados que através da implementação do pó de orégano na ração de patos, obtém-se uma carne de melhor qualidade cujas propriedades são mantidas por mais tempo (PARK *et al.*, 2015).

Fasseas *et al.* (2007), avaliaram o efeito do óleo essencial do *Origanum vulgare* L. e de *Salvia divinorum* no armazenamento de carne bovina. Nesse estudo, foi percebida uma redução significativa na oxidação do alimento no período avaliado, garantindo-se uma melhor conservação do produto.

A forma de utilização da planta na indústria pode ser muito ampla, Benchikha *et al.* (2013) compararam a atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas do orégano com o óleo essencial pelo método de DPPH e um padrão comercial BHA. Houve diferença significativa entre os tratamentos, e foi percebida maior eficiência do extrato etanólico ( $EC_{50}$  de 15,3  $\mu\text{g/mL}$ ) em relação ao óleo ( $EC_{50}$  de 150,3  $\mu\text{g/mL}$ ) e ao BHA ( $IC_{50}$  de 28,27  $\mu\text{g/mL}$ ).

Alguns ensaios agronômicos têm sido realizados com o intuito de potencializar as características medicinais dessa planta. Bernardi Filho (2007) testou a influência de lâminas de irrigação no cultivo de orégano. Nesse teste foi observado efeito significativo dos tratamentos, sendo que a lâmina de 100% da Evaporação do Tanque Classe (ECA)  $\text{Amm dia}^{-1}$  apresentou melhores resultados para massa fresca e para o teor e o rendimento do óleo essencial.

### **2.3 Metabolismo secundário das plantas e seus fatores**

Os compostos originários da biossíntese vegetal podem ser divididos em primários (lipídios, glicídios, peptídeos entre outros) e secundários (alcaloides, flavonoides, terpenos e outros) (SIMÕES, 2010).

Os terpenos, também chamados de terpenoides, são formados por unidades de isopreno, incluindo-se nesse grupo os óleos essenciais e os glicosídeos cardioativos. Representam a classe mais diversificada de produtos naturais encontrados em plantas, com milhares de estruturas relatadas e grande número de aplicações farmacêuticas e industriais (LANGE; AHKAMI, 2013).

De acordo com Probst (2012), as misturas complexas de terpenos e alguns outros compostos voláteis, sintetizados pelas plantas aromáticas, são

conhecidos como óleos essenciais (OEs). Nos últimos anos, o estudo desses OEs resultou na descoberta de muitas substâncias e na elucidação da diversidade que envolve esses produtos naturais (BAKKALI *et al.*, 2008).

Os componentes dos óleos essenciais podem apresentar concentrações variadas, mas, de maneira geral, dois ou três desses componentes são considerados como majoritários; sendo utilizados na indústria de alimentos, farmacêutica e até mesmo agrícola, uma vez que não apresentam riscos genotóxicos ao longo do tempo (BAKKALI *et al.*, 2008).

Entre os mais conhecidos compostos fenólicos destacam-se os flavonoides que, na planta, estão relacionados com a pigmentação de flores, frutas e folhas, principalmente pela ação das antocianinas, e ao crescimento e desenvolvimento das plantas, protegendo-as contra possíveis infecções e lesões (GHARRAS, 2009). Sabe-se que os flavonoides possuem diversas propriedades e representam uma classe química muito importante de metabólitos secundários, são amplamente distribuídos no reino vegetal e possuem estrutura diversificada (TAYLOR; GROTEWOLD, 2005).

Os flavonoides também estão envolvidos em mecanismos de resistência de várias espécies vegetais contra alumínio no solo, por meio da formação de um complexo estável, para diminuir o efeito tóxico do metal (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 2002). A eficácia da ação antioxidante de algumas espécies depende de sua concentração no vegetal (MELO *et al.*, 2006).

Dessa forma, a quantificação de flavonoides totais é uma importante característica que pode ser avaliada em espécies vegetais. Tal avaliação pode ser feita por meio da espectrofotometria na região do UV/Visível, de maneira que esses compostos sejam expressos na forma de rutina equivalente (RE mg/g de extrato), através de uma reação de complexação, utilizando-se um padrão comercial com estrutura química comum a todos os flavonóides como a rutina (BENCHIKHA *et al.*, 2013).

Cada vez mais, tem sido comum a realização de ensaios com o intuito de entender melhor a resposta da planta aos estímulos ambientais na produção dos seus metabólitos. O excesso ou a deficiência de algum fator de produção para a planta é caracterizado como situação de estresse,

estimulando o vegetal a produzir esses compostos responsáveis pelo seu efeito medicinal (MARTINS *et al.*, 2000).

## 2.4 Atividade antioxidante

Um antioxidante pode ser definido como qualquer substância que, quando em pequenas quantidades, seja capaz de retardar ou inibir processos oxidativos tais como a lipoperoxidação (ATOUI *et al.*, 2005; CHUN *et al.*, 2005). O estresse oxidativo e os danos causados às biomoléculas vêm sendo largamente associados às diversas doenças, tais como câncer, doenças cardiovasculares, aterosclerose, acidente vascular cerebral, hipertensão arterial, inflamação, diabetes mellitus, obesidade, desordens neurológicas e as doenças de Alzheimer e Parkinson (VALKO *et al.*, 2007).

O teste de DPPH consiste na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por compostos antioxidantes, produzindo um decréscimo na leitura de sua absorbância (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Essa técnica é muito utilizada em amostras de material vegetal com o intuito de analisar o efeito da eliminação de radicais livres. Como radical livre, o DPPH tem uma banda de absorção na região do visível a 517 nm, perdendo essa propriedade quando protonado por um composto antioxidante.

Os organismos aeróbios desenvolveram diversas formas de defesas antioxidantes numa tentativa de minimizar os danos oxidativos (CALLONI, 2014). Quando esses mecanismos de proteção antioxidante se tornam ineficientes por fatores como a idade, a deterioração das funções fisiológicas pode ocorrer resultando em doenças e aceleração do envelhecimento (MORAIS *et al.*, 2006).

Estudos apontam que uma alimentação rica em compostos antioxidantes reduz o risco de inúmeras doenças. Vale ressaltar, todavia, que a medição de um composto antioxidante pode não explicar completamente as propriedades antioxidantes de um extrato vegetal utilizado como alimento. Outros compostos, não necessariamente envolvidos naquela ação antioxidante, também devem ser considerados (SCALZO, 2008).

Na literatura são citados vários ensaios em que se utiliza o teste de DPPH para várias espécies vegetais, incluindo-se nesse grupo *O.vulgare*. Teixeira *et al.*(2013). Vale frisar que o extrato etanólico de orégano possui uma atividade antioxidante 20 vezes superior ao óleo essencial da planta. Benchikha *et al.*(2013) também afirmam que o orégano possui uma atividade antioxidante muito superior a alguns produtos sintéticos com o BHA(2,3-terc-butil-4-hidroxianisol). Esses autores também recomendam a utilização de extrato etanólico na realização de ensaios desta natureza para a espécie.

## **2.5 Toxidez e estresse por Al nas plantas e seus fatores**

Geralmente, o excesso ou a deficiência de algum fator de produção para a planta é caracterizado como situação de estresse, podendo estimular o vegetal no seu metabolismo secundário (MARTINS *et al.*, 2000).

Nos solos brasileiros ocorre intenso processo de intemperismo o qual favorece a remoção dos nutrientes catiônicos que, associados à presença de alumínio ou manganês, tornam os solos ácidos (ALVES, 2012). Essa realidade não é diferente em Minas Gerais, onde a maioria dos solos, notadamente os da região de vegetação de Cerrado, mesmo dotados de boas propriedades físicas, apresentam, geralmente, características químicas inadequadas, tais como: elevada acidez, altos teores de Al trocável e deficiência de nutrientes, especialmente de Ca, Mg e de P (ALVAREZ; RIBEIRO, 1999).

O alumínio é o metal mais abundante na crosta terrestre.Sua forma trivalente ( $Al^{3+}$ ) inibe o crescimento radicular (EPSTEIN; JUNIOR BLOOM, 2006). Sua toxidade é considerada como o principal fator limitante ao crescimento das plantas em solos fortemente ácidos com pH menor que 5,0 (KIDD *et al.*, 2001).

Entretanto, os efeitos da acidez, causadores de limitações na produção de muitas culturas, podem ser minimizados por meio de um bom manejo. Nesse sentido, a calagem figura como a melhor alternativa de manejo para a correção da acidez, uma vez que além de anular os efeitos tóxicos causados



pela presença do alumínio e manganês, fornece cálcio e magnésio ao solo (SOUSA *et al.*, 2007).

Em cultivos tradicionais a calagem tem se mostrado muito eficiente, mas no cultivo de plantas medicinais esse processo deve ser feito com cautela e embasamento científico, já que algumas plantas dependem dessa situação de estresse no solo para o seu melhor desenvolvimento e para o seu metabolismo secundário (COSTA *et al.*, 2007).

A base fisiológica do dano causado pelo alumínio na planta não é muito bem elucidada. Sabe-se que esse metal se liga fortemente a doadores de oxigênio, incluindo-se os grupos das carboxilas, fosfatos e sulfatos, bem como a componentes celulares tais como proteínas e nucleotídeos (EPSTEIN; JUNIOR BLOOM, 2006).

## **2.6 Estresse por Al no cultivo de plantas medicinais e aromáticas**

Levando-se em consideração os fatores de estresse que influenciam no metabolismo secundário das plantas, a exposição de plantas medicinais e aromáticas ao alumínio em ambientes controlados pode ser vista como uma ferramenta produtiva no sistema utilizado (MOSSI *et al.*, 2011). Nessa perspectiva, Barcelos e Poschenrieder (2002) destacam que os flavonoides estão envolvidos em mecanismos de resistência de várias espécies vegetais contra alumínio no solo, por meio da formação de um complexo estável, diminuindo o efeito tóxico do metal.

A resposta da planta diante da exposição a níveis críticos desse metal pode variar muito conforme a tolerância e particularidades da espécie. Souza *et al.* (2010), avaliando o efeito da calagem e da adubação orgânica na produção de *Lippia citriodora*, observaram que a correção do solo, além da aplicação de esterco de curral, se mostrou eficiente para o desenvolvimento da espécie. Por outro lado, isso não refletiu em maior teor de óleo essencial da planta. Corroborando essa análise, Mossi *et al.* (2011), num estudo mais detalhado, avaliaram populações de *Cunilagalioides* Benth em sistema hidropônico sob estresse de Al (na forma de  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ). Através daquele estudo, percebeu-se que o teor de flavonoides aumentou significativamente

nas populações tolerantes ao alumínio, mas não influenciou no rendimento de extração de óleo essencial nem no teor dos compostos majoritários.

Pavan e Bingham (1982) consideram o  $Al^{3+}$  a forma mais tóxica do alumínio. Para que essa forma seja alcançada, tais autores recomendam que os experimentos, avaliando-se o efeito desse metal, devem ser mantidos a um pH de  $4 \pm 0,2$  na solução nutritiva, pois essa é a melhor faixa para que esta forma tóxica seja atingida

## **2.7 O ajustamento osmótico e a prolina**

Quando estão sob estresses ambientais, os vegetais se utilizam de vários mecanismos complexos que contribuem para tolerar tais condições. Como exemplo tem-se o ajustamento osmótico, que é caracterizado por um acúmulo intracelular de solutos osmoticamente ativos, sendo considerado um dos mecanismos mais eficientes para a tolerância ao estresse hídrico (VIEIRA JUNIOR *et al.*, 2007).

Entre os solutos compatíveis ou osmoprotetores presentes nesse processo, destacam-se a glicina betaína, o manitol, o pinitol e a prolina. Esses compostos, mesmo em concentrações elevadas na planta, não causam efeito tóxico (BRAY *et al.*, 2000). A prolina é um dos 20 aminoácidos presentes nas proteínas de todos os organismos vivos e tem sido relatada como um importante osmoprotetor em muitas plantas (MOLINARI, 2007).

Foi observado que o acúmulo de prolina não está associado somente às plantas que se desenvolvem sob condições de estresse hídrico, mas também pode ser verificado em plantas sob condições de estresse por alumínio (VALDES *et al.*, 2012). Nesse sentido, Zaifnejad *et al.* (1997) sugerem que os mecanismos fisiológicos envolvidos no estresse hídrico e por alumínio devem ser similares. Dessa forma, quantificar esse composto no vegetal submetido a estresse por alumínio torna-se uma ferramenta útil para que um pouco dos mecanismos de tolerância envolvidos sejam conhecidos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a influência do estresse por alumínio na produção, na atividade antioxidante, no acúmulo de nutrientes, no teor de flavonoides e de prolina livre em orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivado em sistema hidropônico.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Analisar a influência do estresse por Al na produção de biomassa;
- Determinar a influência do estresse por alumínio na concentração de flavonoides na atividade antioxidante;
- Determinar teor de prolina nas folhas de orégano em condições de estresse por Al;
- Analisar a influência do estresse por Al no acúmulo de macronutrientes e micronutrientes nas folhas de orégano.

## 4 INTRODUÇÃO

O constante interesse na substituição de antioxidantes sintéticos por naturais em alimentos tem resultado em um grande número de estudos sobre caracterização de matérias-primas e identificação de novos compostos antioxidantes de fontes vegetais (DEL RE; JORGE, 2012). Muitos estudos têm sido realizados com a finalidade de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, com destaques para as plantas condimentares (Hossain *et al.*, 2010).

As propriedades desses condimentos são associadas à presença de alguns compostos como: carvacrol, flavonoides e terpenos, tais como apigenina, di-hidrocampferol e di-hidroquercetina (Arcila-Lozano *et al.*, 2004). Esses compostos são produzidos pelo metabolismo secundário ou especial, que é caracterizado por não estar diretamente envolvido nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução na planta. Contudo, os produtos desses compostos proporcionam às plantas algumas vantagens evolutivas como controle de patógenos, radicais livres etc. E, por outro lado, possuem ação terapêutica nos seres humanos (SIMÕES *et al.*, 2004).

Mesmo sendo utilizadas há muito tempo, os mecanismos envolvidos na produção desses metabólitos em plantas aromáticas e medicinais ainda são pouco conhecidos e suas características podem ser de extrema importância para que plantas mais produtivas e com maior resistência sejam obtidas (FIGUEIREDO; MIGUEL, 2010).

O alumínio é o metal mais abundante na crosta terrestre, geralmente está presente em solos ácidos, sendo tóxico para as plantas. O estresse por esse metal é caracterizado por influenciar o metabolismo secundário em várias espécies vegetais. Esse metal pode, ainda, influenciar tanto no teor e composição química do óleo essencial, quanto na produção de flavonoides (MOSSI *et al.*, 2011). É importante pontuar, porém, que a resposta da planta diante da exposição a níveis críticos do alumínio pode variar muito conforme a tolerância e particularidades da espécie.

A família Lamiaceae possui um vasto número de espécies aromáticas conhecidas por suas aplicações farmacológicas (SOUZA; LORENZI, 2012) e

também pelo uso culinário. Como especiarias, estas espécies possuem a capacidade de valorizar as propriedades organolépticas dos alimentos (BOZIN *et al.*, 2006).

O orégano (*Origanum vulgare* L.), um dos representantes mais conhecidos desse grupo, é uma planta aclimatada na América do Norte e nas regiões áridas da América do sul (Chile e Argentina). É cultivada extensamente para fins culinários, principalmente, devido ao teor e composição do óleo essencial (RIBEIRO; DINIZ, 2008).

Essa planta é rica em muitos outros metabólitos, como os flavonoides e, devido a essa composição complexa, é considerada um antioxidante natural, sendo muito utilizada na conservação de alimentos. (BENCHIKHA *et al.*, 2013). Essa especiaria possui sabor altamente apreciado pelos consumidores ao redor do mundo, recebendo destaque pelas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Yanishlieva *et al.*, 2006).

Embora exista um corrente interesse da comunidade científica por essas especiarias (Hossain *et al.*, 2010), são escassos os estudos voltados para a influência do estresse por alumínio no metabolismo secundário do orégano.

Diante do exposto, objetivou-se com esse estudo avaliar a influência do estresse por alumínio no cultivo do orégano em sistema hidropônico, avaliando-se o rendimento de biomassa, teor de flavonoides totais, atividade antioxidante, teor de prolina livre e acúmulo de nutrientes nas folhas.

## **4.1 Material e métodos**

### **4.1.1 Condução do experimento na casa de vegetação**

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), em Montes Claros - MG, entre os meses de setembro e dezembro de 2013. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw tropical quente úmido, com duas estações bem definidas, um verão quente e chuvoso e um inverno frio e seco.

Os tratamentos consistiram em cinco doses de alumínio, sendo 0 (testemunha), 1,75; 3,5; 5,25 e 7,0mg de Al por litro (aplicado na forma de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) em solução nutritiva, com quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado, com quatro plantas por unidade experimental.

O sistema hidropônico adotado foi o NFT ("*Nutrient Film Technic*") ou Fluxo Laminar de Nutrientes, sendo que a solução nutritiva utilizada foi a proposta por Furlani (1998), diluída a 50%, na fase final de produção, conforme recomendação de Santos (2005).

A condução do estudo foi dividida em três fases: semeadura, berçário e leito definitivo de produção (aplicação dos tratamentos).

#### **4.1.2 Fase de semeadura**

As sementes utilizadas de *Origanum vulgare* L. foram da marca Topseed Garden®. A semeadura foi realizada no dia 01/09/2013 em espuma fenólica com células de 2x2x2cm. Inicialmente a espuma foi lavada em água corrente, com o objetivo de retirar os compostos remanescentes oriundos do processo de fabricação do material que o acidificam. Posteriormente, foram feitos pequenos furos de 0,2 cm de profundidade onde foram colocadas três sementes por célula e cobertos com vermiculita. A espuma foi mantida em bandeja plástica, onde foi umedecida com solução nutritiva diluída em 25%, três vezes ao dia, até o início do processo de germinação, que ocorreu por cerca de sete dias.

Quando as plântulas formaram o segundo par de folhas (Figura 1), por volta de duas semanas, foram transplantadas para os perfis menores de 50 mm, passando para a segunda fase, o berçário.

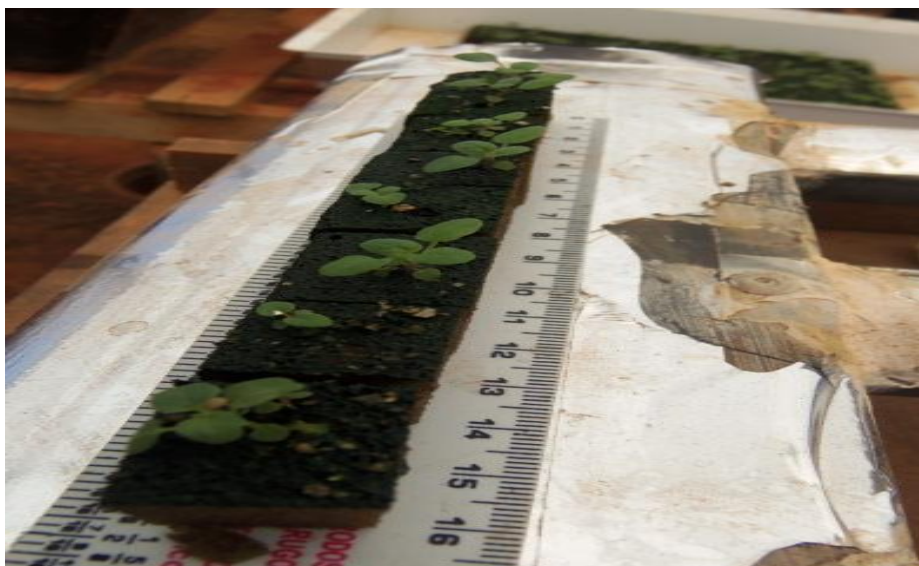


FIGURA 1– Plântulas de *Origanum vulgare* L. com duas semanas após a semeadura em espuma fenólica. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros.  
Fonte: do autor.

#### 4.1.3 Fase de berçário

Esta etapa teve como objetivo possibilitar o desenvolvimento inicial das plantas. A estrutura do berçário foi composta por oito perfis de 50 mm por 2 m de comprimento e com espaçamento de 10cm entre canais e 10 cm entre orifícios, abastecido por um reservatório de 60L (Figura 2).

Nesta fase as plantas foram irrigadas com solução nutritiva a25%, por meio de uma minibomba de aquário (vazão de  $0,15 \text{ L s}^{-1}$ ), até serem transplantadas para o perfil. O acionamento do equipamento foi controlado por um temporizador analógico, sendo programado para intervalos de 15 minutos, no período das 6:00 às 20:00h. No intervalo de 20:00 às 6:00h o acionamento era feito a cada 45 minutos, permanecendo 15 min. ligada.



FIGURA 2 - Estrutura de berçário utilizada na produção de *Origanum vulgare* L. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.  
Fonte: Do autor.

Após 21 dias no berçário, quando as plantas apresentaram quatro pares de folhas definitivas (Figura 3) e sistema radicular aparente, foram transplantadas para o leito definitivo de produção, com os devidos tratamentos, iniciando-se a terceira fase.





FIGURA 3 - Plântulas de *Origanum vulgare* L. com 21 dias após sementeira na fase de berçário. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.  
Fonte: do autor.

#### 4.1.4 Fase definitiva de produção e aplicação dos tratamentos

Nesta fase, a estrutura era composta por duas bancadas de três metros de comprimento por 1,5 m de largura, com seis perfis de 100 mm em cada bancada e com espaçamento de 18 cm entre canais e 25 cm entre os furos e inclinação de 2%. Cada dois perfis eram abastecidos por um reservatório plástico de 30 litros independente, conectado a uma bomba de pequena potência (32 Watts, com vazão de  $0,35 \text{ l s}^{-1}$ ). A programação do temporizador foi a mesma utilizada na fase anterior.

Após o sistema montado, foi feito o transplântio das mudas, considerando-se como unidades experimentais quatro plantas, totalizando 16 plantas por tratamento (Figura 6).

#### 4.1.5 Solução nutritiva

Nas fases iniciais do desenvolvimento da planta (semeadura e berçário), foi utilizada a solução Furlani (1998) diluída em 25%. Nessa etapa o pH foi mantido entre 6 e 6,5 e a condutividade elétrica (CE) entre 0,8 e 1,2  $\mu\text{S cm}^{-1}$ .

Na etapa final de desenvolvimento da planta, a solução foi mais concentrada (50%), entretanto, com a concentração de fósforo (P) reduzida ( $1,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a fim de evitar a precipitação do alumínio (Al) na forma de fosfato de alumínio ( $\text{AlPO}_4$ ) (MARTINEZ; CLEMENTE, 2011).

No que se refere à preparação dos tratamentos, inicialmente foi feita a solução nutritiva, em reservatório com 300 L de capacidade, com quantidade suficiente para os cinco reservatórios de 30L. Posteriormente, o pH da solução foi ajustado para  $4\pm 0,2$ , utilizando-se ácido clorídrico ( $\text{HCl } 11 \text{ mol L}^{-1}$ ) e hidróxido de sódio ( $\text{NaOH } 1 \text{ mol L}^{-1}$ ) (MARTINEZ; CLEMENTE, 2011). Cumpre mencionar que durante todo o experimento foi utilizada água desionizada. Ulteriormente, foi feita a distribuição da solução nutritiva para cada reservatório e feita a diluição do cloreto de alumínio hexahidratado ( $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) nos devidos tratamentos. Ao longo de todo o experimento, diariamente, os reservatórios eram completados com água até o nível inicial e feitas as medições de CE, pH, e temperatura (T) da solução nutritiva, por meio de medições diretas com condutivímetro (modelo HI-98127- HANNA instruments) e medidor de pH (modelo HI-98311- HANNA instruments) portáteis. Posteriormente, eram feitas as correções desses fatores quando necessário. Para o ajuste da CE, foi utilizada uma solução de reposição, também proposta por Furlani (1998), sendo feita a reposição de nutrientes proporcional à diminuição da CE.

A cada quinze dias, toda a solução do sistema era renovada, sendo preparada uma nova solução nutritiva e feita uma nova aplicação dos tratamentos, sempre iniciando o processo pelo tratamento menos concentrado para o mais concentrado, para evitar contaminações.

TABELA 1

Constituintes químicos para o preparo de 1000 litros de solução nutritiva, conforme proposta do Instituto Agronômico de Campinas (Furlani 1998), diluídos em 50% e utilizados no cultivo de orégano (*Origanum vulgare L.*), ICA/UFMG, Montes Claros-MG.

Nº	Sal ou fertilizante	G1000 L <sup>-1</sup>	Nutriente Fornecido
1	Nitrato de cálcio especial	375	N e Ca
2	Nitrato de potássio	250	N e K
3	Fosfato monoamônio (MAP)	5,76	N e P
4	Sulfato de magnésio	200	S e Mg
5	Sulfato de cobre	0,075	S e Cu
6	Sulfato de zinco	0,25	Zn
7	Sulfato de manganês	0,75	Mn
8	Ácido bórico	0,75	B
9	Molibdato de sódio (Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O)	0,075	Mo
10	Rexolin M48 (EDDHMA)	7,965	Fe

Fonte: Adaptado de Furlani *et al.* (1998).

#### 4.1.6 Teor de Prolina Livre

Para a análise do teor de prolina livre foi utilizada a metodologia de Bates (1973). Foram coletadas (0,5g) de folhas frescas em cada parcela, as quais foram maceradas em nitrogênio líquido. Seguidamente, o material foi homogeneizado em uma solução (10 mL) de ácido sulfosalicílico(3%) e filtrado em papel de filtro quantitativo. Uma alíquota (2 mL) foi retirada e acrescentados 2 mL de ninhidrina e ácido acético glacial (2 mL), em tubos de ensaio, levado ao banho maria por 1 hora, à temperatura de 100 °C. Após esse período, foi feito um banho de gelo e então adicionados tolueno (4 mL),

seguido de agitação por 20 seg. Subsequentemente, foi feita a leitura de absorbância a 520 nm em espectrofotômetro na região do UV/Visível, utilizando o tolueno como branco.

A curva de calibração da prolina foi feita por meio de leituras em triplicatas (Gráfico 1).

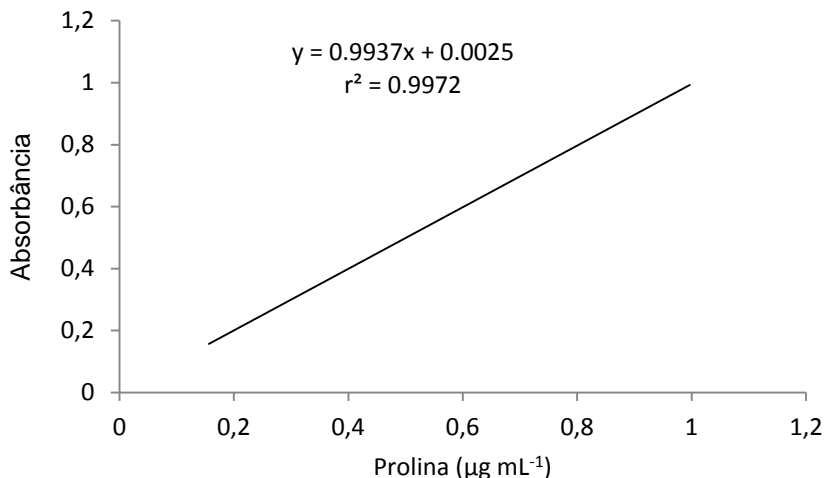


GRÁFICO 1 - Curva de calibração da prolina em etanol, metodologia de Bates (1973). Absorbância em função da concentração de prolina em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Fonte: Do autor.

A faixa de concentração de prolina foi ajustada para atender aos limites de absorbância, conforme a *Lei de Lambert-Beer* (0,2 a 0,8 de absorbância). Os teores de prolina livre foram calculados com base na massa fresca das folhas de acordo com a equação:

$$\mu\text{mol de prolina g}^{-1}\text{de massa fresca} = \frac{\frac{\mu\text{g prolina}}{\text{mL}} \times \text{mL tolueno}}{\frac{115,5 \mu\text{g } \mu\text{mol}^{-1}}{\text{g de amostra}}}$$

5

#### 4.1.7 Colheita do Material Vegetal

No que tange à colheita das plantas, essa foi feita aos 92 dias após a semeadura (figura 4). O procedimento ocorreu no período da manhã e, logo após, por meio de uma balança semianalítica, foi determinada a massa

fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca das folhas (MFF), massa fresca do caule (MFC) e massa fresca total (MFT). O material foi acondicionado em sacos de papel e levado para secar em estufa a 45°, até atingir peso constante. Após a secagem, foram determinadas as características: massa seca total (MST), massa seca do caule (MSC), massa seca das folhas (MSF).

## 4.2 Análise de flavonoides totais e atividade antioxidante

### 4.2.1 Preparo de amostras

As plantas, depois de colhidas, foram destacadas em caule, raiz e folhas e colocadas para secar em estufa a 45° até atingirem peso constante. Para o preparo dos extratos foram utilizadas amostras compostas de 0,5g de folhas secas das quatro plantas em cada parcela, para 10 mL de etanol (100%). A mistura foi colocada em agitação constante por 24h e posteriormente filtrado em papel de filtro quantitativo, determinando o volume final obtido. O material foi armazenado no escuro, coberto por papel alumínio e utilizado para fazer as análises de flavonoides totais e atividade antioxidante (DPPH).



FIGURA 4 - *Origanum vulgare* L. com 92 dias após sementeira, cultivado em sistema hidropônico. Instituto de Ciências Agrárias da UFMG/Montes Claros, 2013.

Fonte: Do autor.

#### 4.2.2 Preparo da curva padrão de rutina para análise de flavonoides

Inicialmente, foi preparada uma solução estoque de rutina ( $1\text{mg mL}^{-1}$ ) em etanol (100%). Em tubos de ensaio, foram colocadas alíquotas de 100, 150, 200, 250  $\mu\text{L}$  e completados os volumes para 5ml com etanol, ficando com a concentração final de 0,01, 0,015, 0,020, 0,025 e 0,30  $\text{mg mL}^{-1}$  (BENCHIKHA *et al.* 2013).

Para a reação, foi preparada 25mL de solução aquosa de  $\text{AlCl}_3$  (5%) que foi colocada para reagir com as diferentes diluições de rutina, em um tubo de ensaio com volume final de 10mL na proporção de 1:1, por 30min. Posteriormente, foi feita a leitura em espectrofotômetro em triplicata a 405 nm, utilizando-se o etanol mais água como branco. A partir dos valores médios de absorbância, foi feita a regressão apresentada no Gráfico 2.

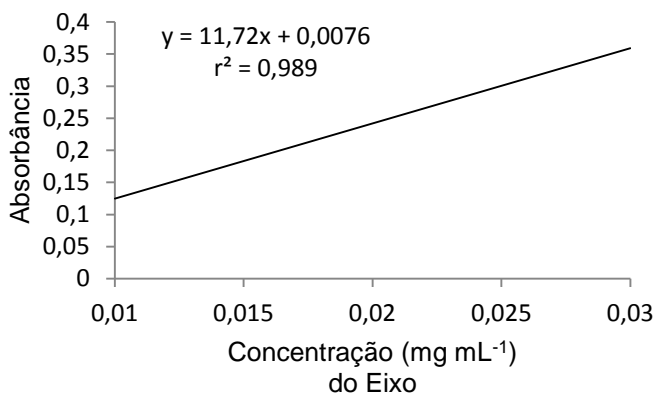


GRÁFICO 2 – Curva padrão da rutina, para análise de flavonoides totais em *Origanum vulgare* L. ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG. Absorbância em função da concentração de rutina,  $\text{mg mL}^{-1}$ .

Fonte: Do autor.

#### 4.2.3 Reação do extrato + $\text{AlCl}_3$ e interpretação dos dados

Em um tubo de ensaio adicionou-se 250  $\mu\text{L}$  do extrato e 4,75 mL de etanol, completando o volume de 5 mL. Seguidamente, a solução foi colocada para reagir com 5 mL de  $\text{AlCl}_3$  por 30 min no escuro, e feitas as

leituras em espectrofotômetro (405 nm) em triplicatas (BENCHIKHA *et al.* 2013).

As leituras de absorvância obtidas foram substituídas na equação da reta traçada anteriormente, resultando nos valores da concentração de Rutina Equivalente na solução ( $\text{mg mL}^{-1}$ ), considerando-se todo o volume da reação. Mais tarde, esses valores foram convertidos para o rendimento de cada extrato ( $\text{g mL}^{-1}$ ) sendo possível, dessa forma, relacionar o valor de RE com a massa seca de cada parcela.

#### 4.2.4 Avaliação da atividade antioxidante (DPPH)

A avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH foi feita de acordo com a metodologia de Teixeira *et al.* (2013). Inicialmente, foi preparada uma solução estoque do extrato na proporção de 1 ml de extrato em 25ml de etanol (100%). Desta solução foram retiradas alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5 ml e completado o volume para 5 mL em tubos devidamente identificados de 1 a 5. Posteriormente, foram retirados 600  $\mu\text{L}$  de cada tubo e adicionados 6 mL de uma solução etanólica de DPPH ( $0,024 \text{ mg mL}^{-1}$ ) para a reação, por 30min, no escuro. Foi feita a leitura em espectrofotômetro a 517 nm utilizando o DPPH com etanol como branco. Também foi feita a leitura do erro na reação o qual era composto por 600 $\mu\text{L}$  de cada extrato em 6mL de etanol.

Para cada ponto de diluição foi calculada a capacidade de reduzir o DPPH (%) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{CRDPPH\%} = \frac{A_b - (A_r - A_e)}{A_b} \times 100$$

CRDPPH% = Capacidade de reduzir o DPPH em %

$A_b$  = Absorvância do branco

$A_r$  = Absorvância da reação

$A_e$  = Absorvância do erro

A seguir, foi feita uma curva da capacidade de reduzir o DPPH (CRDPPH%) em função das concentrações de cada extrato na reação ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Na equação da reta, considerando CRDPPH em 50%, foi calculado o coeficiente de inibição  $\text{EC}_{50}$  ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

#### 4.2.5 Acúmulo de nutrientes minerais

A análise foliar foi realizada visando à determinação dos teores de macro e micronutrientes nas folhas. Foram preparadas amostras compostas para cada tratamento, sendo encaminhadas ao Laboratório da empresa Campo – Centro de Tecnologia Agrícola e Ambiental em Paracatu-MG, utilizando-se a metodologia descrita por Malavolta *et al.* (1997). O acúmulo de macronutrientes ( $\text{mg planta}^{-1}$ ) e micronutrientes ( $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) foi calculado pelas seguintes expressões :

$$A_{macro} = \frac{\text{Massa seca das folhas (mg)} \times \text{Conc. do Nut. (dag kg}^{-1}\text{)}}{100}$$

$A_{macro}$  = Acúmulo de macronutrientes por planta em  $\text{mg planta}^{-1}$ .

$$A_{micro} = \frac{\text{Massa seca das folhas (mg)} \times \text{Conc. do Nut. (mg kg}^{-1}\text{)}}{1000}$$

$A_{micro}$  = Acúmulo de micronutrientes por planta em  $\mu\text{g planta}^{-1}$ .

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância da regressão e as equações foram ajustadas testando-se os coeficientes de regressão pelo Teste t.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Produção de biomassa

No que concerne aos resultados, o estresse por alumínio ocasionou redução na produção de biomassa no orégano. Uma equação quadrática foi ajustada para as características massa fresca total (MFT) e massa fresca da parte aérea (MFPA). Já para a massa fresca da raiz (MFR), foi ajustada uma equação de regressão linear (Gráfico 3). De maneira geral, o estresse por Al chegou a reduzir pela metade o desenvolvimento total da planta. No sistema radicular, a dose mais concentrada (7 mg/mL) ocasionou redução de cerca de 35% em sua produção de massa fresca.

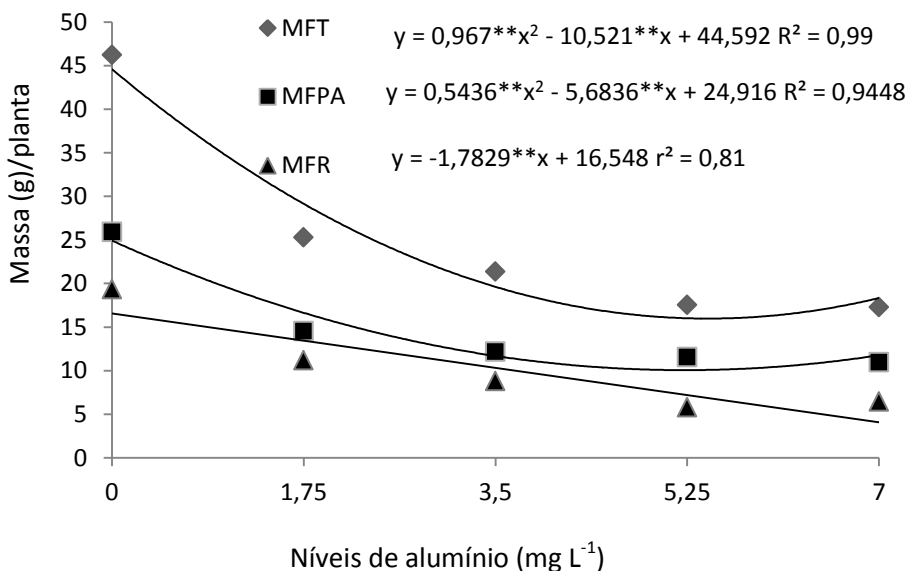


GRÁFICO 3 – Produção de massa fresca total (MFT), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz (MFR), no cultivo hidropônico de *Origanum vulgare* L. submetido a estresse por Al. (g) = gramas, (dose) = dose de Al em mgL<sup>-1</sup>. ICA/ UFGM – Campus Montes Claros.

Nota: \*\* significativo a 1% pelo Teste t.

Fonte: Do autor.

De acordo com Epstein e Junior Bloom (2006) o mecanismo fisiológico envolvido no dano causado pelo estresse por alumínio não é muito bem elucidado. Acredita-se, todavia, que ele se liga fortemente a grupos doadores

de oxigênio, interagindo com a parede celular e a membrana plasmática, assim como a componentes celulares como proteínas e nucleotídeos. Toda essa interação negativa resulta, entre várias consequências, na diminuição do sistema radicular, reduzindo-se a área de absorção e desenvolvimento da parte aérea. No sistema hidropônico, utilizado no presente estudo, obteve-se 88 plantas por m<sup>2</sup>, valor bem superior ao observado em sistemas tradicionais de canteiros no solo, onde é possível alocar 22 plantas nessa mesma área (BERNARDI FILHO, 2007).

Nesse estudo, o maior rendimento de MFPA foi de 25g referente à testemunha. Para a mesma espécie, Marques *et al.* (2009) avaliaram a influência de lâminas de irrigação no solo, sendo que o tratamento com melhores resultados apresentou média de 160g de MFPA por planta.

Santos *et al.* (2005) avaliaram, em sistema hidropônico NFT, concentrações da solução de Furlani (1998) no cultivo de *Origanum vulgare* L., sendo que o tratamento com concentração de 50% (solução utilizada nesse estudo de estresse por alumínio) apresentou melhores resultados para a produção da planta. Ainda de acordo com esses autores, para a massa seca das folhas (MSF) observou-se média de 10,68g. No presente estudo, a testemunha atingiu produção média de 4,073g (Gráfico 4).

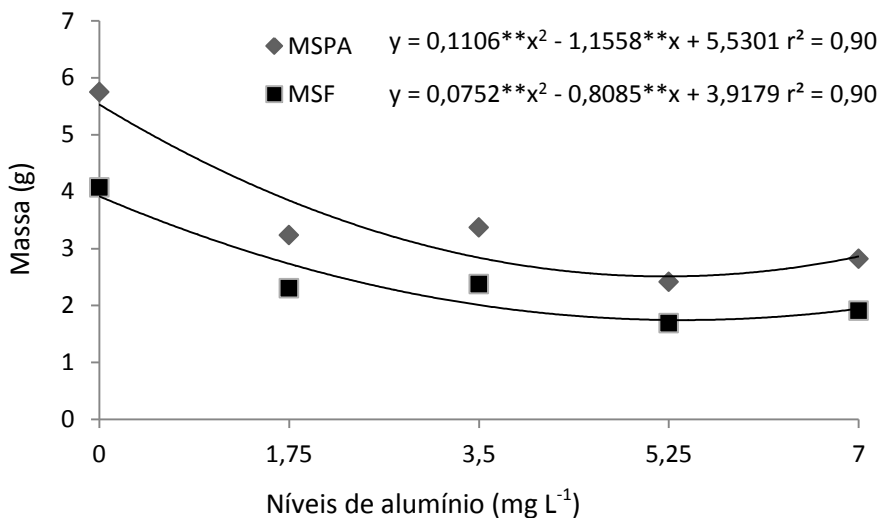


GRÁFICO 4—Produção de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das folhas (MSF), no cultivo hidropônico de *Origanum vulgare* L., submetido a estresse por Al (g) = gramas, (dose) = dose de Al em mgL<sup>-1</sup>. ICA/ UFMG.

Nota: \*\* significativo a 1% pelo Teste T.

Fonte: Do autor.

Mesmo com o baixo rendimento não foi constatada morte nas parcelas, indicando que os níveis de alumínio testados não representam valores extremos de toxidez para essa espécie. Resultado similar também foi observado por Mossi *et al.* (2011) para *Cunila galioides* Benth., avaliando-se um intervalo de concentração semelhante.

## 5.2 Teor de Prolina Livre

Os teores de prolina livre variaram entre 0,46 e 0,6  $\mu\text{molg}^{-1}$  de material fresco. A dose mais concentrada de Al (7mgL<sup>-1</sup>de solução) proporcionou aumento de cerca de 30% no teor desse metabólito (Gráfico 5). Resultados semelhantes foram encontrados por Valdes *et al.* (2012) em seu estudo com orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K.) submetido ao estresse por Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> e NaCl, em que também houve efeito positivo de acúmulo de prolina nas plantas estressadas. Ainda de acordo com esse autor, foi observado um aumento em mais de 200% no acúmulo, se comparado à testemunha, nas plantas submetidas ao estresse por Fe<sup>2+</sup> (0,1563 mL<sup>-1</sup>).

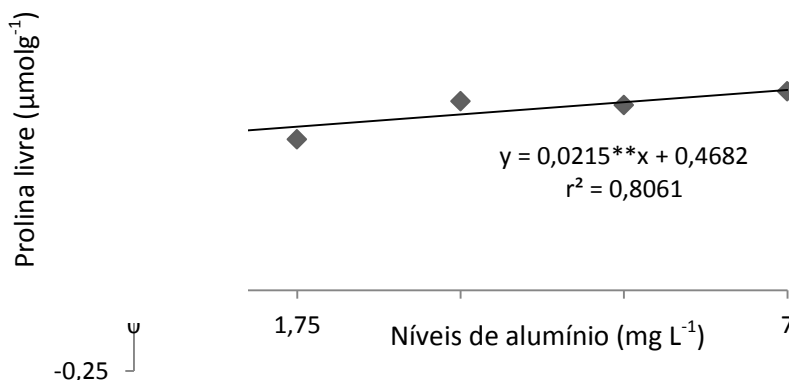


GRÁFICO 5 – Teor de prolina livre em função de diferentes doses de Al, em orégano, expresso em  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , (dose) dose de Al em  $\text{mg L}^{-1}$ . AI ICA/ UFMG – Campus Montes Claros-MG.

Nota: \*\* significativo a 1% pelo Teste T.

Fonte: Do autor.

Os intervalos de concentração de prolina observados nesse estudo foram inferiores aos obtidos por Alvarenga *et al.* (2011) em seu trabalho como alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) (0,2485 a 3,2421  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) submetido a estresse hídrico. Tais valores são bem inferiores aos observados por Marin *et al.* (2006) no cultivo de guandu (*Cajanus cajan*) sob estresse por alumínio (2 a 6  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ). Este fato indica que a produção desse metabólito pode variar de acordo com a espécie e o tipo de estresse que está envolvido.

Giannakoula *et al.* (2008) salientam que a prolina presente em pequenas quantidades nas plantas é considerada um osmólito muito importante para o ajustamento osmótico de plantas sob estresse hídrico e de toxidez por Al, desempenhando função osmoprotetora. De modo geral, o acúmulo de prolina é considerado um importante parâmetro de seleção de plantas tolerantes a estresses (MANIVANNAN *et al.*, 2007). No presente estudo, pôde-se perceber que o orégano se apresentou como uma planta acumuladora de prolina. Destarte, sugere-se a existência de mecanismos fisiológicos bem específicos de resistência ao estresse por Al.

### 5.3 Análise de flavonoides totais

Os teores de flavonoides totais, expressos na forma de rutina equivalente (RE), variaram entre 6,92 e 9,32  $\text{mg g}^{-1}$  de material seco no orégano (Gráfico 6). Para essa característica foi possível ajustar uma equação de regressão quadrática. As médias das plantas submetidas aos tratamentos ficaram bem próximas ao valor de RE da amostra comercial (8,45  $\text{mg g}^{-1}$ ) utilizada no experimento. De maneira geral, os resultados observados são inferiores aos obtidos por Benchikha *et al.* (2013) em seu estudo de caracterização de duas espécies do gênero: *Origanum vulgare* (36,63  $\text{mg/g}$ ) e *O. majorana* (57,65  $\text{mg g}^{-1}$ ), utilizando a mesma metodologia de análise.

Costa *et al.* (2007) avaliaram a influência da calagem no desenvolvimento inicial de fava-d'anta *Dimorphandra mollis*, esses autores verificaram que o aumento das doses de calcário resultou em redução no desenvolvimento total da planta, mas não afetou o teor de flavonoides totais, confirmando a adaptabilidade da planta a solos de Cerrado, que são caracterizados por apresentar pH baixo e elevada saturação por alumínio.

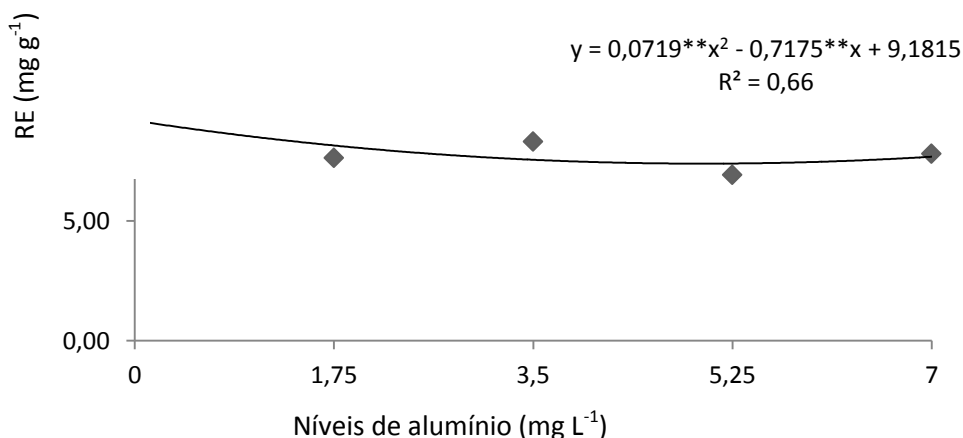


GRÁFICO 6 - Teor de flavonoides totais, expressos na forma de rutina equivalente (RE) em  $\text{mg/g}$ , no orégano, *Origanum vulgare* L. submetido a doses de alumínio ( $\text{mg/L}$ ), em sistema hidropônico de cultivo. ICA-UFGM/Campus Montes Claros.

Nota: \*\* significativo a 1% pelo Teste t.

Fonte Do autor.

Vários autores sugerem que os flavonóides atuam como um mecanismo de defesa das plantas e apontam que os fatores ambientais também estão envolvidos na síntese destes metabolitos, como o estresse por alumínio (Sosa *et al.*, 2005; Taylor; Grotewold, 2005). Isso foi percebido por Mossi *et al.* (2011) em seu estudo com poejo (*Cunila galioides* Benth.), espécie também adaptada a solos de Cerrado. Ainda de acordo com esses autores, foi constatado que o estresse por Al ocasionou redução no rendimento de biomassa nas plantas, mas, por outro lado, aumentou o teor de flavonoides nos acessos resistentes ao metal.

Sosa *et al.* (2005) destacam que as diferenças encontradas na produção de flavonoides para a mesma espécie geralmente são atribuídas a fatores genéticos. Entretanto, variações quantitativas e qualitativas entre as populações podem ser impostas pelos diferentes papéis ecológicos desempenhados por estes compostos, produzidos em resposta às condições ambientais.

Suzuki *et al.* (2005) sugerem que a quantificação de flavonoides em espécies vegetais pode ser útil na seleção de plantas resistentes a estresse, podendo ser um indicativo de genótipos tolerantes e ajudando na compreensão do mecanismo de resistência em plantas submetidas a estresse por alumínio.

Os resultados do presente estudo evidenciam que a produção de flavonoides foi afetada negativamente pelo estresse por alumínio. Isso pode ser associado ao fato de a região de origem da espécie em estudo (mediterrânea da Europa) não apresentar abundância de ambientes com solos ácidos e com elevada saturação por alumínio (SOUZA; LORENZI, 2005). Dessa forma, o estresse por alumínio provavelmente não foi um fator envolvido no processo de evolução dessa espécie.

## 5.4 Análise da atividade antioxidante

Foi ajustada uma equação de regressão quadrática para a capacidade de reduzir o DPPH (CRDPPH) do orégano submetido a estresse por alumínio. Nesse estudo a CRDPPH do extrato para a maioria dos tratamentos ficou próxima a 80% (Gráfico 7), sendo esse um indicativo importante para determinar a existência de atividade antioxidante de forma satisfatória no extrato e calcular o coeficiente de inibição ( $EC_{50}$ ) do mesmo (LIU *et al.*, 2008).

A testemunha (dose 0) foi o tratamento que apresentou menor CRDPPH, indicando que os tratamentos influenciaram na produção dos compostos antioxidantes. Pôde-se perceber a máxima atividade antioxidante na dose de 3,94 mg L<sup>-1</sup> de alumínio. Doses mais concentradas indicaram ação antagonista do metal para essa característica.

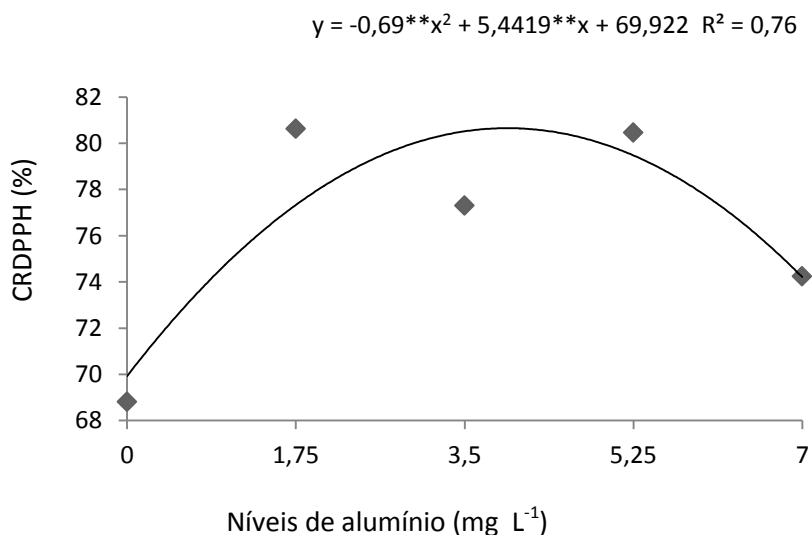


GRÁFICO 7 - Capacidade de reduzir o DPPH (CRDPPH) do extrato etanólico do orégano, *Origanum vulgare* L submetido a doses de alumínio.

Nota: \*\* significativo a 1% pelo Teste t.

Fonte: Do autor.

O coeficiente de inibição ( $EC_{50}$ ) do extrato etanólico do orégano submetido a estresse por alumínio sofreu efeito de regressão quadrática. O  $EC_{50}$  variou entre 83,495 e 127,145  $\mu\text{g}$ , sendo a testemunha (dose 0) que apresentou menor atividade antioxidante (Gráfico 8). Esses resultados indicam que o aumento da dose de alumínio ocasionou um aumento na atividade antioxidante, sendo necessário, dessa forma, menor concentração de extrato para reduzir o DPPH a 50% da concentração inicial utilizada no teste.

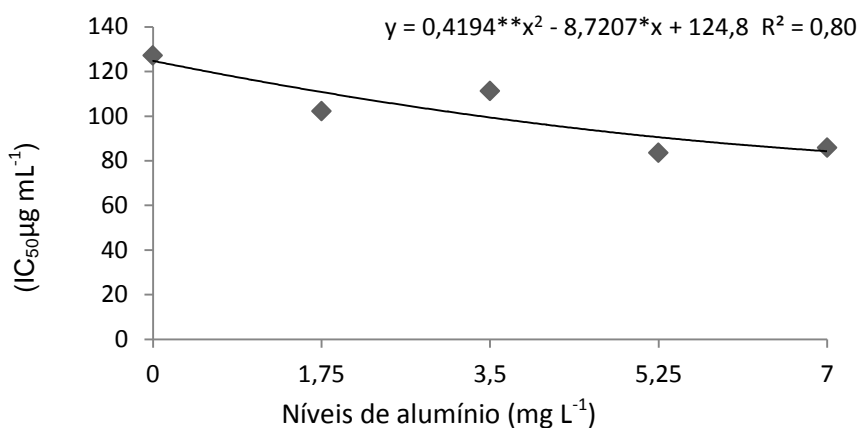


GRÁFICO 8– Capacidade de consumir o DPPH em 50% ( $EC_{50}$ ) do extrato etanólico do orégano, *Origanum vulgare* L, submetido a diferentes doses de alumínio. ( $IC_{50}$ ) = Coeficiente de inibição em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , (dose) = Dose de alumínio em  $\text{mg/L}$  de solução nutritiva.

Fonte: Do autor.

Muitos autores ressaltam a existência de uma relação direta na atividade antioxidante das plantas com teor de fenóis totais para muitas espécies vegetais. Por outro lado, para o orégano não foi percebida uma relação dessas variáveis (TEIXEIRA *et al.*, 2013; Kulisic *et al.*, 2005), indicando a importância de um grupo mais restrito de compostos para essa característica.

Nesse sentido, Mossi *et al.* (2011) apontam os flavonoides como um importante grupo químico responsável pela inibição de radicais livres. No presente estudo, percebeu-se uma correlação positiva ( $0,9134^*$ ) do teor de



flavonoides totais (RE) com oEC<sub>50</sub> (tabela 2) e negativa para a CRDPPH (r=-0,8683\*).

TABELA 2  
Correlação do teor de flavonoides totais na forma de rutina equivalente (RE) e a capacidade de reduzir o DPPH em 50% (EC<sub>50</sub>) da atividade antioxidante pelo método de DPPH, do orégano submetido a estresse por alumínio.

Variável	Observações	Correlação de Pearson (r)
RE x EC <sub>50</sub>	5	0,9134*
RE x CRDPPH	5	- 0,8683*

Fonte: do autor.

**Nota:** \* significativo a 5% de probabilidade pelo Teste t.

Esses resultados são opostos aos observados por Spagolla *et al.* (2009) em frutos de mirtilo “Rabbiteye” (*Vaccinium ashei*), em que notou-se uma correlação positiva com o teor de flavonoides e a CRDPPH. No presente estudo, pôde-se inferir que os flavonoides totais não são o principal grupo químico responsável pela atividade antioxidante da espécie submetida a estresse por alumínio.

Atoui *et al.* (2005) apontam que a atividade antioxidante desses compostos está relacionada a algumas características estruturais. Mesquita Filho (2008) destaca também que essas características dependem do número e configuração dos grupos hidroxil nos fenóis.

De maneira geral, os compostos envolvidos na atividade antioxidante da espécie possuem natureza complexa. Carboni (2013) avaliou concentrações de solução nutritiva na atividade antioxidante do *O. vulgare* L. e, consoante este autor, não foi percebida diferença significativa ao final do ciclo de cultivo, sugerindo que fatores nutricionais têm pouca influência no metabolismo de espécies sequestradoras de radicais livres para essa planta. No presente estudo, também não foi percebida relação da produção desses compostos com o estresse por alumínio.

## 5.5 Acúmulo de nutrientes nas folhas

### Macronutrientes

No presente estudo não foi constatada deficiência visual de macronutrientes em nenhuma das parcelas. Para o potássio (K) e nitrogênio (N) foi ajustada uma equação de regressão quadrática (gráfico 9) para o acúmulo de nutrientes.

Houve uma redução no acúmulo de fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio e enxofre (S) com o acréscimo de alumínio na solução nutritiva do sistema (gráfico 9 e 10). Esses resultados estão em consonância com o estudo de Silva *et al.* (2010) relativo a cultivares de trigo submetido a estresse por alumínio, em que também houve redução no acúmulo de nutrientes.

Silva *et al.* (2013) salientam que a absorção de cálcio e magnésio são afetadas pela presença de alumínio na solução nutritiva para cultivares de aveia. Ainda de acordo com esses autores, existe uma correlação entre o nível de tolerância ao alumínio com a capacidade de absorção destes elementos, representando uma variável a ser empregada na seleção de genótipos mais eficientes. De acordo com Assis *et al.* (2011), o nível de 100 mg dm<sup>-3</sup> de cálcio em solução nutritiva favoreceu o desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea das plantas de feijoeiro, inibindo a toxidez de alumínio. Mossi *et al.* (2011) também pontuam que a absorção de cálcio, para muitas espécies, é prejudicada pelo estresse por alumínio.

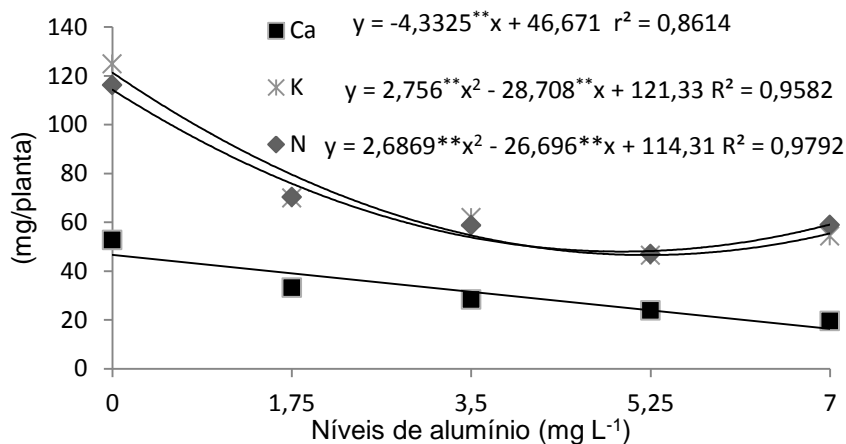


GRÁFICO 9 - Teor acumulado de macronutrientes nas folhas de orégano submetido a estresse por alumínio. Cálcio = (Ca), potássio = (K), nitrogênio (N), (dose) = doses de alumínio em mg L<sup>-1</sup>, (mg planta<sup>-1</sup>).

Nota: \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste T.

Fonte: Do autor.

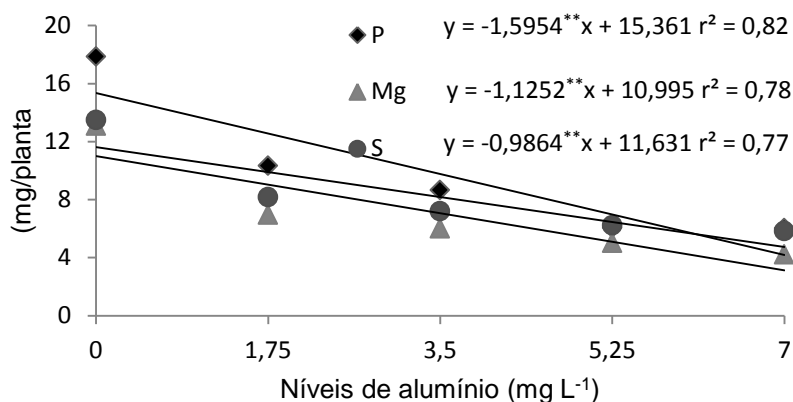


GRÁFICO 10 - Teor acumulado de macronutrientes nas folhas de orégano submetido a estresse por alumínio. Fósforo = (P), magnésio = (Mg), enxofre = (S), (dose) = doses de alumínio em mg L<sup>-1</sup>, (mg planta<sup>-1</sup>).

Nota: \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste T.

Fonte: Do autor.

Cumprir dizer que o nutriente não implicou em limitação ao desenvolvimento do orégano apesar das baixas doses de fósforo (1,5 mg L<sup>-1</sup>) disponibilizadas no sistema, devido à natureza do trabalho. Isso pode ser

associado ao fato de a solução nutritiva ser trocada semanalmente para amenizar as perdas da forma tóxica do alumínio.

O nitrogênio também teve seu acúmulo influenciado pelo estresse por alumínio. A testemunha chegou a acumular o dobro de nitrogênio em relação à dose mais concentrada de alumínio (gráfico 9).

Garlet (2007), avaliando espécies de *Mentha* cultivadas em hidroponia, verificou que o N, o Ca e o K, representam os macronutrientes mais acumulados por essas plantas. No presente estudo, esses nutrientes também foram os mais acumulados no orégano submetido a estresse por alumínio.

### Micronutrientes

Foi ajustada uma equação de regressão para o acúmulo de micronutrientes nas folhas do orégano submetido a estresse por alumínio (gráfico 11 e 12).

O cobre (Cu) foi o micronutriente menos acumulado pelo orégano, chegando a ter uma redução de quase 50% no seu acúmulo. Em outros experimentos com estresse por alumínio, em cultivares de arroz, Silva (2007) apontou o Mn como o micronutriente menos acumulado.

O ferro foi o micronutriente mais acumulado pelo orégano. O estresse por alumínio chegou a causar redução de cerca de 70% no acúmulo desse nutriente nos tratamentos com as doses mais concentradas de alumínio. Essa variação abrupta resultou no aparecimento de sintomas de deficiência de ferro no final do ciclo de cultivo, nos tratamentos T4 (5,25mg L<sup>-1</sup>) e T5 (7 mg L<sup>-1</sup>) (figura 4). Resultados semelhantes também foram observados por Garlet (2007) em plantas da família Lamiaceae.

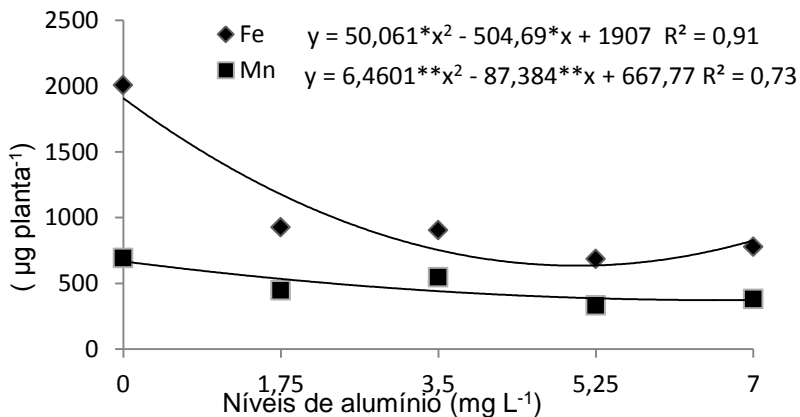


GRÁFICO 11 - Teor acumulado de micronutrientes nas folhas do orégano, submetido a estresse por alumínio. (dose) = doses de alumínio em  $\text{mg/L}$ , ( $\mu\text{gplanta}^{-1}$ ) = quantidade de nutriente acumulado por planta. Ferro = Fe, manganês = Mn.

Nota: \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste T.

Fonte: Do autor.

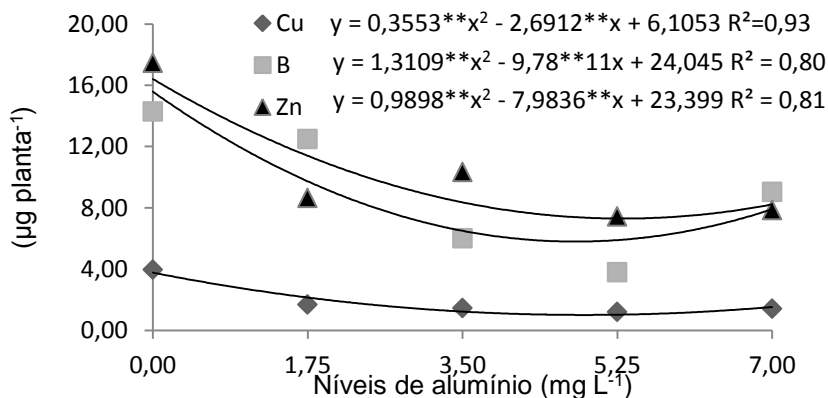


GRÁFICO 12 - Teor acumulado de micronutrientes nas folhas do orégano, submetido a estresse por alumínio. (dose) = doses de alumínio em  $\text{mg/L}$ , ( $\mu\text{g/planta}$ ) = quantidade de nutriente acumulado por planta.

Nota: \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste T.

Fonte: Do autor.



FIGURA 5 - Clorose nas folhas jovens indicando deficiência de ferro em orégano (*Origanum...* submetido ao estresse por alumínio. ICA/UFMG – Campus Montes Claros.

Fonte: do autor

## **6 CONCLUSÕES**

Ao final do presente estudo, pôde-se inferir que o estresse por alumínio causa redução na produção de biomassa do orégano. Além disso, o teor de prolina livre nessa planta tem relação positiva com o estresse por alumínio.

No tocante ao estresse por alumínio, esse influencia negativamente o teor de flavonoides totais. Verificou-se, ainda, que o estresse por alumínio ocasiona aumento na atividade antioxidante no orégano.

## REFERÊNCIAS

ALVES, P. A. C. **Adubação orgânica e calagem no crescimento de *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) e produção do óleo essencial**. 2012. 91f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2012.

ASSIS, S. DE, S.; BUCKER, M. W.; SOARES, DE S. G. Doses de cálcio no crescimento do feijoeiro cultivado em solução nutritiva, na presença de alumínio. **Idesia**, Arica , v. 29, n. 3, 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S071834292011000300008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071834292011000300008&lng=es&nrm=iso)>. Acesso em: 22 fev. 2015.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, New York, v. 89, p. 27- 36, 2005.

BATES, L. S. Rapid determination of free proline for waterstress studies. **Plant and Soil**, New York, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chem. Toxicol.** New York, v.46, p.446-475, 2008.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, New York, v. 48, n. 1, p. 75-92, 2002.

BENCHIKHA, N.; LANEZ, T.; MENACEUR M.; BARHI, Z. Extraction and antioxidant activities of two species origanum plant containing phenolic and flavonoid compounds. **J. Fund. App. Sci.**, El Oued, v. 5, p.120-128, 2013.

BERNAL GÓMEZ, M. E. D. **Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta**. 2003. 149 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

BERNARDI FILHO, L. **Produção de Massa e rendimento de óleo essencial do orégano (*Origanum vulgare* L.) em função de diferentes lâminas de irrigação**. 2007. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2007.

BOZIN, B.; NEDA MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **J. Agric. Food Chem.**, Bethesda, v. 54, n. 5, p. 1822-1828, 2006.



BRAND-WILLIAMS, W.; CUVÉLIER, M. E.; Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, New York, v.28, n.1 p.25-30. 1995.

BRASIL. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009, 136p. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/programa\\_nacional\\_plantas\\_medicinais\\_fitoterapicos.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/programa_nacional_plantas_medicinais_fitoterapicos.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2014.

BRASIL. **Resolução nº 10**, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegi/s/anvisa/2010/res0010\\_09\\_03\\_2010.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegi/s/anvisa/2010/res0010_09_03_2010.html)>. Acesso em: 15 dez. de 2014.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rocckville: American Society of Plant Physiologists, p.1158-1249, 2000.

CARBONI, T. R. **Análise de crescimento, trocas gasosas, potencial antioxidante e óleo essencial de *Origanum vulgare L. ssp. vulgare***. 2013. 67 f. Dissertação (Mestrado Fisiologia e Bioquímica Vegetal) -Instituto de Biociências, Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, 2013.

CALLONI, C. **Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel): composição química, atividade antioxidante in vitro e redução do estresse oxidativo/nitrosativo via modulação da função mitocondrial em cultura de fibroblastos humanos (MRC-5)**. 2014. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2014.

COSTA, C. A.; SOUZA, G. A.; ALVES, D. S.; ARAÚJO, C. B. O.; FERNANDES, L. A.; MARTINS, E. R.; SAMPAIO, R. A.; LOPES, P. S. N. Saturação por bases no crescimento inicial e na produção de flavonóides totais da fava-d'anta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25. p. 49-52. 2007.

CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, New York, v. 40, p. 809-816, 2005.

CINTRA R. M. G; MANCINI FILHO J. Efeito Antioxidante de especiarias: avaliação e comparação de métodos in vitro e in vivo. **Nutrire**, São Paulo, v. 22. p.49-62. 2001.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T. L. M. Orégano (*Origanum vulgari* L., Lamiaceae): Uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 19, n.132, p.40-45, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2010. 1104p  
YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; POKOMY, J. Natural antioxidants from herbs and spices. **European Journal of Lipid Science and Technology**, New Jersey, v. 108, n. 9, p.776-93, 2006.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

ARCILA-LOZANO, C. C.; LOARCA-PIÑA, G.; ELVIRA, S. L. U.; MEJÍAET, G. de. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 1, p. 100-11, 2004.

DEL RE, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012 .

DAMBOLENA, J. S.; ZUNINO, M. P.; LUCINI, E.I. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 1115–1120, 2010.

EPSTEIN, E.; JUNIOR BLOOM, A. J. **Nutrição Mineral de plantas, Princípios e perspectivas**. 2 ed. Londrina: Planta, 2006. 401 p.

FASSEAS, M. K.; MOUNTZOURIS, K. C.; TARANTILIS, P.A.; POLISSIOU, M.; Zervas, G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. **Food Chemistry**, New York, v. 106. p.1188–1194. 2007.

FERNANDES, P. C.; FACANALI, R.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; MARQUES, M. O. M. Cultivo de manjerição em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 260-264, 2004.

FIGUEIREDO, A. C.; MIGUEL, M. G. Aromatic plants, spices and volatiles in food and beverages. **Flavour Fragr. J.**, New Jersey, v. 25, n. 5, p. 251-252, 2010.

FURLANI, P. R.; **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de Hidroponia NFT**. Campinas: Instituto Agronômico, 1998. 30 p. (Boletim técnico, 168).

GARLET, T. M. B. **Produtividade, Teor e Composição do óleo essencial de espécies de *Mentha L.* (Lamiaceae) cultivada em hidroponia com variação de potássio**. 2007. 113 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GHARRAS, H. E. I. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, New Jersey, v. 44, n. 12, p. 2512–2518. 2009.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, n. 4, p. 385-396, 2008.

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

KIDD, P. S.; LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; GUNS, B.; BARCELÓ, J. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in tree varieties of maize (*Zea mays L.*). **J. Exp. Botany**, Bethesda, v. 52, p. 1339–1352, 2001.

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery nature reviews. **Nature Reviews Drug Discovery**, Oxford, v. 4, p. 206-220, mar. 2005.

LANGE, B. M.; AHKAMI, A. Metabolic engineering of plant monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes-current status and future opportunities. **Plant Biotechnology J.**, Bethesda, v. 11, n. 2, p. 169–196, 2013.

LIU, H., QIU, N., DING, H., YAO R. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. **Food Research International**, New York, v. 41 p. 363–370. 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Metodologia para Análise de Elementos em Material Vegetal. In: **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed., ver. e atual.--Piracicaba: POTAFOS, 1997. cap. 6.

MANIVANNAN, P.; ABDUL JALEEL, C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G. M. A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. **Colloids and Surfaces B. Biointerfaces**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 141-149, 2007.

MARQUES, P. A. A.; BERNARDI FILHO, L.; OLIVEIRA, R. B. Oregano production under various water depths estimated by means of the class A pan evaporation. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, mar. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-05362009000100012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362009000100012&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 21 fev. 2015.

MARTINEZ, H. E. P.; CLEMENTE, J. M. **Uso do cultivo hidropônico de plantas em pesquisas**. Viçosa: UFV, 2011. 76 p.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**, Viçosa, UFV, 2000. 220p.

MELO, E. de A.; Maciel, M. I. S.; Lima, V. L. A. G.; Leal, F. L. L.; Caetano, A. C. da S.; Nascimento, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 3, set. 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612006000300024&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000300024&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 24 fev. 2015.

MESQUITA FILHO, J. **Estudo bioquímico do efeito de alguns flavonoides de *Pterogyne nitens* Tulasne (Fabaceae) em processos oxidativos: sistema modelo “químicos”, “enzimáticos” e “celulares”**. 2008. 112 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de ciências farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

MING, L. C.; CHAVES, F. C. M.; SILVA, M. A. S. **Recursos genéticos de plantas medicinais: recentes resultados de pesquisa** [on-line], 2000. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp?id=1870>>. Acesso em: 15 fev. de 2015.

MIURA, A. K.; LÖWE, T. R.; SCHINESTSCCK, C. F. Comércio de plantas medicinais, condimentares e aromáticas por ervateiros da área central de Pelotas-RS: Estudo etnobotânico preliminar, **Rev. Bras. Agroecologia**, Cruz Alta, v. 2, n. 1, fev. 2007.

MOLINARI, H. B. C.; MARUR, C. J.; DAROS, E.; CAMPOS, M. K. F.; CARVALHO, J. F. P. R.; BESPALHOK FILHO, J. C.; PEREIRA, L. F. P.; VIEIRA, L. G. E. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum**, New Jersey, v. 130, n. 2, p. 218-229, 2007.

MORAIS, S. M.; CATUNDA JÚNIOR, F. E. A.; SILVA, A. R. A.; MARTINS NETO, J. S.; RONDINA, D.; CARDOSO, J. H. L.. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, out. 2006.

MORGAN, L. E. I. Cálcio: su importancia en hidroponia. La Molina: Univesidade Nacional Agrária La Molina, 2000. (**Boletín Informativo numero 6**).

MOSSI, A. J.; PAULETTI, G. F.; ROTA, L.; ECHEVERRIGARAY, S.; BARROS, I. B. I.; OLIVEIRA, J. V.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L. Effect of aluminum concentration on growth and secondary metabolites production in three chemotypes of *Cunila galioides* Benth. Medicinal plant. **Braz. J. Biol.**, São Carlos, v. 71, n. 4, p. 1003-1009, 2011.

PARK, J. H.; KANG, S. N.; SHIN, D.; SHIM, K. S. Antioxidant Enzyme Activity and Meat Quality of Meat Type Ducks Fed with Dried Oregano (*Origanum vulgare* L.) Powder. **Asian Australas. J. Anim. Sci.**, Bethesda, v. 28, n. 1, p. 79-85, jan. 2015.

PAVAN, M. A.; BINGHAM, F. T. Toxidez de alumínio em cafeeiros cultivados em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 9, p.1293-1302, 1982.

PEDROSA, M. W.; FIGUEIREDO, L. S. de.; MARTINEZ, H. E. P.; MARTINS, E. R.; SEDIYAMA, M. A. N.; SANTOS, I. C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas: Plantas medicinais e aromáticas, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, EPAMIG, v. 31, n. 255, p. 7-12, mar/abril. 2010.

PRELA-PANTANO, A.; TERAMOTO, J. R. S.; FABRI, E. G. O cultivo e a comercialização de orégano, **Infobibos** [on-line], 2009. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_2/Oregano/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_2/Oregano/index.htm)>. Acesso em: 20/3/2013.

QUIROGA, P. R.; GROSSO, N. R.; LANTE, A.; LOMOLINO, G.; ZYGADLO, J. A.; NEPOTE, V. Chemical composition, antioxidant activity and anti-lipase activity of *Origanum vulgare* and *Lippia turbinata* essential oils. **Internacional Journal of food Science and Technology**, New Jersey, v. 48, p. 642-649, 2013.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2010. 833 p.

REIS, M. S dos; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, M. O.; GUERRA, M. P. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: UFSC, 2004. 1102p.

RIBEIRO, P. G. F., DINIZ, R. C. **Plantas medicinais e aromáticas cultivo e utilização**. Londrina: IAPAR, 2008. 218 p.

RODRIGUES, A. G.; SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas: Plantas medicinais e aromáticas, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, mar/abril. 2010.

SANTOS, K. F. R.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; OLIVEIRA, M. G. A. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacological Research**, Bethesda, v. 40, n. 6, p. 493-496, 1999.

SANTOS, V. B.; LUZ, J. M. Q.; SUGUIMOTO, J. C. R.; ACCIOLY, L.; DIAS, P. A. A.; SODRÉ, A. C. B. Produção hidropônica de orégano (*Origanum vulgare*) e agrião da terra (*Barbarea nemosa*), em diferentes concentrações de solução nutritiva. **Horizonte Científico**, Uberlândia, v. 2, n. 1, 2005.

SCALZO, R. L. Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid. **Food Chem.**, New York, v. 107, p. 40-43, 2008.

SILVA, J. A. G.; REIS, C. E. S. R.; CRESTANI, M.; SOUSA, R. O.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.. Absorção de cálcio e magnésio por cultivares de aveia submetidas a níveis de toxidez por alumínio. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, Supl. 1, p. 3563. 2013

SILVA, S., PINTO-CARNIDE, O., MARTINS-LOPES, P., MATOS, M., GUEDES-PINTO, H.; SANTOS, C. Differential aluminium changes on nutrient accumulation and root differentiation in an Al sensitive vs. tolerant wheat. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, n. 1, p. 91-98, 2010.

SIMÕES, C. M. de O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2 ed. Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. p. 387-416,

SOSA, T.; ALÍAS, J. C.; ESCUDERO, J. C.; CHAVES, N. Interpopulational variation in the flavonoid composition of *Cistus ladanifer* L. *exudate*. **Biochemical Systematics and Ecology**, New York, v. 33, n. 4, p. 353-364, 2005.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; BARBOSA, J. M. F. Orégano (*origanum vulgare* L., lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, Botucatu, v. 19, n. 132, p. 40-45, 2005.

SOUZA, M. F.; SOUZA JUNIOR, I. T.; GOMES, P. A.; FERNANDES, L. A.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A.; SAMPAIO, R. A. Calagem e adubação orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em *Lippia citriodora kunth*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, p. 401-405, 2010.

SOUZA, M. R. M.; PEREIRA, R. G. F.; FONSECA, M. C. M. Comercialização de plantas medicinais no contexto da cadeia produtiva em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, p.242-245, 2012.

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

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. p.644-649.

SILVA, J. R.; MAIA, J. T. L. S.; SANTOS, R. R.; TORRES, W. G. ALVES.; COSTA, K. P.; OLIVEIRA, S. A. S.; DIAS, D. S.; ALVES, A. S.; COSTA, C. A. **Cultivo Hidropônio**. Montes Claros: Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. 2014

SPAGOLLA, L. C.; SANTOS, M. M.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C. L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonoides totais de mirtilo "Rabbiteye" (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada**, Rio de Janeiro, v. 30 n. 2, p.187-191. 2009.

SUZUKI, T.; HONDA, Y.; MUKASA, Y. Effects of UV-B radiation, cold and desiccation stress on rutin concentration and rutin glucosidase activity in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) leaves. **Plant Science**, New York, v. 168, n. 5, p. 1303-1307, 2005.

TAYLOR, L. P.; GROTEWOLD, E., Flavonoids as developmental regulators. **Current Opinion in Plant Biology**, Bethesda, v. 8, n. 3, p. 317-323, 2005.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; SERRANO, C.; MATOS O.; NENG, N. R.; NOGUEIRA J. M. F.; SARAIVA, J. A.; NUNESA, M. L. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **J Sci Food Agric**. Bethesda, v. 93, p. 2707-2714, 2013.

TOMLINSON, T. R.; AKERELE, O. **Medicinal plants:** Their role in health and biodiversity. Pennsylvania: PENN, 1998. 221p.

VALDÉS, O. F.; MORALES, C. R.; MENDOZA, A. B.; GONZÁLEZ, M. A. N.; STAR, J. V.; CÁRDENAS, A. O.; TORRES, V. R. Ion and salt effects on the productivity and proline accumulation in *Lippia graveolens* H.B.K. **FYTON**, New York, v. 81, p.191-198, 2012.

VEIRA JUNIOR, P. A.; DOURADO NETO, D.; OLIVEIRA, R. F.; PERES, L. E. P.; MARTIN, T. N.; MANFRON, P. A.; BONNECARRERÉ, R. A. G. Relações entre o potencial e a temperatura da folha de plantas de milho e sorgo submetidas a estresse hídrico. **Acta Scientiarum, Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p.555-561, 2007.

ZAIFNEJAD, M.; CLARK, R. B.; SULLIVAN, C. Y. Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum. **Journal of Plant Physiology**, New York, v.150, p.338-344, 1997.

ZHANG, S.; LI, Q.; MAK, C. L. Temperature dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO<sub>2</sub> assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday higher irradiance. **Photosynthetica**, New York, n. 39, p. 383-388, 2001.