

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

**EFEITO DE ELICITORES ABIÓTICOS NA REGULAÇÃO  
DO CRESCIMENTO E BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS  
FENÓLICOS EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

**Nadjama Barreto do Prado**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
NOVEMBRO - 2022**

**EFEITO DE ELICITORES ABIÓTICOS NA REGULAÇÃO DO  
CRESCIMENTO E BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS FENÓLICOS  
EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.).**

NADJAMA BARRETO DO PRADO  
Bacharel em Engenharia Agrônômica, UESB, 2010

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientador:** Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
NOVEMBRO – 2022**

## FICHA CATALOGRÁFICA

P896e	<p>Prado, Nadjama Barreto do. Efeito de elicitores abióticos na regulação do crescimento e biossíntese de compostos fenólicos em manjerição (<i>Ocimum basilicum</i> L.) / Nadjama Barreto do Prado. – Cruz das Almas, BA, 2022. 91f.; il.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias.</p> <p>1.Manjerição – Plantas medicinais. 2.Manjerição – Crescimento – Hidroponia. 3.Metais – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 581.634</p>
-------	--


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

**EFEITO DE ELICITORES ABIÓTICOS NA REGULAÇÃO DO  
CRESCIMENTO E BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS FENÓLICOS  
EM MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.).**

Comissão Examinadora da Defesa de Tese de

Nadjama Barreto do Prado

Aprovada em 30 de setembro de 2022

Documento assinado digitalmente  
 **FABIO DE SOUZA DIAS**  
Data: 30/11/2022 13:58:16-0300  
Verifique em <https://verificador.itl.br>

**Prof. Dr. Fábio de Souza Dias**  
Universidade Federal da Bahia - UFBA  
Orientador

Profa. Dra. Franceli Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB  
Examinadora Interna

Prof. Dr. Jorge Mauricio David  
Universidade Federal da Bahia - UFBA  
Examinadora Externa

Profa. Dra. Eliane de Oliveira Silva  
Universidade Federal da Bahia - UFBA  
Examinadora Externa

Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto  
Universidade Federal da Bahia - UFBA  
Examinadora Externa

A DEUS, força que me alimenta e protege espiritualmente.

Aos meus queridos pais, Valtemi e M<sup>a</sup> Auxiliadora, que com muito amor e orações contribuíram, mesmo à distância, para a conquista de mais esta etapa de minha vida.

Ao meu irmão Cristiano e família (Ana Márcia, Bruno Vincenzo e Pedro Artur), para demonstrar que Dedicção + Persistência = SUCESSO.

E ao meu amado marido, Nelson, por não ter me deixado desistir dos meus sonhos.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a DEUS, por estar sempre iluminando os meus caminhos e abençoando a minha vida.

Sou e serei eternamente grata aos meus pais, Valtemi Lemos do Prado e M<sup>a</sup> Auxiliadora Barreto do Prado, pelo apoio e amor incondicional.

A meu irmão Cristiano Barreto do Prado, minha cunhada Ana Márcia e meus sobrinhos Bruno Vincenzo e Pedro Artur, pela atenção, força e amor.

Ao meu marido Nelson, pelo companheirismo, parceria, paciência, cumplicidade, amor, e por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior — CAPES, pela concessão da bolsa.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB pela formação profissional qualificada e infraestrutura para realização dos trabalhos da pesquisa.

A meu orientador, Dr. Fábio de Souza Dias, pela paciência, respeito e contribuições que me conduziram ao sucesso dessa conquista.

A minha colega e amiga, Mariana Silva, pelo apoio na seleção e nos primeiros anos de doutorado, pela carona, pela parceira nos trabalhos e estudos, e ajuda na superação dos obstáculos da minha retomada a vida acadêmica.

A Claudinha pela contribuição com os materiais para realização de um dos experimentos, como também a Cindy pela ajuda no desenvolvimentos dos trabalhos experimentais.

A Candice, Gilvanda, Gisele, Cheila e demais colegas, pela colaboração, orientações, apoio essencial para o desenvolvimento dos trabalhos, além da amizade e alegria em todos os momentos.

A Deyse, secretária da PPGCA-UFRB, por sua disposição para solucionar e informar sobre as atividades desenvolvidas na instituição.

Ao corpo docente do Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pelas contribuições na minha formação.

Aos membros da banca examinadora pelas preciosas sugestões e correções desse trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho e por esta conquista.

**A todos, a minha gratidão!**

## EPIGRAFE

*“A lei da mente é implacável.  
O que você pensa, você cria;  
O que você sente, você atrai;  
O que você acredita  
Torna-se realidade.”*  
Buda

# EFEITO DE ELICITORES ABIÓTICOS NA REGULAÇÃO DO CRESCIMENTO E BIOSÍNTESE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM MANJERICÃO (*O. basilicum* L.).

## RESUMO GERAL

O *Ocimum basilicum* L. é uma planta aromática medicinal com uma gama de compostos ativos, com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antivirais. A elicitação, estimulação da defesa vegetal, tem sido uma técnica estudada para promover o aumento da produção de metabólitos secundários, principalmente os compostos ativos de maior interesse comercial. Portanto este trabalho teve como objetivos: i) avaliar os efeitos de metais, alumínio, chumbo e cádmio, na biossíntese de compostos fenólicos e na massa seca de *Ocimum basilicum* L. cultivadas em sistema hidropônico, e ii) verificar a influência da aplicação de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) nas características agrônômicas, e na biossíntese de compostos fenólicos de *O. basilicum* L.. No artigo 1, as plantas foram submetidas a quatro diferentes concentrações de cádmio (0,2, 0,6, 1,2 e 1,8 mmol L<sup>-1</sup>), chumbo e alumínio (0,04, 0,08, 0,12 e 0,16 mmol L<sup>-1</sup>), e comparadas com o controle. Os resultados demonstraram que *O. basilicum* L. pode ser sensível ao alumínio, e moderadamente tolerante à adição de diferentes concentrações de chumbo e cádmio, quando cultivadas em sistema hidropônico. A adição dos elementos potencialmente tóxicos às soluções hidropônicas afetaram negativamente o crescimento, e a produtividade da planta. Os metais chumbo e cádmio induziram um aumento na biossíntese de ácidos fenólicos, principalmente o ácido rosmarínico, que apresentou teor quatro vezes maior que o ácido cafeico. No artigo 2, o manjeriço foi submetido a aplicação exógena de 0, 50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, pulverizadas manualmente nas folhas a cada dez dias. Conforme os resultados obtidos conclui-se que a aplicação de concentrações crescentes de GA<sub>3</sub> em *O. basilicum* cv. Grecco a Palla, cultivadas em vasos sob ambiente de casa de vegetação, favoreceu o alongamento da parte aérea, e o florescimento precoce, aumentando a biomassa de panículas florais. Em contrapartida reduziu a biomassa do sistema radicular e das folhas, e diminuiu a área foliar do manjeriço. Ressalte-se ainda que não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, em relação ao conteúdo de compostos fenólicos dos extratos hidroetanólicos de manjeriço.

**Palavras-chave:** ácido giberélico, alumínio, cádmio, chumbo, compostos fenólicos, manjeriço.



# EFFECT OF ABIOTIC ELICITORS ON GROWTH REGULATION AND BIOSYNTHESIS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN BASIL (*O. basilicum* L.).

## GENERAL ABSTRACT

*Ocimum basilicum* L. is an aromatic medicinal plant with a range of active compounds, with antioxidant, antimicrobial and antiviral properties. Elicitation, stimulation of plant defense, has been a technique studied for promote the increased production of secondary metabolites, mainly the active compounds of greater commercial interest. Therefore, this work aimed to objectives: i) to evaluate the effects of metals, aluminum, lead and cadmium, on biosynthesis of phenolic compounds and the dry mass of *Ocimum basilicum* L. grown in hydroponic system, and ii) verify the influence of the application of different concentrations of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on the agronomic characteristics, and on the biosynthesis of phenolic compounds in *O. basilicum* L.. At article 1, the plants were subjected to four different concentrations of cadmium (0.2, 0.6, 1.2 and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), lead and aluminum (0.04, 0.08, 0.12 and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>), and compared with the control. The results demonstrated that *O. basilicum* L. can be sensitive to aluminum, and moderately tolerant to the addition of different concentrations of lead and cadmium, when grown in a hydroponic system. The addition of potentially toxic elements to the solutions hydroponic negatively affected the growth, and productivity of the plant. The metals lead and cadmium induced an increase in the biosynthesis phenolic acids, especially rosmarinic acid, which was four times as higher greater than caffeic acid. In article 2, basil was subjected to exogenous application of 0, 50, 100, 150 and 200 mg L<sup>-1</sup> of GA<sub>3</sub>, manually sprayed onto the leaves every ten days. According to the results obtained, it can be concluded that the application of increasing concentrations of GA<sub>3</sub> in *O. basilicum* cv. Grecco a Palla, grown in pots under a greenhouse conditions, favored the elongation of the aerial part, and early flowering, increasing the biomass of floral panicles. In contrast, it reduced the biomass of the root system and of the leaves, and decreased the leaf area of basil. It should also be emphasized that it does not there was significant difference between the different concentrations of GA<sub>3</sub>, in concerning the content of phenolic compounds of the hydroethanolic extracts of basil.

**Keywords:** gibberellic acid, aluminum, cadmium, lead, phenolic compounds, basil.

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1** – Análise química de solo realizada no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Mandioca e Fruticultura - Cruz das Almas/BA.....**46**

**Tabela 2** – Análise de variância (ANOVA) e as médias correspondentes às diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) aplicadas em plantas de *O. basilicum* L. Cruz das Almas-BA, 2022.....**52**

### CAPÍTULO 2

**Table 1.** Analysis of variance (ANOVA) the corresponding concentrations variables of aluminum, cadmium and lead applied in plants of *O. basilicum* L. ....**76**

**Table 2.** Average values of the analyzed variables (mean ± confidence interval) as a function of the concentrations of aluminum, cadmium and lead applied in plants of *O. basilicum* L. ....**77**

**Table 3.** Weights of the variables in relation to the main components. ....**84**

**Table 4.** Correlation coefficients of the studied variables. ....**86**

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DE LITERATURA

**Figura 1** - Estruturas químicas dos ácidos fenólicos: rosmarínico (A), cafeico (B), caftárico (C) e chicórico (D).....15

**Figura 2** - Representação estilizada e esquemática da elicitção promovida pela ação de herbivoria e fatores abióticos. ....20

**Figura 3** - Funções dos hormônios vegetais no ciclo de vida das plantas..... 26

### CAPÍTULO 1

**Figura 1** - Medição do diâmetro do caule de *O. basilicum*.....48

**Figura 2** - Plantas de *O. basilicum* submetidas a diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), (T1) 0 mg L<sup>-1</sup>, (T2) 50 mg L<sup>-1</sup>, (T3) 100 mg L<sup>-1</sup>, (T4) 150 mg L<sup>-1</sup> e (T5) 200 mg L<sup>-1</sup>. Cruz das Almas-BA, 2022.....53

**Figura 3** - Plantas de *O. basilicum* submetidas a diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), (T1) 0 mg L<sup>-1</sup>, (T2) 50 mg L<sup>-1</sup>, (T3) 100 mg L<sup>-1</sup>, (T4) 150 mg L<sup>-1</sup> e (T5) 200 mg L<sup>-1</sup>. Cruz das Almas-BA, 2022.....57

**Figura 4** - Dendrograma da análise hierárquica de agrupamentos (HCA) de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), (T1) 0 mg L<sup>-1</sup>, (T2) 50 mg L<sup>-1</sup>, (T3) 100 mg L<sup>-1</sup>, (T4) 150 mg L<sup>-1</sup> e (T5) 200 mg L<sup>-1</sup> aplicadas às plantas de *O. basilicum* L. Cruz das Almas-BA.....58

**Figura 5** - Coeficientes de correlação de Pearson das variáveis estudadas, representados em escala numérica e intensidade de cores. Cruz das Almas-BA, 2022.....60

### CAPÍTULO 2

**Fig. 1.** Score graph for PC1 X PC2 of four different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (A) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) applied in plants of *O. basilicum* L.....82

**Fig. 2.** Graph of weight of the variables totals phenolics contents (TP), totals flavonoids (TF), caffeic acid (CA), rosmarinic acid (RA), e total dry mass (TDM) of extracts of *O. basilicum* L. subjected to of four different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (Al) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) in the plane. ....83

**Fig. 3.** Dendrogram of Hierarchical Cluster Analysis (HCA) of of four different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (A) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) applied to plants of *O. basilicum* L .....85

## SUMÁRIO

<b>1. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>14</b>
1.1 Importância da família Lamiaceae e da espécie <i>Ocimum basilicum</i> L.	14
1.2 Metabólitos especializados e seus benefícios para a planta e saúde humana	17
1.3 Definição, classificação e função dos compostos fenólicos em plantas	18
1.4 Elictores e a biossíntese de metabólitos secundários	20
1.4.1. Biossíntese de compostos fenólicos sob condições de estresse metálico	22
1.4.2. Respostas metabólicas à aplicação exógena de reguladores de crescimento de plantas (RCP)	25
1.4.3. Aplicação de ácido giberélico em plantas ( $GA_3$ ), na regulação de metabólitos secundários	28
<b>2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>30</b>
CAPÍTULO 1 - <b>Características agronômicas no cultivo de <i>Ocimum basilicum</i> L. em resposta a aplicação de ácido giberélico e relação com a biossíntese de compostos fenólicos</b>	
<b>RESUMO</b>	<b>41</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>42</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>43</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>45</b>
2.1. Reagentes e solventes	45
2.2. Material vegetal e tratamentos	46
2.3. Altura de plantas	47
2.4. Diâmetro do caule	48
2.5. Número de internódios	48
2.6. Número de panículas florais	48
2.7. Massas da matéria fresca das partes da planta	49
2.8. Área foliar	49
2.9. Massas da matéria seca das partes da planta	49
2.10. Prepara dos extratos hidroetanólicos de manjeriço	50
2.11. Determinação de fenólicos totais	50
2.12. Determinação de flavonóides totais	51
2.13. Análises Estatística	51
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>51</b>
3.1 Análise Exploratória	57
3.2. Análise de Correlação de Pearson	59
<b>4. CONCLUSÕES</b>	<b>60</b>
<b>5. REFERÊNCIAS</b>	<b>61</b>
CAPÍTULO 2 - <b>Aplicação de análise multivariada para avaliação do estresse por Cd, Pb e Al em manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.) utilizando ácido cafeico, ácido rosmarínico, fenólicos totais, flavonóides totais e massa seca total como resposta</b>	
<b>ABSTRACT</b>	<b>69</b>
<b>1. Introduction</b>	<b>70</b>
<b>2. Experimental</b>	<b>71</b>
2.1. Reagents and solvents	71
2.2. Samples	72
2.3. Sample preparation	72
2.4. Ultrasound-assisted extraction	73
2.5. Determination of total phenolics	73

2.6. Determination of total flavonoids -----	73
2.7. Toxic metals determinations in nutritive solution by MIP OES -----	74
2.8. Determination of caffeic acid and rosmarinic acid by HPLC-DAD -----	74
2.9. Statistical analysis -----	75
<b>3. Results and discussion-----</b>	<b>75</b>
3.1 Exploratory analysis-----	81
<b>4. Conclusion -----</b>	<b>86</b>
<b>References -----</b>	<b>88</b>

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Importância da família Lamiaceae e da espécie *Ocimum basilicum* L.

As plantas da família Lamiaceae são muito abundantes e apresentam características aromáticas. No Brasil existem 32 gêneros e aproximadamente 496 espécies nativas ou naturalizadas, e muitas dessas espécies podem ser encontradas nas regiões semiáridas. Dentre os gêneros mais conhecidos podem-se encontrar a *Mentha*, o *Rosmarinus*, a *Salvia*, o *Origanum* e o *Ocimum* (HARLEY, 2012; HASSANZADEH et al., 2011).

O gênero *Ocimum* é representado por mais de 150 espécies, que exibem uma ampla diversidade fenotípica e genotípica e apresentam atividades biológicas com comprovada ação antioxidante (BAHCESULAR et al., 2020; ZANGENEH et al., 2019; GÜEZ et al., 2017), antibacteriana (KAYA, YIGIT, BENLI, 2008), e antiviral (SAKR; AL-AMOUDI, 2012, CHIANG et al., 2005). O óleo essencial presente nestas plantas é o principal produto natural empregado nas indústrias de aromas, cosméticos, produtos farmacêuticos e aromaterapia (HASSANZADEH et al., 2011; PATEL et al., 2016).

Estudos etnobotânicos demonstraram que alguns biopesticidas são derivados de plantas da família Lamiaceae, como a lavanda, o alecrim, a sálvia e o tomilho. Além do mais, pesquisas científicas evidenciaram o efeito pesticida de extratos aquosos e óleos essenciais de várias espécies de *Ocimum* (CHOWDHARY et al., 2018).

A espécie *Ocimum basilicum* L. conhecida popularmente como alfavaca, alfavaca-cheirosa ou manjeriço, é nativa da Ásia tropical e foi introduzida no Brasil pela colônia italiana; atualmente é cultivada mundialmente em sistemas tradicionais ou hidropônicos (LORENZI; MATOS, 2008). Esta espécie pode ser comercializada fresca, seca, processada, como também nas formas de extratos e óleo essencial (SCAGEL et al., 2019). Esta erva aromática é um importante ingrediente, que confere aroma e sabores a aditivos alimentares, além de apresentar características terapêuticas a produtos farmacêuticos, industrialmente importantes (MOSADEGH et al., 2018; TEOFILOVIĆ et al., 2017).

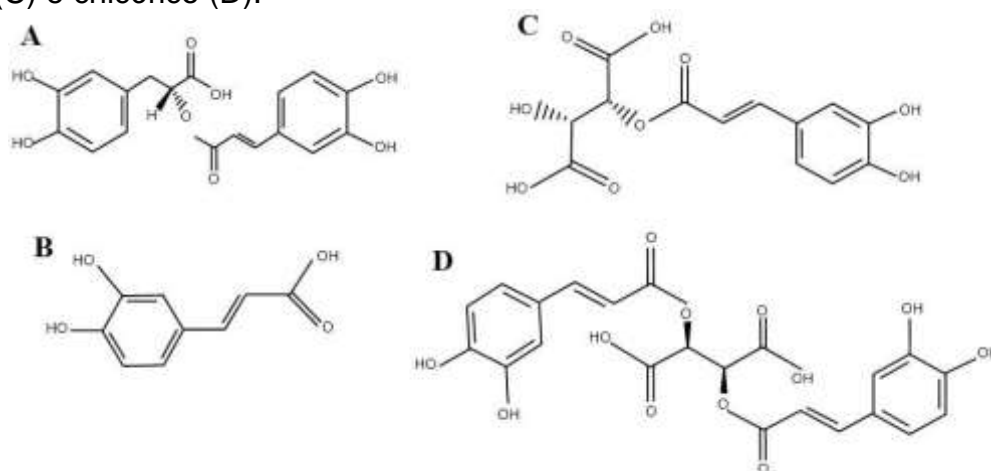
O manjeriço é um subarbusto aromático anual e sua propagação pode ser via sementes ou estacas. Apresenta um caule ereto e galhos ramificados com altura de 30 a 50 cm, folhas simples membranáceas com tamanho de 4 a 7 cm de

comprimento e flores brancas reunidas em racemos terminais curtos (LORENZI; MATOS, 2008). O óleo essencial, secretado pelos tricomas glandulares, e o extrato da planta são ricos em metabólitos especializados (ROCHA et al., 2020).

Na rota metabólica secundária do manjeriço são sintetizados vários metabólitos como polifenóis, flavonóides e terpenos (LEE; SCAGEL, 2009). Análises histoquímicas e fitoquímicas demonstraram que os compostos fenólicos concentram-se nos tricômas da nervura central, nos colênquimas (epiderme adaxial do pecíolo e caulinar) e, também, revelaram a presença de flavonoides na raiz (ROCHA et al., 2020).

Dentre os compostos fenólicos mais produzidos pelo manjeriço estão os ácidos rosmarínico, caféico, caftárico e chicórico (FIGURA 1) (BURDUCEA et al., 2019; KWEE; NIEMEYER, 2011). Contudo, a qualidade e quantidade destes compostos fenólicos podem variar de acordo com a cultivar, parte da planta e condições de crescimento (BURDUCEA et al., 2019).

**Figura 1.** Estruturas químicas dos ácidos fenólicos: rosmarínico (A), caféico (B), caftárico (C) e chicórico (D).



A importância econômica desta espécie está relacionada à composição química, que apresenta vários componentes benéficos à saúde humana, como vitaminas, minerais, compostos fenólicos e flavonóides (BAHCESULAR et al., 2020; GÜEZ et al., 2017; JAKOVLJEVIĆ, TOPUZOVIĆ, STANKOVIĆ, 2019, ZHANG; TSAO, 2016). Estes compostos conferem à planta efeitos farmacológicos como antioxidante, anti-inflamatório (BAHCESULAR et al., 2020; ZANGENEH et al., 2019; GÜEZ et al., 2017), antienvhecimento (GÜEZ et al., 2017; RASUL, AKHTAR, 2011), anticâncer, antimicrobianos (KAYA, YIGIT, BENLI, 2008),

antivirais (PERNA et al.,2022; SAKR; AL-AMOUDI, 2012, CHIANG et al., 2005), dentre outros.

Estudos conduzidos com extrato etanólico do calo foliar e folhas de *O. basilicum*, demonstraram que constituintes ativos das partes foliares cultivadas *in vivo* e *in vitro*, podem apresentar propriedades medicinais na prevenção de doenças inflamatórias (AYE et al., 2019). Em outro trabalho atribuíram propriedades curativas ao extrato aquoso de manjeriço, revelando uma notável atividade de cicatrização, além de melhorias dos parâmetros histopatológicos e bioquímicos nas feridas cutâneas de animais (ZANGENEH et al., 2019). O manjeriço também apresentou um potencial gastroprotetor, ansiolítico, antioxidante e anti-inflamatório em úlceras gástricas provocadas por aspirina, em camundongos (EL-GHFFAR et al., 2018).

Os benefícios dos extratos e óleos do manjeriço vão além das atividades medicinais, pois podem ser utilizados no controle de vetores de doenças virais provocadas por insetos como por exemplo: dengue, zika e chikungunya. Kalaivani et al. (2012) demonstraram que extratos hidrodestilados de *O. basilicum* também podem servir como agente larvicida natural, contra o vetor da dengue (*Aedes aegypti* L.). O óleo essencial de *O. basilicum* apresentou potencial ovicida na concentração de 0,1%, promovendo 100% de mortalidade de ovos do mosquito causador da dengue (WARIKOO et al., 2011).

Os componentes ativos presentes no *O. basilicum*, também, trazem benefícios no controle de insetos praga, reduzindo os danos às culturas e minimizando os impactos ambientais. O potencial inseticida do óleo essencial desta espécie foi comprovada para *Rhyzopertha dominica* em arroz (LÓPEZ; JORDÁN; PASCUAL-VILLALOBOS, 2008), *Tribolium castaneum* em grãos armazenados (MISHRA; TRIPATHI; TRIPATHI, 2012), *Acanthoscelides obtectus* Say em feijão (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2019), dentre outros. O *O. basilicum* apresentou ação de repelência de fêmeas de *Tuta absoluta* Meyrick, e os componentes associados ao óleo essencial teve ação ovicida contra essa importante praga do tomateiro (YAROU et al., 2017).

A espécie *O. basilicum* tem sido objeto de investigação de diversos pesquisadores, dada a sua importância e seu potencial de exploração medicinal, industrial e agrícola. Contudo, os resultados são muito controversos em relação a biossíntese dos metabólitos especializados em resposta às condições abióticas,



principalmente em relação à aplicação de reguladores vegetais (MURCIA et al., 2017), e o cultivo em ambientes contaminados com elementos potencialmente tóxicos (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; HAMEED et al., 2012).

## **1.2 Metabólitos especializados e seus benefícios para a planta e saúde humana**

As reações bioquímicas realizadas por um organismo vivo pode ser chamada de metabolismo. Diversas classes de compostos orgânicos são produzidas pelas plantas, dentre eles estão os chamados metabólitos primários e metabólitos especializados ou secundários (TAIZ et al., 2017, THIRUMURUGAN et al., 2018).

Os açúcares, ácidos graxos, aminoácidos, lipídeos e nucleotídeos, assim como as moléculas que são sintetizados a partir deles, como proteínas, polissacarídeos, dentre outros, são metabólitos primários produzidos por todas as plantas. Eles estão diretamente envolvidos nos processos de divisão celular, fotossíntese, respiração e reprodução (TAIZ et al., 2017).

Os metabólitos especializados são conhecidos como metabólitos secundários por serem derivados do metabolismo primário. Apesar de não estarem diretamente relacionados aos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, ocorre um equilíbrio dinâmico entre as atividades do metabolismo primário e secundário, que são influenciadas pelas diferentes fases de desenvolvimento da planta, como também por pressões do meio (KUMAR; GOEL, 2019; THIRUMURUGAN et al., 2018). Estes compostos especializados desempenham um papel importante em processos de adaptação e defesa vegetal, atuando como moléculas sinalizadoras em condições de interações ecológicas, simbiose, competição, dentre outros (TAIZ et al., 2017; THIRUMURUGAN et al., 2018).

Os metabólitos especializados, na maioria das vezes, fazem parte de uma das três principais classes de moléculas: terpenos, alcaloides ou compostos fenólicos. Os terpenos constituem a maior classe de metabólitos secundários, na qual se destacam os monoterpenos, que estão presentes em grande quantidade na composição dos óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas (THIRUMURUGAN et al., 2018).

Os alcaloides, metabólitos biossintetizados a partir dos aminoácidos, apresentam como estrutura básica um grupo amina. Eles podem apresentar

propriedades estimulantes, reguladoras, repelentes ou simplesmente ser um produto de desintoxicação (THIRUMURUGAN et al., 2018).

Os polifenólicos representam o conjunto de metabólitos especializados mais importantes. Eles são responsáveis por conferir aos alimentos cor e algumas características organolépticas específicas da planta (TAIZ et al., 2017).

A biossíntese dos compostos bioativos pode ser influenciada por fatores como a variabilidade genética intraespecífica, condições ambientais, épocas de colheita e condições do solo, que modificam a quantidade e a qualidade de diversos compostos. Portanto, estudos direcionados à implementação ou aprimoramento da sistemática de produção agrícola de plantas medicinais e aromáticas e de seus compostos bioativos, apresentam considerável relevância (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A produção desses compostos bioativos aumenta a possibilidade de uma espécie sobreviver através das diversas atividades biológicas, como por exemplo, ações antibióticas, antifúngicas e antivirais na proteção contra patógenos. Outrossim, podem apresentar atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas daninhas e/ou culturas, que competem pela disponibilidade de água, nutrientes e luz; ao tempo em que alguns destes compostos são importantes na absorção da luz ultravioleta, evitando danos às diferentes partes da planta (LI et al., 1993).

### **1.3 Definição, classificação e função dos compostos fenólicos em plantas**

Fenólicos são compostos que apresentam em sua estrutura química, um anel aromático com um grupo hidroxila; já os polifenóis possuem um ou mais anéis aromáticos com mais de um grupo hidroxila (KUMAR; GOEL, 2019; ZHANG; TSAO, 2016). Geralmente são encontrados em todo reino vegetal, mas também podem ser específicos de uma espécie de planta (SOARES, 2002).

Os compostos fenólicos englobam uma gama de substâncias, e as mais abundantes são os fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonóides, cumarinas, estilbenos, taninos, lignanas e ligninas. Os fenólicos vegetais apresentam diversas funções, mas o potencial antioxidante é essencial para grande parte das propriedades biológicas e farmacológicas atribuídas às estruturas químicas específicas (KUMAR; GOEL, 2019).

A biossíntese e o acúmulo de antioxidantes não enzimáticos pelas plantas

são respostas fitoquímicas, que atendem às necessidades fisiológicas normais, sequestrando espécies reativas de oxigênio (ERO) com o objetivo de evitar a oxidação descontrolada de biomoléculas essenciais. Além disso protege contra o ataque de patógenos e pragas, como também ajuda na adaptação às condições bióticas e abióticas do ambiente (KASOTE et al., 2015).

O efeito antioxidante característico de várias espécies de plantas é fundamental na obtenção e preservação da boa saúde, devido à direta relação com o oxigênio ativo e à peroxidação lipídica (AHMED et al., 2019). Diversos estudos experimentais afirmaram que vegetais ricos em compostos fenólicos contribuem para diminuição do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), particularmente câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (AYE et al., 2019, BAHCESULAR et al., 2020; GÜEZ et al., 2017; JAKOVLJEVIĆ et al., 2019, SAKR; AL-AMOUDI, 2012, ZHANG; TSAO, 2016). Isto contribui para que os compostos fenólicos sejam foco de atenção e discussão entre os profissionais das áreas das ciências exatas e da terra, biológicas, agrárias, da saúde, e entre consumidores.

*Ocimum basilicum* está dentre as plantas medicinais e aromáticas cultivadas comercialmente que apresentam grande importância econômica (LOUGHRIN; KASPERBAUER, 2001), e cuja concentração de fenólicos totais é bem explorada em plantas dessa espécie (BURDUCEA et al., 2019). Esta espécie é rica em compostos fenólicos como os ácidos, rosmarínico, cafeico, caftárico e chicórico (Figura 1), que são caracterizados com alta atividade antioxidante (BAHCESULAR et al., 2020).

Estes compostos estão presentes em várias partes da planta, mas quantidades significativas de compostos fenólicos são encontradas nas folhas, caule e flores (ROCHA et al., 2020). No estudo com pós super finos de folhas de *O. basilicum* foi detectada a presença de três ácidos fenólicos (cafeico, rosmarínico e ferúlico) e três flavonóides (rutina, isoquercetina e apigenina) (MOUSAVI et al., 2019). Contudo vários pesquisadores observaram que o conteúdo e a composição dos óleos essenciais, bem como a quantidade de fenólicos do manjeriço, não são constantes (BAHCESULAR et al., 2020).

As condições ambientais, tempo de colheita, estágio de desenvolvimento da planta, condições de armazenamento pós-colheita e processamento, podem afetar, fortemente, a biossíntese desses metabólitos especializados

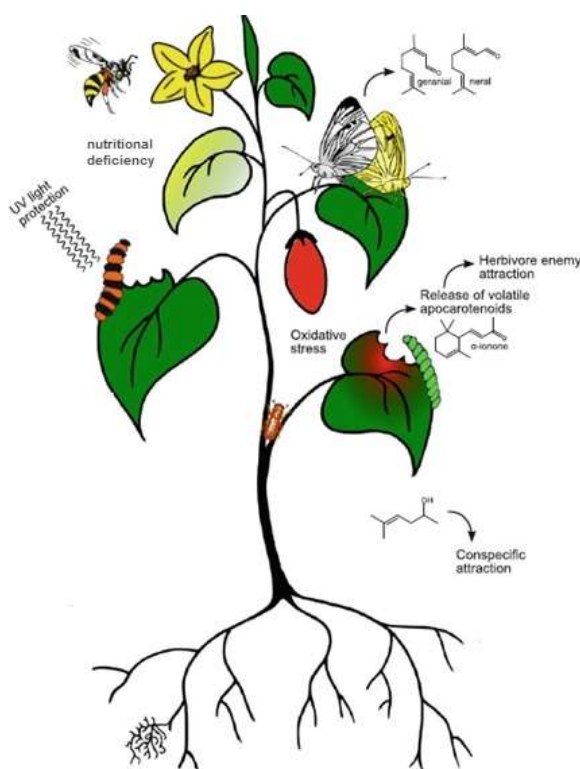
(BAHCESULAR et al., 2020).

#### 1.4 Elictores e a biossíntese de metabólitos secundários

A elicitação ou estímulo ativo (substâncias que participem de vias metabólicas, principalmente como sinalizadoras) é um importante fator na determinação da composição química e atividade biológica de plantas, inclusive as medicinais (RADMAN et al., 2003). As plantas são dotadas de sensores e receptores que ativam o sistema de defesa contra as adversidades do meio. Esse sistema de defesa desencadeia uma série de reações fisiológicas e morfológicas (FIGURA 2), em resposta a fatores físicos e químicos conhecidos como 'elictores' (THAKUR et al., 2019).

O elictor pode ser físico, químico ou hormonal, contanto que promova vários efeitos nas plantas como ativação e biossíntese de metabólitos secundários. A estimulação da produção de substâncias ativas, em resposta à condição de estresse, é chamada de elicitação, ou seja, a biossíntese induzida ou aperfeiçoada de metabólitos em resposta à aplicação de pequenas quantidades de elictores (NAIK; AL-KHAYRI, 2016; RADMAN et al., 2003).

**Figura 2.** Representação estilizada e esquemática da elicitação promovida pela ação de herbivoria e fatores abióticos. FONTE: HEATH et al., 2013



Os elicitores podem ser divididos em bióticos e abióticos. Os bióticos são as substâncias de origem biológica, como proteínas, carboidratos, rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, fungos, hormônios e outros. E os abióticos abrangem os fatores de origem não biológica como: elementos químicos, temperatura, luz, salinidade, condição de seca, etc. (NAIK; AL– KHAYRI, 2016; THAKUR et al., 2019).

O estresse e vários elicitores, podem favorecer a biossíntese e/ou aumento da produção de metabólitos especializados pela planta (AKULA; RAVISHANKAR, 2011). Diante desta afirmação, a elicitação é reconhecida como a estratégia mais viável, quando comparada ao uso de plantas geneticamente modificadas, para aumentar a produtividade de compostos secundários desejáveis, a partir de células, órgãos e sistemas de plantas. As plantas evoluíram seus processos de adaptação para responder a condições ambientais atuais, através da grande engenharia de sinalização bioquímica induzida por elicitores, resultando numa resposta de defesa na planta (CAICEDO-LÓPEZ et al., 2021).

A utilização de elicitores apresenta vários benefícios diretos para a produtividade agrícola, tais como redução de danos causados por microrganismos, insetos praga e herbívoros; atração de insetos polinizadores e predadores das pragas; redução de lesões causadas por fatores ambientais. Também podem promover o acúmulo de compostos bioativos, que são usados como nutracêuticos em humanos, com efeito positivo sobre a saúde (CAICEDO- LÓPEZ et al., 2021).

Dentre as dificuldades relacionadas ao uso de elicitores, pode se destacar o controle das condições ambientais, que podem expor as plantas a uma condição de estresse, implicando na interação de várias respostas fisiológicas e metabólicas da planta. Portanto, o uso de elicitores tem se restringido a ambientes controlados (CAICEDO- LÓPEZ et al., 2021).

Entretanto, pesquisas realizadas em campo onde há condições adversas de intensidade luminosa, ventos, pluviosidade, contato com polinizadores, componentes biológicos, químicos e físicos do solo, etc., correspondem às condições ambientais mais próximos aos existentes em cultivos comerciais de plantas medicinais (SILVA, 2017). Porém, é importante saber as concentrações de elicitores, duração da exposição, linhagem celular, composição de nutrientes e idade ou estágio da cultura, que podem favorecer o aumento da produção de biomassa e acúmulo de metabólitos especializados pelas plantas (NAIK; AL–

KHAYRI, 2016).

Os metabólitos especializados (óleos voláteis, flavonóides, alcalóides, glicosídeos, taninos, resinas, etc.) sintetizados pelas plantas no processo de adaptação ao meio ambiente e às condições de estresse (AKULA; RAVISHANKAR, 2011), são usados como nutracêuticos em humanos, com efeito positivo sobre a saúde (CAICEDO- LÓPEZ et al., 2021). Assim, a elicitação reflete na melhoria da produção dos metabólitos especializados, e permite a exploração de uma nova área de pesquisa que pode trazer benefícios econômicos significativos para a indústria farmacêutica, química e alimentícia (THAKUR et al., 2019).

#### *1.4.1. Biossíntese de compostos fenólicos sob condições de estresse metálico*

A modernização nos setores urbanos e industriais, bem como práticas inadequadas de produção agrícola, têm desencadeado a contaminação da água, do solo e do ar por elementos potencialmente tóxicos. O estresse metálico afeta o crescimento; as reações fotossintéticas; a absorção, transporte e metabolismo dos nutrientes; além de promover outras alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas (CHANDRASEKHAR; RAY, 2019; LAJAYER; GHORBANPOUR; NIKABADI, 2017; LIU et al., 2018; VENKATACHALAM et al., 2017).

As plantas sintetizam metabólitos especializados em ambientes onde existam metais no solo, entre outros fatores bióticos e abióticos (NASIM; DHIR, 2010), desencadeando diversas alterações fisiológicas (JALMI et al., 2018; LI et al., 2013; MITHÖFER; SCHULZE; BOLAND, 2004). Tais modificações acontecem de forma direta e indireta, fazendo com que as plantas aumentem a produção de compostos secundários (LI et al., 2013; MITHÖFER; SCHULZE; BOLAND, 2004).

O estresse por elementos potencialmente tóxicos é descrito como o mais prejudicial ao desenvolvimento das plantas, e também o responsável por induzir o aumento da biossíntese dos compostos fenólicos (NASIM; DHIR, 2010; GILL, 2014). Alguns estudos demonstram que os poluentes metálicos (chumbo, alumínio e cádmio) estão entre os que apresentam boa persistência no solo e bioacumulação nos organismos vivos, podendo ser facilmente inseridos na cadeia alimentar, e portanto causar prejuízos à saúde humana.

Concentrações de Cd (5, 10, 15, 20 e 25 ppm) e Pb (100, 350, 750, 1000 e 1500 ppm) adicionadas no solo de cultivo do experimento executado em laboratório, proporcionaram a redução dos pesos fresco e seco de *O. basilicum*

(Youssef, 2020). Hatamian et al. (2019) observaram que mudas de *Cercis siliquastrum* com um ano de idade, irrigadas por dois anos com soluções Pb (15 ou 30 mg L<sup>-1</sup>) combinadas ou não com Cd (5 mg L<sup>-1</sup>), aumentou o número de folhas cloróticas e necróticas, reduziu a área foliar média, o crescimento de novos brotos, e à taxa fotossintética. Os elementos Cd, Pb, cromo (Cr), cobre (Cu), e níquel (Ni) adicionados à solução nutritiva na concentração de 100 µM, no cultivo hidropônico de *Nicotiana glauca* L. causaram impactos negativos na fisiologia da planta, pigmentos fotossintéticos, maior peroxidação lipídica, e teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (KHAN et al., 2020).

Plantas de *Lactuca sativa* L. (alface) cultivadas em soluções nutritivas contendo concentrações de cádmio (3, 6 e 9 mmol L<sup>-1</sup>) tiveram o seu crescimento atrofiado, mudanças morfológicas (plantas mais esféricas e de cor amarela), e diminuição na massa da matéria seca das plantas (KOLAH et al., 2019). Em plantas de *Physalis angulata* L. o Al se concentrou em maior quantidade nas raízes das plantas, o que resultou na redução de micronutrientes importantes (cálcio, magnésio, ferro e zinco), nas folhas (ABREU et al., 2021). Diante disso, vem-se discutindo muito sobre o acúmulo e a toxicidade dos metais nas plantas (TIWARI; LATA, 2018; JALMI et al., 2018; AHMAD et al., 2018 a,b).

Vários estudos relatam a toxidez de plantas causada pelos metais alumínio (Al), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), mesmo em concentrações micromolares, no meio de cultivo. O alumínio afeta inicialmente o sistema radicular; o chumbo, devido à sua baixa mobilidade, pode se concentrar nas raízes de plantas tolerantes; e, o cádmio é facilmente absorvido e translocado para as partes da planta, podendo, desta forma, influenciar as reações metabólicas. Contudo, essas reações de toxicidade podem variar em relação ao tipo, mobilidade e translocação do metal para as partes da planta (CHANDRASEKHAR; RAY, 2019; KUMAR; PRASAD, 2018; LIU et al., 2018; MANQUIÁN-CERDA et al., 2018; VENKATACHALAM et al., 2017).

Plantas expostas a ambientes que apresentam elementos potencialmente tóxicos, podem sintetizar compostos com capacidade antioxidante, e promover o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SINGH et al., 2015), resultando no aumento da peroxidação lipídica e da atividade enzimática (OVEČKA; TAKÁČ, 2014). Dentre os metabólicos sintetizados podem estar os compostos fenólicos e

flavonoides, que são moléculas anfipáticas, que irão atuar como quelantes dos metais; em outros termos, eles irão fixar os íons metálicos formando um complexo solúvel e não tóxico, em resposta à exposição da planta a esses elementos (PAWLAK- SPRADA et al., 2011).

As adaptações das plantas, inclusive as medicinais, em ambientes onde existem metais no solo, podem variar conforme a influência de outros fatores, incluindo a espécie de planta. *Mentha arvensis* L., nutridas com 0,05g zinco(Zn)/m<sup>3</sup>, apresentaram um incremento na produção de matéria seca, teores de óleo essencial e de mentol. Em contrapartida, as soluções nutritivas com concentrações deficientes e tóxicas de Zn, diminuíram o rendimento da planta e os teores de óleo e mentol (MISRA, 1992). Resultado semelhante foi obtido por Jezler e colaboradores (2015), na avaliação dos efeitos de chumbo(Pb) e cádmio (Cd), onde concentrações crescentes de 8, 16, 32, 64 e 128 mg kg<sup>-1</sup> não foram suficientes para afetar o crescimento e a produção na composição do óleo essencial de *M. arvensis*.

O aumento das concentrações/níveis dos metais cádmio e chumbo no solo promovem uma reação positiva nos teores de compostos ativos do óleo essencial de *O. basilicum* L. (FATTAHIA et al., 2019). Ghorbanpour et al. (2016), também, obtiveram resultados positivos em relação ao crescimento, rendimento de óleos essenciais e dos compostos linalol e metil chavicol, quando se combinaram diferentes níveis de cobre (Cu) e zinco (Zn).

Vários estudos sobre o cultivo de manjerição em solos contaminados com metais potencialmente tóxicos podem ser encontrados na literatura, demonstrando o potencial fitoextrator e a translocação desses elementos para as partes da planta (ALAMO-NOLE; SU, 2017; DINU et al., 2020; LAJAYER et al., 2017; SKRYPNIK; NOVIKOVA; TOKUPOVA, 2019; ZAHEDIFAR et al., 2019; YOUSSEF, 2020).

O manjerição apresenta baixo custo de produção; alta produção de biomassa (LAJAYER et al., 2017); maior captação/absorção de metais pelos tecidos radiculares (DINU et al., 2020); aumento significativo de metabólitos especializados em condições de estresse (LAJAYER et al., 2017); transferência da quantidade de metais abaixo do índice aceitável pela legislação, durante o processo de extração por destilação a vapor (FATTAHI et al. 2019). Portanto o cultivo é uma alternativa ecologicamente viável, para remover (remediar) ou reduzir a



concentração de poluentes metálicos do ambiente, além de permitir ganhos econômicos com a produção de óleo essencial (YOUSSEF, 2020).

Estudos explicam os efeitos positivos da elicitación promovida pelos metais no crescimento e rendimento de compostos bioativos; importantes fatores que trazem benefícios econômicos para as indústrias de fármacos e aromatizantes naturais (ĐOGIĆ et al., 2017; FATTAHIA et al., 2019; KORKMAZ et al., 2018; PADASH et al., 2019). Portanto, pode-se correlacionar o estresse por metais com a produção de substâncias bioativas, devido a possível ação estimulante resultante da elevação dos teores destas substâncias em seus tecidos (PAWLAK-SPRADA et al., 2011).

Contudo as informações acerca da influência de fatores abióticos na produção de substâncias ativas proveniente do cultivo hidropônico de *O. basilicum*, ainda é controversa. Sendo necessário aprofundar os estudos do comportamento das plantas cultivadas em ambiente controlado, como no sistema hidropônico; concentrações limite de diferentes elementos químicos, que favoreçam o desenvolvimento da planta, sem prejudicar o meio ambiente e a saúde humana.

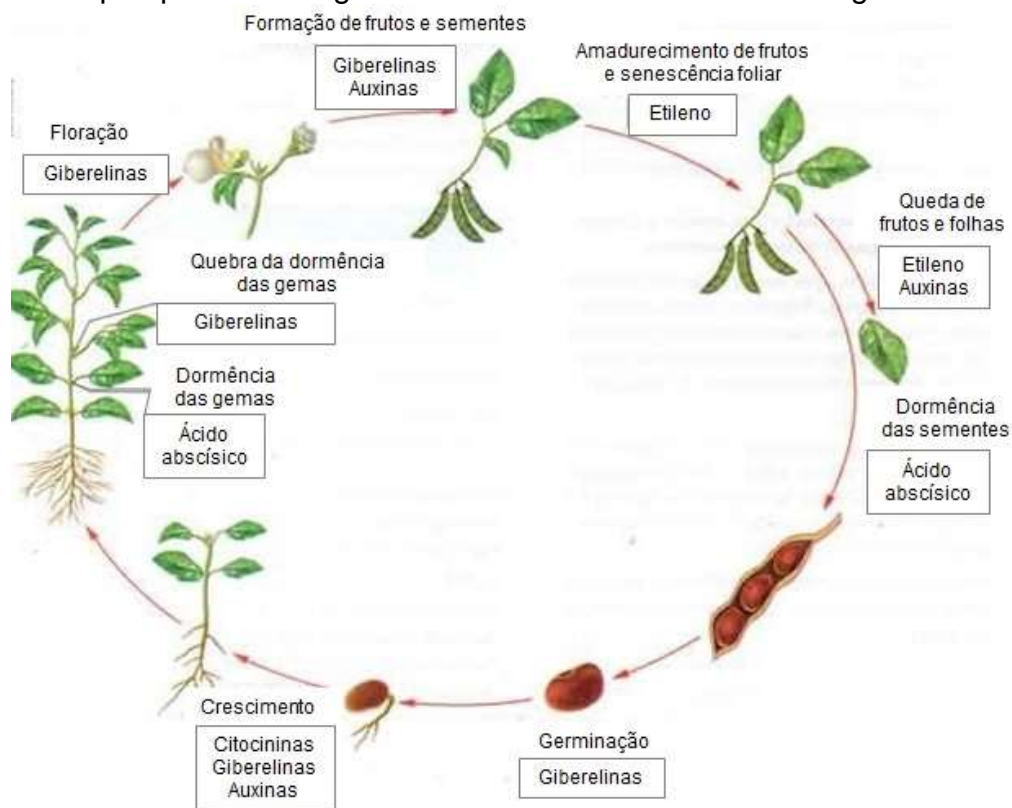
#### 1.4.2. Respostas metabólicas à aplicação exógena de reguladores de crescimento de plantas (RCP)

Reguladores de crescimento de plantas (RCP) podem ser naturais ou sintéticos. Os naturais são chamados de hormônios ou fitohormônios e, atuam como mensageiros químicos, carreando sinais para tecidos-alvo específicos, com o objetivo de regular as respostas fisiológicas, bioquímicas e/ou moleculares das plantas, frente às condições adversas do meio (NAIK; AL-KHAYRI, 2016). Os RCP-sintéticos são conhecidos por estimular o crescimento e as atividades biossintéticas e, como podem ser aplicados de forma exógena, constituem mais uma opção para regular a biossíntese de compostos ativos economicamente importantes (AHMAD et al., 2019).

Os principais reguladores de crescimento endógenos conhecidos são: auxinas (AIA), giberelinas (GA), citocininas, ácido abscísico (ABA) e etileno (TAIZ et al., 2017). Estas substâncias influenciam na alocação e partição de fotossintatos, que são translocados para áreas de metabolismo intenso ou órgãos de reserva denominados dreno (FIGURA 3). A ação contra a herbivoria, ataque de patógenos, e condições abióticas podem alterar a alocação e a partição de fotoassimilados

(TAIZ et al., 2017).

**Figura 3.** Funções dos hormônios vegetais no ciclo de vida das plantas (FONTE: <https://planetabiologia.com/fitohormonios-hormonios-vegetais-resumo/>).



Alguns RCP como auxinas, giberelinas, citocininas, tem sido promissores no estímulo do crescimento das plantas ou na redução do estresse não-biótico. A concentração desses reguladores, estado fisiológico da planta e fatores ambientais (como a luz e a disponibilidade de água), podem promover o aumento da biomassa, através da modulação e expansão da parede celular mediante alteração do aumento irreversível do volume celular, auxiliando o processo de adaptação das plantas e, reduzindo assim, os efeitos negativos (ROSTAMI; AZHDARPOOR, 2019).

Os RCP apresentam relevante papel na agricultura devido a promoção de ação específica como o aumento da tolerância ao estresse biótico e abiótico, adaptação morfológica da planta às condições adversas do meio, melhoria da produtividade dos constituintes economicamente importantes (RADEMACHER, 2015).

Segundo Lazzarini et al. (2019) os RCP atuam como moléculas

sinalizadoras no metabolismo vegetal. Eles promovem respostas fisiológicas que desencadeiam uma série de alterações celulares, que regulam o crescimento e o desenvolvimento de órgãos ou tecidos. No estudo da organogênese *in vitro* e do crescimento de mudas *O. basilicum* “genovese”, o tratamento com 0,2 mg L<sup>-1</sup> de benzilaminopurina (BAP) melhorou o número e o comprimento das gemas radiculares, e foram obtidos um incremento na massa fresca e seca de raiz com o uso de 0,3 mg. L<sup>-1</sup> BAP e 0,6 mg. L<sup>-1</sup> ácido a-naftaleno acético (ANA) (TRETTEL et al., 2019).

Estudos têm demonstrado que a utilização de RCP, *in vivo* ou *in vitro*, influenciam, quantitativamente na produção de metabólitos secundários, podendo ser eficiente na biossíntese de compostos medicinais específicos, quando usados sozinhos ou combinados a outros reguladores (JAMWAL; BHATTACHARYA; PURI, 2018). Esta afirmativa foi comprovada no trabalho de Lazzarini et al. (2019), onde a combinação de RCP afetou o crescimento, como também o número, conteúdo e perfil de compostos voláteis de *Lippia gracilis* Schauer, cultivadas *in vitro*. Segundo Monforta et al. (2018) a cultura de tecidos vegetais, sob suplementação de RCP no meio, melhora a produção de biomassa, como também influencia na biossíntese de constituintes voláteis de mudas de *O. basilicum*.

Hamad et al. (2019) comprovou o efeito eliciador do GA<sub>3</sub> no cultivo de *Mentha piperita* L., propiciando o incremento significativo do crescimento, das atividades enzimáticas, dos atributos fotossintéticos, e melhorando assim os rendimentos das substâncias ativas de interesse comercial. A aplicação exógena do RCP, metil jasmonato (MeJa), também melhorou a biossíntese e a atividade antioxidante de fitoquímicos em *Stevia rebaudiana* Bertoni (LUCHO et al., 2019).

A utilização de ácido abscísico (ABA) e GA<sub>3</sub> em videira cv. Malbec resultou no aumento da biossíntese de metabólitos primários e secundários; mas o tratamento com GA<sub>3</sub> pode ter contribuído para o bloqueio da biossíntese de polifenóis na planta, especialmente nos frutos (MURCIA et al., 2017).

Hazzoumi e colaboradores (2014) relataram variação do rendimento, conteúdo e faixa dos constituintes do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L, a partir da aplicação de ácido giberélico (GA), ácido indol 3-acético (IAA) e benzilaminopurina (BAP).

Os RCP na maioria das vezes favorecem a regulação dos processos ativos

da planta, ajustando o metabolismo às condições adversas do meio (RADEMACHER, 2015). Sendo desta forma, um importante recurso a ser utilizado no processo de elicitação, com o objetivo de melhorar as características morfológicas e bioquímicas, bem como as propriedades medicinais das plantas.

#### 1.4.3. *Aplicação de ácido giberélico em plantas (GA<sub>3</sub>), na regulação de metabólitos secundários*

As giberelinas (GA) foram reconhecidas, pela primeira vez em 1926, e isoladas como produtos naturais no fungo *Gibberella fujikuroi* (chamado, atualmente de *Fusarium fujikuroi*), na década de 1930. As GA compreendem um grande número de compostos, todos ácidos tetracíclicos (quatro anéis) diterpenoides, nos quais se destacam o GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> e GA<sub>7</sub>, por apresentarem atividade biológica intrínseca (TAIZ et al., 2017).

As GA compreendem centenas de componentes que regulam o crescimento e desenvolvimento de diferentes órgãos da planta como: germinação de sementes, transição e diferenciação dos órgãos responsáveis pelo florescimento, desenvolvimento do fruto e, expressão gênica (RABIEI; BAHADOR; KORDROSTAMI, 2018; TAIZ et al., 2017).

Dentre as GA produzidas pelo fungo *F. fujikuroi*, o mais abundante é o ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), que pode ser obtido comercialmente para uso horticultural e agrônomico. A sua principal função é a promoção da divisão e alongamento celular, favorecendo o alongamento de entrenós em plântulas anãs (TAIZ et al., 2017).

Segundo TAIZ et al. (2017) a aplicação exógena de GA<sub>3</sub> favorece o afinamento do caule; promove a diminuição da área foliar e o clareamento da pigmentação verde da folha; regula a transição da fase juvenil para a adulta, resultando no florescimento precoce.

No estudo com plantas da espécie *Mentha arvensis* L., conhecida como hortelã, a aplicação exógena de GA<sub>3</sub> afetou, consideravelmente, os atributos de crescimento da planta, biomassa da planta e a produtividade do óleo. Também, foi observado o aumento da densidade, diâmetro e número total de tricomas glandulares (estruturas secretoras especializadas que contêm grande variedade de terpenos) por folha (BOSE et al., 2013). Do mesmo modo, unidades de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) apresentaram uma melhoria nos atributos de crescimento, nas atividades enzimáticas e fotossintéticas, como também, no

conteúdo e composição do óleo essencial (AHMAD et al., 2019).

Rabiei e colaboradores (2018) confirmaram a eficiência da aplicação exógena de ácido giberélico ( $GA_3$ ) em *Thymus vulgaris* (tomilho), na distensão do internódio, na expressão de genes de monoterpeno e, na produção e aumento de monoterpenos, especialmente na concentração de 60 ppm de  $GA_3$ . Outra planta da família Lamiaceae (*Ajuga integrifolia* Buch. Ham. ex D. Don), também, apresentou uma resposta positiva, em relação ao aumento de biomassa com aplicação de  $GA_3$ . Contudo o teor de compostos bioativos e suas respectivas atividades biológicas foram mais promissoras com a aplicação do ácido salicílico (ABBASI et al., 2020).

A aplicação foliar de 5 e 10 ppm de  $GA_3$  em amora-preta Jumbo favoreceu o incremento na acidez, no teor de sólidos solúveis (SSC), na atividade antioxidante total e, no teor de fenólicos e flavonóides totais dos frutos (ÇOLAK, 2018).

Pulverizações de 100 e 200 ppm de  $GA_3$  em manjeriço, realizadas 30 e 60 dias após o transplante, resultou na melhoria das características morfológicas da planta (altura, número de folhas, área foliar e biomassa), como também, no conteúdo dos componentes ativos, incluindo fenóis totais, flavonas totais e ácido L-ascórbico, resultando no aumento do teor e rendimento do óleo essencial (ABDEL-HAMID, 2020).

Recentemente, o  $GA_3$  tem sido investigado por diversos pesquisadores, e os mesmos tem comprovado a eficiência deste RCP na melhoria do metabolismo primário e secundário, como por exemplo, aumento do crescimento e absorção de nutrientes em *Salvia officinalis* (MOREIRA et al., 2022); melhoria do teor dos compostos bioativos de *Fragaria* spp. (GUNDOGDU et al., 2021); acúmulo de biomassa estimulando o crescimento da parte aérea de *Ajuga integrifolia* (ABBASI et al., 2020); promoção do crescimento e desenvolvimento das mudas de *O. basilicum* (CASTRO et al., 2020), como também incremento do desenvolvimento e das atividades metabólicas de plantas da mesma espécie (FERNANDES; DAVID, 2019).

Portanto, a elicitação por meio da aplicação exógena de  $GA_3$ , tem sido uma técnica adequada para regular o crescimento, desenvolvimento e a biossíntese de metabólitos especializados em plantas de manjeriço. Contudo vale ressaltar, que os resultados apresentados nas pesquisas são controversos, devido as

influências das condições bióticas e abióticas do ambiente de cultivo. Desta forma, faz-se necessário desenvolver estudos que complementem as informações existentes, para compreender o efeito de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), nas características agronômicas e na biossíntese de compostos fenólicos e flavonoides totais de plantas de *Ocimum basilicum* L., cultivadas em ambiente de casa de vegetação.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. B.; RIBEIRO, M. O.; PINHO, C. S.; CARNEIRO, C. N.; AZEVEDO NETO, A. D. A.; SOUZA, M. O.; *et al.* Exploratory analysis in the evaluation of stress due to aluminum presence in *Physalis angulata* L. and multielement determination by microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIPOES). **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 28, n. 5, p. 5598–5608, feb. 2021.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals: Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, n.7, p.869-881, may 2013.

ABBASI, B. H.; ULLAH, M. A.; NADEEM, M., TUNG MUNNITHUM, D.; HANO, C. Exogenous application of salicylic acid and gibberellic acid on biomass accumulation, antioxidant and anti-inflammatory secondary metabolites production in multiple shoot culture of *Ajuga integrifolia* Buch. Ham. Ex D. Don. **Ind. Crops Prod.**, v.145, n. 112098, mar. 2020.

ABDEL-HAMID, A. N. Effect of benzyl adenine, indole acetic acid and gibberellic acid on vegetative growth, chemical constituents and volatile oil attributes of sweet basil plants. **Egypt. J. Hort.**, v.47, n.1, p.41-56, apr. 2020.

AÇIKGÖZ, M. A. Establishment of cell suspension cultures of *Ocimum basilicum* L. and enhanced production of pharmaceutical active ingredients. **Ind. Crops Prod.**, v.148, n. 112278, jun. 2020.

AHMAD, J.; BAIG, M. A.; ALI, A. A.; AL-HUQAIL, A. A.; IBRAHIM, M. M.; QURESHI, M. I. Differential antioxidative and biochemical responses to aluminium stress in *Brassica juncea* cultivars. **Hortic. Environ. Biotechnol.**, v.59, p.615– 627, aug. 2018a.

AHMAD, J.; BAGHERI, R.; BASHIR, H.; BAIG, M. A.; AL-HUQAIL, A.; IBRAHIM, M. M.; *et al.* Organ-Specific Phytochemical Profiling and Antioxidant Analysis of *Parthenium hysterophorus* L. **Hortic. Environ. Biotechnol.**, v. 2018, n. 9535232, p.1-10, jun. 2018b.

AHMAD, B., JALEEL, H., SHABBIR, A., KHAN, M.M.A., SADIQ, Y. Concomitant application of depolymerized chitosan and GA<sub>3</sub> modulates photosynthesis, essential oil and menthol production in peppermint (*Mentha piperita* L.). **Sci.Hortic.**, v. 246, p. 371–379, fev. 2019.

AHMED, A. F.; ATTIA, F. A. K.; LIU, Z.; LI, C.; WEI, J.; KANG, W. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. **Food Sci. Human Wellness**, v.145, p.1-7, aug.2019.

AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signal. Behav.**, v.6, n.11, p.1720-1731, nov. 2011.

ALAMO-NOLE, L.; SU, Y-F. Translocation of cadmium in *Ocimum basilicum* at low concentration of CdSe nanoparticles. **Appl. Mater. Today**, v.9, p.314–318, dec. 2017.

AYE, A.; JEON, Y-D.; LEE, J-H.; BANG, K-S.; JIN, J-S. Anti-inflammatory activity of ethanol extract of leaf and leaf callus of basil (*Ocimum basilicum* L.) on RAW 264.7 macrophage cells. **Oriente Farm. Exp. Med.**, v.19, p.217–226, apr. 2019.

BAHCESULAR, B.; YILDIRIM, E. D.; KARAÇOCUK, M.; KULAK, M.; KARAMAN, S. Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. **Ind. Crops Prod.**, v.146, n. 112165, apr. 2020.

BAIS, H. P.; WALKER, T. S.; SCHWEIZER, H. P.; VIVANCO, J. M. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. **Plant Physiol. Biochem.**, v.40, n.11, p.983–995, nov. 2002.

BISWAS, T. Elicitor induced increased rosmarinic acid content of *in vitro* root cultures of *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). **Plant Sci. Today**, v.7, n.2, p. 157-163, 2020.

BOSE, S. K.; YADAV, R. K.; MISHRA, S.; SANGWAN, R. S.; SINGH, A. K. MISHRA, B.; *et al.* Effect of gibberellic acid and calliterpenone on plant growth attributes, trichomes, essential oil biosynthesis and pathway gene expression in differential manner in *Mentha arvensis* L. **Plant Physiol. Biochem.**, v.66, p.150-158, may 2013.

BURDUCEA, M.; ZHELJAZKOV, V. D.; LOBIUC, A.; PINTILIE, C. A.; VIRGOLICI, M.; SILION, M.; *et al.* Biosolids application improves mineral composition and phenolic profile of basil cultivated on eroded soil. **Sci. Hortic.**, n.249, p. 407–418, apr. 2019.

CAICEDO-LÓPEZ, L. H.; ARANDA, A. L. V.; LA O, D. S.; GÓMEZ, C. E. Z.; MÁRQUEZ, E. E.; ZEPEDA, H. R. Elicidores: implicações bioéticas para agricultura e a saúde humana. **Rev. Bioét.**, v. 29, n. 1, p. 76-86, 2021.

CASTRO, L. S.; NOBRE, D. A. C.; HURTADO, D. A. V.; MACEDO, W. R. Bioregulators on seed germination and seedling growth of sweet basil. **Comum. Sci.**, v. 11, n. e3324, jun. 2020.

CHANDRASEKHAR, C., RAY, J.G. Lead accumulation, growth responses and biochemical changes of three plant species exposed to soil amended with different concentrations of lead nitrate. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.171, p.26-36, apr. 2019.

CHIANG, L.-C., NG, L.-T., CHENG, P.-W., CHIANG, W., LIN, C. C. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. **Clin. Exp. Pharm. Physiol.**, v. 32, p. 811–816, may. 2005.

CHOWDHARY, K.; KUMAR, A.; SHARMA, S.; PATHA, R.; JANGIR, M. *Ocimum* sp.: Source of biorational pesticides. **Ind. Crops Prod.**, v.122, p.686–701, oct.2018.

ÇOLAK, A.M. Effect of melatonin and gibberellic acid foliar application on the yield and quality of Jumbo blackberry species. **Saudi J. Biol. Sci.**, v.25, n.6, p. 1242-1246, sep. 2018.

DINU, C.; VASILE, G.-G., BULEANDRA, M., POPA, D. E., GHEORGHE, S., UNGUREANU, E.-M. Translocation and accumulation of heavy metals in *Ocimum basilicum* L. plants grown in a mining-contaminated soil. **J. Soils and Sediments**, v. 20, n. 4, p. 2141–2154. jan. 2020.

DOGIĆ, S.; DŽUBUR, N.; KARALIJA, E.; PARIĆ, A. Biochemical responses of basil to aluminium and cadmium stresses. **Acta Agric. Serbica**, v.22, n. 43, p.57-65, dec. 2017.

EL-GHFFAR, E. A. A.; AL-SAYED, E.; SHEHATA, S. M.; ELDAHSHAN, O. A.; EFFERTH, T. Protective role of *Ocimum basilicum* L. (Basil) against aspirin- induced gastric ulcer in mice: Impact on oxidative stress, inflammation, motor deficits and anxiety-like behavior. **Food Funct.**, v.9, n. 8, p.4457-4468, aug. 2018.

FATTAHIA, B.; ARZANIA, K., SOURIA, M. K., BARZEGARB, M. Effects of cadmium and lead on seed germination, morphological traits, and essential oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Ind. Crops Prod.**, v.138, n.111584, p.1-9, oct. 2019.

FERNANDES, A. C. S. S.; DAVID, E. F. S. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cultivada com aplicação de diferentes doses de giberelina via foliar. **F. Rev. AGROFIB**, v. 1, n.1, p. 39-46, abr. 2019.

GHORBANPOUR, M.; ASGARI LAJAYER, H.; HADIAN, J. Influence of copper and zinc on growth, metal accumulation and chemical composition of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Medicinal Plants**, v.15, n.59, p.132-144, 2016.

GILL, M. Heavy metal stress in plants: A review. **International Journal of Advanced Research**, v.2, p.1043-1055, jun. 2014.

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

GÜEZ, C. M.; SOUZA, R. O.; FISCHER, P.; LEÃO, M. F. M.; DUARTE, J. A.; BOLIGON, A. A., et al. Evaluation of basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on oxidative, anti-genotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agents. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.53, n.1, e15098,



apr. 2017.

GUNDOGDU, M.; BERK, S.; YILDIZ, K.; KAKI, B.; TUNA, S.; CANAN, I.; OKATAN, V. Influence of foliar application with gibberellic acid on phenolic and bioactive compounds of strawberry fruits. **Erwerbs-Obstbau**, v. 63, p.15–23, jan. 2021.

HAMEED, A.; QADRI, T.N.; MAHMOODUZZAFAR; SIDDIQI, T.O. **Plant Tolerance and Fatty Acid Profile in Responses to Heavy Metals**. In: AHMAD, P.; PRASAD, M. N. V. (eds.). *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*. New York: Springer Science/Business Media, p.369-386, 2012.

HARLEY, R. M. Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon. Rio de Janeiro: **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 129-144, jan-mar 2012.

HASSANZADEH, M. K.; EMAMI AND J. ASILI, S. A.; TAYARANI NAJARAN, Z. Review of the essential oil composition of Iranian Lamiaceae. **J. Essent. Oil Res.**, v. 23, n. 1, p. 1-40, dez. 2011.

HATAMIAN, M.; NEJAD, A. R.; KAFI, M.; SOURI, M. Z.; SHAHBAZI, K. Growth characteristics of ornamental judas tree (*Cercis siliquastrum* L.) seedlings under different concentrations of lead and cadmium in irrigation water. **Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus**, v. 18, n. 2, p. 87–96, 2019.

HAZZOUMI, Z.; MOUSTAKIME, Y.; JOUTEI, K. A. Effect of gibberellic acid (GA), indole acetic acid (IAA) and benzylaminopurine (BAP) on the synthesis of essential oils and the isomerization of methyl chavicol and trans-anethole in *Ocimum gratissimum* L. **SpringerPlus**, v.3, article 321, p. 1-7, jun. 2014.

HEATH, J. J., CIPOLLINI, D. F., & STIREMAN III, J. O. The role of carotenoids and their derivatives in mediating interactions between insects and their environment. **Arthropod-Plant Interact.**, v.7, n.1, p. 1–20, dec. 2012.

JAKOVLJEVIĆ, D., TOPUZOVIĆ, M., STANKOVIĆ, M. Nutrient limitation as a tool for the induction of secondary metabolites with antioxidant activity in basil cultivars. **Ind. Crops Prod.**, v. 138, n. 111462, oct. 2019.

JALMI, S.K., BHAGAT, P.K., VERMA, D., NOR YANG, S., TAYYEB A, S., SINGH, K., SHARMA, D., SINHA, A.K. Traversing the links between heavy metal stress and plant signaling. **Front. Plant Sci.**, v.9, n.12, feb. 2018.

JAMWAL, K.; BHATTACHARYA, S.; PURI, S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. **J. Applied Res. Medic. Arom. Plant.**, v.9, p.26-38, may 2018.

JEZLER, C. N.; MAGABEIRA, P. A. O.; ALMEIDA, A-A. F.; JESUS, R. M.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, D. C.; *et al.* Pb and Cd on growth, leaf ultrastructure and essential oil yield mint (*Mentha arvensis* L.). Santa Maria: **Ciência Rural**, v.45, n.3, p.392-398, mar. 2015.

KALAIVANI, K., SENTHIL-NATHAN, S., MURUGESAN, A. G. Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitol Res.**, v.110, n.3, p.1261–1268, set. 2012.

KASOTE, D. M.; KATYARE, S. S.; HEGDE, M. V.; BAE, H. Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. **Int.J. Biol. Sci.**, v.11, n.8, p.982-991, jun. 2015.

KAYA, I.; YIGIT, N.; BENLI, M. Antimicrobial activity of various extracts of *Ocimum basilicum* L. and observation of the inhibition effect on bacterial cells by use of scanning electron microscopy. **Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.**, v. 5, n. 4, p. 363-369, Jun. 2008.

KHAN, A. H. A.; NAWAZ, I.; QU, Z., BUTT, T. A.; YOUSAF, S.; IQBAL, M. Reduced growth response of ornamental plant *Nicotiana glauca* L. upon selected heavy metals uptake, with co-application of ethylenediaminetetraacetic acid. **Chemosphere**, v. 241, n. 125006, 2019.

KOLAH, M.; MOHAJEL KAZEMI, E.; YAZDI, M.; GOLDSON-BARNABY, A. Oxidative stress induced by cadmium in lettuce (*Lactuca sativa* Linn.): Oxidative stress indicators and prediction of their genes. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 146, n. 1, p. 71-89, oct. 2019.

KORKMAZ, K.; ERTURK, O.; AYVAZ, M. C.; OZCAN, M. M.; AKGUN, M.; KIRLI, A.; *et al.* Effect of cadmium application on antimicrobial, antioxidant and total phenolic content of basil genotypes. **Indian J. Pharmac. Educ. Res.**, v.52, p.S108-S114, aug. 2018.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; KADUKOVÁ, J.; BACKOR, M. Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.72, n.2, p.603-609, feb. 2009.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnol. Rep.**, v.24, n. e00370, dec. 2019.

KUMAR A., PRASAD M. Plant-lead interactions: transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.166, p.401–418, dec. 2018.

KWEE, E.M.; NIEMEYER, E.D. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. Easton: **Food Chem.**, v.128, n. 4, p.1044-1050, oct. 2011.

LAJAYER, BA, GHORBANPOUR, M., NIKABADI, S. Heavy metals in contaminated environment: destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.145, p.377–390, nov. 2017.

LAZZARINI, L. E. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A.; SANTIAGO, A. C.; PACHECO, F. V.; FERREIRA CÉLIO, M. M.; *et al.* Growth regulators affect the dry weight production, carvacrol and thymol content of *Lippia gracilis* Schauer. **Ind. Crops Prod.**, v.129, p.35–44, mar. 2019.

LEE, J.; SCAGEL, C.F. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Food Chem.**, v.115, n.2, p.650-656, jul. 2009.

LI, J.; OU-LEE, T-M.; RABA, R.; AMUNDSON, R. G.; LAST, R. L. Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. **Plant Cell**, Vol. v.5, n.2, p.171-179, feb. 1993.

LI, X.; WANG, S.; GUO, L.; HUANG, L. Effect of cadmium in the soil on growth, secondary metabolites and metal uptake in *Salvia miltiorrhiza*. **Toxic. Environmen. Chem.**, v.95, n.9 p.1525-1538, feb. 2013.

LIU, W.; LI, W.; DAI, C.; LAM, C. W. K.; LI, Z.; CHEN, J-F.; *et al.* Spatial responses of antioxidative system to aluminum stress in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. **Sci. Total Environmen.**, v.627, p.462– 469, jun. 2018.

LÓPEZ, M.D.; JORDÁN, M.J.; PASCUAL-VILLALOBOS, M.J. Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. **J. Stored Prod. Res.**, 44, 273–278, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008. 576 p.

LOUGHRIN, J. H.; KASPERBAUER, M. J. L. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenolic content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **J. Agric. Food Chem.**, v.49, n.3, p. 1331- 1335, 2001.

LUCHO, S. R.; AMARAL, M. N.; LÓPEZ-ORENES, A.; KLEINOWSKI, A. M.; AMARANTE, L.; FERRER, M. A.; *et al.* Plant growth regulators as potential elicitors to increase the contents of phenolic compounds and antioxidant capacity in stevia plants. **Sugar Tech**, v. 21, p. 696–702, sep. 2019.

MANQUIÁN-CERDA, K.; CRUCES, E.; ESCUDEY, M.; ZÚÑIGA, G.; CALDERÓN, R. Interactive effects of aluminum and cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets cultivated in vitro. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v.150, p.320–326, apr. 2018.

MISRA, A. Effect of zinc stress in Japanese mint as related to growth, photosynthesis, chlorophyll content and secondary plant products – the monoterpenes. **Photosynthetica**, v. 26, p. 225-234, 1992.

MISHRA, B.B.; TRIPATHI, S.P.; TRIPATHI, C.P.M. Repellent effect of leaves essential oils from *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) against two major stored grain insect pests of Coleopterons. **Nat.Sci.**, v. 10, p. 50–54, 2012.

MITHÖFER, A., SCHULZE, B., BOLAND, W. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. **FEBS Lett.**, v.566, n.1-3, p.1-5, may 2004.

MONFORT, L. E. F.; BERTOLUCCI, S. K. V.; LIMA, A. F.; CARVALHO, A. A.; MOHAMMED, A.; BLANK, A. F.; *et al.* Effects of plant growth regulators, different culture media and strength MS on production of volatile fraction composition in shoot cultures of *Ocimum basilicum*. **Ind. Crops Prod.**, v.116, p.231–239, jun. 2018.

MOSADEGH, H. TRIVELLINI, A., FERRANTE, A., LUCCHESINI, M., MENSUALI, A. Applications of UV-B lighting to enhance phenolic accumulation of sweet basil. **Sci. Hortic.** v.229, n.9, p.107-116, feb. 2018.

MOUSAVI, M., ZAITER, A., BECKER, L., MODARRESSI, A., BAUDELAIRE, E., DICKO, A. Optimisation of phytochemical characteristics and antioxidative properties of *Foeniculum vulgare* Mill. seeds and *Ocimum basilicum* L. leaves superfine powders using new parting process. **Phytochem. Anal.**, p. 1–10, jun. 2019.

MURCIA, G.; FONTANA, A.; PONTIN, M.; BARALDI, R.; BERTAZZA, G.; PICCOLI, P. N. ABA and GA3 regulate the synthesis of primary and secondary metabolites related to alleviation from biotic and abiotic stresses in grapevine. **Phytochemistry**, v.135, p.34-52, mar. 2017.

NAIK, P. M.; AL-KHAYRI, J. M. **Abiotic and biotic elicitors—role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants.** *In*: SHANKER, A.; SHANKER, C. Abiotic and biotic stress in plants - recent advances and future perspectives. 1 ed. Intech Open Sci., 2016. 768 p.

NASIM, S. A.; DHIR, B. Heavy metal alter the potency of medicinal plants. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v.203, p.139-149, jan. 2010.

OVEČKA, M.; TAKÁČ, T. Managing heavy metal toxicity stress in plants: biological and biotechnological tools. **Biotechnol. Adv.**, v.32, n. 1, p.73-86, jan-feb. 2014.

PADASH, A.; GHANBARI, A.; ASGHARIPOUR, M. R.; JAVAHERI, M. A. Changes in antioxidant enzymes activity and physiological traits by exogenous salicylic acid in basil (*Ocimum basilicum*) under Pb stress. **J. Plant Process Func.**, v.7, p.17- 24, jul. 2019.

PATEL, R.P. SINGH, R., RAO, B. R. R., SINGH, R. R., SRIVASTAVA, A., LAL, R. K. Differential response of genotype x environment on phenology, essential oil yield and quality of natural aroma chemicals of five *Ocimum* species. **Ind. CropsProd.**, v.87, p.210–217, set. 2016.

PAWLAK-SPRADA, S.; ARASIMOWICZ-JELONEK, M.; PODGÓRSKA, M.; DECKERT, J. Activation of phenylpropanoid pathway in legume plants expose to heavy metals: Part I. Effects of cadmium and lead on phenylalanine ammonia- lyase

gene expression, enzyme activity and lignin content. **Acta Biochim. Polonica**, v.58, n. 2, p.211-216, apr. 2011.

PERNA, S.; ALAWADHI, H.; RIVA, A.; ALLEGRINI, P.; PETRANGOLINI, G.; GASPARRI, C.; ALALWAN, T. A.; RONDANELLI, M. *In vitro* and *in vivo* anticancer activity of basil (*ocimum* spp.): current insights and future prospects. **Cancers**, v. 14, n. 2375, p. 1-16, may 2022.

RABIEI, B.; BAHADOR, S.; KORDROSTAMI, M. The expression of monoterpene synthase genes and their respective end products are affected by gibberellic acid in *Thymus vulgaris*. **J. Plant Physiol.**, v.230, p.101-108, nov. 2018.

RADEMACHER, W. Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. **J. Plant. Growth Regul.**, v. 34, p. 845–872, oct. 2015.

RADMAN, R.; SAEZ, T.; BUCKE, C.; KESHVARZ, T. Review: Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnol. Appl. Biochem**, v.37, n.1, p.91–102, feb. 2003.

RASUL, U.; AKHTAR, N. Formulation and in vivo evaluation for anti-aging effects of an emulsion containing basil extract using non- invasive biophysical techniques. **PubMed**, v. 19, n. 5, p. 344 a 350, 2011.

ROCHA, V. L. P.; FAGUNDES, O. S.; ROCHA, V. A. P.; VICENTE, R. E.; RIBEIRO JUNIOR, N. G.; YAMASHITA, O. M.; SILVA, I. V. Anatomia comparada, histoquímica e fitoquímica dos órgãos vegetativos de espécies do gênero *Ocimum* L. (Lamiaceae). **Rev. Ibero Americ. Cienc. Ambient.**, v.11, n.2, p.266-277, fev-mar 2020.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, A.; ÁLVAREZ-GARCÍA, S; GONZÁLEZ-LÓPEZ, O.; SILVA, F.; CASQUERO, P. A. Insecticidal Properties of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon winterianus* against *Acanthoscelides obtectus*, Insect Pest of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Insects**, v.10, n.151, p.1-14, may 2019.

ROSTAMI, S.; AZHDARPOOR, A. The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review. **Chemosphere**, v.220, p.818-827, apr. 2019.

SAKR, S.A.; AL-AMOUDI, W.M. Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on deltamethrin induced nephrotoxicity and oxidative stress in albino rats. **J. Appl. Pharm. Sci.**, v.2, n.5, p.22-27, may 2012.

SCAGEL, C. F.; LEE, J.; MITCHELL, J. N. Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. **Ind. Crops Prod.**, v.127, p.119-128, jan. 2019.

SILVA, G. C.. **Elictores na produção, composição e ação biológica de metabólitos de *Lippia origanoides kunth* (verbenaceae)**. 2017. 114 p. Tese (Doutorado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2017.

SINGH, M.; KUMAR, J.; SINGH, S.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M.; SINGH, M. P. V. V. B. Adaptation strategies of plants against heavy metal toxicity: A Short Review. **Biochem. Pharmacol.**, v.4, n.2, article 1000161, p.1-7, feb. 2015.

SKRYPNIK, L.; NOVIKOVA, A.; TOKUPOVA, E. Improvement of Phenolic Compounds, Essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. **Plants**, v.8, n.11, article 458, p.1-13, oct. 2019.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.15, n.1, p.71-81, jan. 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Ardmmed, 2017. 858 p.

TEOFILOVIĆ, B., GRUJIĆ-LETIĆ, N., GOLOČORBIN-KON, S., STOJANOVIĆ, S., VASTAG, G., GADŽURIĆ, S. Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. **Ind. Crops Prod.**, v.100, p.176- 182, jun. 2017.

THAKUR, M. BHATTACHARYA, S., KHOSLA, P. K., PURI, S. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **J.Appl. Res. Medic. Aromatic Plants**, v.12, p.1–12, mar. 2019.

THIRUMURUGAN, D.; CHOLARAJAN, A.; RAJA, S. S. S.; VIJAYAKUMAR, R. **An Introductory Chapter: Secondary Metabolites**. IN: VIJAYAKUMAR, R.; RAJA, S. S. S. Secondary Metabolites: Sources and applications. 1 ed. Books onDemand, set. 2018, 148 p.

TIWARI, S., LATA, C. Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: an overview. **Front. Plant Sci.**, v.9, article 452, apr. 2018.

TRETTEL, J. R.; NASCIMENTO, A. B.; BARBOSA, L. N.; MAGALHÃES, H. M. *In vitro* organogenesis and growth of *Ocimum basilicum* 'Genovese' (basil) cultivated with growth regulators. **Aust. J. Crop Sci.**, v. 13, n.7, p. 1131-1140, 2019.

VENKATACHALAM, P.; JAYALAKSHMI, N., GEETHA, N., SAHI, S. V., SHARMA, N. C., RENE, E. R., *et al.* Accumulation efficiency, genotoxicity and antioxidant defense mechanisms in medicinal plant *Acalypha indica* L. under lead stress. **Chemosphere**, v.171, p.544–553, mar. 2017.

ZAHEDIFAR, M.; MOOSAVI, A. A.; ZAREI, Z.; SHAFIGH, M.; KARIMIAN, F. Heavy metals content and distribution in basil (*Ocimum basilicum* L.) as influenced by cadmium and different potassium sources. **Int. J. Phytoremediation.**, v.21, n.2, p.1-13, jan. 2019.

ZANGENEH, M. M.; ZANGENEH, A.; SEYDI, N. Evaluation of cutaneous wound healing activity of *Ocimum basilicum* aqueous extract ointment in rats. **Compar. Clinic. Pathol.**, v.28, p.1447–1454, jul. 2019.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Curr. Opin. Food Sci.**, v.8, p.33–42, apr. 2016.

ZŁOTEK, U.; SZYMANOWSKA, U.; KARAŚ, M.; ŚWIECA, M. Antioxidative and anti-inflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves induced by jasmonic, arachidonic and b-aminobutyric acid elicitation. **Inter. J. Food Sci. Technol.** v.51, p.163–170, oct. 2015.

YAROU, B. B.; BAWIN, T.; BOULLIS, A.; HEUKIN, S.; LOGNAY, G.; VERHEGGEN, F. J.; *et al.* Oviposition deterrent activity of basil plants and their Essentials oils against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Environ Sci Pollut Res**, v.25, n.30, p.29880-29888, oct. 2017.

YOUSSEF, N. A. Changes in the morphological traits and the essential oil content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) as induced by cadmium and lead treatments. **Int. J. Phytoremediation**, v. 23, n. 3, p. 291-299, sep. 2020.

WARIKOO, R.; WAHAB, N.; KUMAR, S. Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedesaegypti* L. **Parasitol. Res.**, v.109, n.4, p.1125–1131, mar. 2011.

## CAPÍTULO 1

**Características agronômicas no cultivo de *Ocimum basilicum* L. em resposta a aplicação de ácido giberélico e relação com a biossíntese de compostos fenólicos**



## **Características agrônômicas no cultivo de *Ocimum basilicum* L. em resposta a aplicação de ácido giberélico e relação com a biossíntese de compostos fenólicos**

### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi verificar a influência da aplicação de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) nas características agrônômicas, e na biossíntese de compostos fenólicos de *Ocimum basilicum* L.. As plantas foram submetidas às concentrações de 0, 50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, aplicadas via foliar a cada 10 dias, totalizando cinco aplicações. O experimento foi conduzido em casa de vegetação situada no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus de Cruz das Almas, Bahia-Brasil. As mudas foram produzidas em março de 2019, a partir de sementes de *O. basilicum* cv. Grecco a Palla; e o período de cultivo após o transplante foi de abril a junho de 2019. Noventa dias após a semeadura foi realizada a colheita das plantas. As variáveis avaliadas foram: altura de plantas, diâmetro do caule, número de internódios, número de inflorescências, área foliar, massas fresca e seca de raízes, folhas, e flores, fenólicos totais, e flavonoides totais. As análises dos compostos ativos se deu a partir extratos hidroetanólicos (43% água destilada e etanol 57%) do material vegetal seco, extraídos via ultrassom, e determinação por espectrofotometria. Os dados foram submetidos as análises de variância e multivariada (análise de componentes principais-ACP e análise hierárquica de clusters-AHC), e correlação de Pearson para associação de dados. Conforme os resultados obtidos conclui-se que a aplicação de concentrações crescentes de GA<sub>3</sub>, favoreceu o alongamento da parte aérea e o florescimento precoce, aumentando a biomassa de inflorescências de plantas de *O. basilicum*. Em contrapartida reduziu a biomassa do sistema radicular e das folhas, e diminuiu a área foliar do manjericão cultivado em vaso, sob ambiente de casa de vegetação. em relação ao conteúdo de compostos fenólicos dos extratos hidroetanólicos de manjericão, não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> avaliadas neste estudo.

**Palavras-chave:** ácido giberélico, compostos bioativos, crescimento, florescimento, manjericão.

**Agronomic characteristics in the cultivation of *Ocimum basilicum* L. in response to gibberellic acid application and relationship with the biosynthesis of phenolic compounds.**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to verify the influence of the application of different concentrations of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on agronomic characteristics, and on biosynthesis of phenolic compounds from *Ocimum basilicum* L.. The plants were subjected to concentrations of 0, 50, 100, 150 and 200 mg L<sup>-1</sup> of GA<sub>3</sub>, applied foliarly every 10 days, for a total of five applications. The experiment was conducted in a greenhouse located in the Center for Agricultural Sciences, Environmental and Biological (CCAAB), of the Federal University of the Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas Campus, Bahia-Brazil. The seedlings were produced in March 2019, from seeds of *O. basilicum* cv. Grecco a Palla; and the growing period after transplanting was from April to June 2019. Ninety days after sowing, the plants were harvested. The variables evaluated were: plant height, stem diameter, number of internodes, number of inflorescences, leaf area, fresh and dry masses of roots, leaves, and flowers, total phenolics, and total flavonoids. The analysis of the active compounds was from hydroethanolic extracts (43% distilled water and 57% ethanol) of the dry plant material, extracted ultrasonically, and determination by spectrophotometry. The data were submitted to analysis of variance and multivariate analysis (principal component analysis-PCA and hierarchical analysis of clusters-HCA), and Pearson's correlation for data association. According to the results obtained lead to the conclusion that the application of increasing concentrations of GA<sub>3</sub> favored the elongation of the leaf area and early flowering, increasing the biomass of inflorescences of *O. basilicum* plants. At in contrast, it reduced the biomass of the root system and leaves, and decreased the leaf area of basil grown in pots, grown in pots under greenhouse conditions. In relation to the content of phenolic compounds of the hydroethanolic extracts of basil, there was no significant difference between the different concentrations of GA<sub>3</sub> evaluated in this study.

**Keywords:** gibberellic acid, bioactive compounds, growth, flowering, basil.

## 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Ocimum basilicum* L., pertencente à família Lamiaceae, é um subarbusto aromático e medicinal (CHIANG et al., 2005; HASSANZADEH et al., 2011) conhecida popularmente como alfavaca, alfavaca-cheirosa ou manjericão, é nativa da Ásia tropical e foi introduzida no Brasil pela colônia italiana (SCAGEL et al., 2019).

O manjericão é um importante ingrediente utilizado na alimentação e na indústria de aditivos alimentares que confere aroma e sabor aos produtos (MOSADEGH et al., 2018; TEOFILOVIĆ et al., 2017). Seu óleo essencial é o principal produto natural empregado nas indústrias de aromas, cosméticos, produtos farmacêuticos e terapêuticos (HASSANZADEH et al., 2011; PATEL et al., 2016).

O extrato e o óleo essencial da planta apresentam componentes ativos com ações antioxidante e anti-inflamatória (AYE et al., 2019; GÜEZ et al., 2017; SAKR; AL-AMOUDI, 2012), antimicrobiana (BOZIN et al., 2006), larvicida natural contra o *Aedes aegypti* L. (KALAIVANI et al., 2012; WARIKOO et al., 2011) e inseticida contra *Acanthoscelides obtectus* Say (RODRÍGUEZ- GONZÁLEZ et al., 2019), dentre outros benefícios a saúde humana, animal e de plantas.

Dentre os componentes ativos mais presentes no manjericão, os que têm ação antioxidante bem conhecida, são os polifenóis e os flavonoides (GÜEZ et al., 2017). Esses compostos fenólicos revertem os efeitos de agentes altamente oxidantes, como o peróxido de hidrogênio (GÜEZ et al., 2017), o que traz benefícios à saúde de acordo com o compartimento celular ou tecido de atuação, ou de forma sistêmica, após sua absorção.

A espécie em estudo, cultivada em condições adequadas, propicia alta produtividade, o que favorece a extração do óleo essencial das partes aéreas da planta (caule, folhas e flores) (ABDEL-HAMID, 2020; TREVISAN et al., 2006). Portanto, o crescimento vegetativo, a idade e a variação do número de folhas por ramo lateral dessas plantas tornam-se os principais determinantes fisiológicos da produção de óleo e sua qualidade (BOSE et al., 2013). Contudo a biossíntese dos componentes ativos da planta é resultante das atividades do metabolismo primário e secundário, que são influenciadas pelas diferentes fases de crescimento e desenvolvimento da planta, como também por pressões do meio (KUMAR; GOEL,

2019; THIRUMURUGAN et al., 2018).

A elicitação, biossíntese induzida de metabólitos em resposta à aplicação de pequenas quantidades de elicitores (NAIK; AL-KHAYRI, 2016; RADMAN et al., 2003), é o meio mais viável para aumentar a biossíntese de compostos secundários desejáveis, a partir da utilização de pequena quantidade do elicitor (RADMAN et al., 2003). Entretanto, é importante saber as concentrações de elicitores, duração da exposição, genótipo, estado nutricional, e idade ou estágio da cultura, que podem favorecer o aumento da produção de biomassa e acúmulo de metabólitos especializados pelas plantas (NAIK; AL-KHAYRI, 2016).

Diferentes estratégias têm sido estudadas, com o objetivo de melhorar a produção de metabólitos especializados em *O. basilicum* (JAMWAL et al., 2018). Alguns reguladores de crescimento de plantas (RCP) como o ácido giberélico (ABDEL-HAMID, 2020), citocininas (TRETTEL et al., 2019), ácido 1-naftalenoacético (MONFORT et al., 2018), ácido jasmônico (ZLOTEK et al., 2016), dentre outros, têm sido promissores no estímulo do crescimento das plantas ou na redução dos estresses abióticos (ROSTAMI; AZHDARPOOR, 2019).

A utilização de RCP, *in vivo* ou *in vitro*, tem influenciado quantitativamente a produção de metabólitos especializados (JAMWAL; BHATTACHARYA; PURI, 2018), constituindo uma boa escolha para aumentar a quantidade de subprodutos economicamente importantes para o manjericão (AHMED et al., 2019).

As giberelinas (GA) influenciam a germinação de sementes, alongamento de caule, expansão de folhas, tricomas e iniciação floral, além de contribuir no florescimento e frutificação das plantas (YAMAGUCHI, 2008). Dentre as giberelinas (GA) produzidas pelo fungo *F. fujikuroi*, a mais abundante é o ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), que pode ser obtido comercialmente para uso agrônômico (TAIZ et al, 2017).

O GA<sub>3</sub> é aplicado em diversas culturas para múltiplas finalidades, por exemplo, no aumento do crescimento e absorção de nutrientes em *Salvia officinalis* (MOREIRA et al., 2022); na melhoria do teor dos compostos bioativos de morango (GUNDOGDU et al., 2021); no acúmulo de biomassa estimulando o crescimento da parte aérea de *Ajuga integrifolia* (ABBASI et al., 2020); na promoção do crescimento e desenvolvimento das mudas de *O. basilicum* (CASTRO et al., 2020), como também no incremento do desenvolvimento e das atividades metabólicas de plantas da mesma espécie (FERNANDES; DAVID, 2019).

A aplicação exógena de GA<sub>3</sub> em plantas da espécie *Mentha arvensis* L., afetou positivamente os atributos morfológicos como: crescimento da planta; densidade, diâmetro e número total de tricomas glandulares (estruturas secretoras especializadas que contêm grande variedade de terpenos) por folha; além do incremento na produtividade do óleo essencial (BOSE et al., 2013). Resultados semelhantes também foram observados em hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), onde ocorreu aumento no crescimento de plantas, das atividades enzimáticas e fotossintéticas, como também, incremento no teor e variação da composição do óleo essencial (AHMAD et al., 2019).

Em plantas de manjeriço, a aplicação exógena de GA<sub>3</sub> resultou na melhoria das características morfológicas da planta (altura, número de folhas, área foliar e biomassa), como também, no conteúdo dos componentes ativos, incluindo fenóis totais, flavonas totais e ácido L-ascórbico, resultando no aumento do teor e rendimento do óleo essencial (ABDEL-HAMID, 2020).

A elicitação por meio da aplicação exógena de GA<sub>3</sub>, tem sido investigada como uma técnica adequada para regular o crescimento, desenvolvimento e a biossíntese de metabólitos especializados em plantas de manjeriço. Contudo vale ressaltar, que os resultados apresentados nas pesquisas são controversos, devido as influências das condições bióticas e abióticas durante o cultivo. Desta forma, ainda não foi indicada uma faixa de concentração ideal de GA<sub>3</sub>, que melhorasse o desempenho e favorecesse o aumento dos rendimentos da planta.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência da aplicação exógena de diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) nas características agrônômicas, e na biossíntese de compostos fenólicos e flavonoides totais de plantas de *Ocimum basilicum* L., cultivadas na região do recôncavo da Bahia.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Reagentes e solventes**

A solução estoque de fenólicos (100 mg L<sup>-1</sup>) foi preparada em metanol e água (1:1). A solução estoque foi diluída para preparar soluções padrão em diferentes concentrações.

## 2.2. Material vegetal e tratamentos

As sementes para produção das mudas de *O. basilicum* foram da cultivar Grecco a Palla, marca ISLA PAK (ISLA, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil). A semeadura foi realizada no dia 18 de março de 2019, em copinhos descartáveis de polietileno com capacidade de 80 mL, contendo substrato comercial para produção de mudas, regadas diariamente, e mantidas em ambiente de casa de vegetação localizada no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus de Cruz das Almas, Bahia-Brasil (12°40'19" S, 39°06'23" O, altitude 220m).

A germinação iniciou três dias após a semeadura (DAS). Após 30 DAS foram transplantadas duas mudas mais vigorosas para vasos de 5L, contendo uma mistura de solo areia e esterco curtido, na proporção 2:1:1, cuja análise química foi realizada no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizado em Cruz das Almas-BA (TABELA 1). Passados oito dias do transplante, foi realizado o desbaste deixando apenas uma muda por vaso.

**Tabela 1.** Análise química de solo realizada no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas da Embrapa Mandioca e Fruticultura - Cruz das Almas/BA.

Resultados Analíticos – Fertilidade Macronutrientes													Micronutrientes				
pH	P	K	Ca	Mg	CA+ Mg	Al	Na	H+Al	SB	CTC	V	M_O	Cu	Fe	Zn	Mn	
Em água	Em CaCl <sub>2</sub>	mg/ dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>										%	g/kg	mg/kg		
5,5	-	5	0,15	1,71	0,78	2,49	0,0	0,03	2,64	2,67	5,31	50	14,0	-	-	-	-

Durante o período de cultivo das plantas (18/04/19 a 14/06/19) a temperatura média variou de 20 a 29,4° C; a umidade média ficou entre 53,5 e 87,8%, as chuvas acumuladas variaram entre 53 e 66,6 mm, conforme dados da estação meteorológica de Cruz das Almas-BA registrados no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2022). Nos primeiros trinta dias as plantas foram irrigadas, com regador, duas vezes ao dia (manhã e tarde). Após esse período as plantas foram irrigadas manualmente até a capacidade de campo, uma vez ao dia, até o final do experimento.

Nove dias após o transplante as plantas foram submetidas a cinco

tratamentos com ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), marca INLAB Confiaça (Alamar Tecnológica Ltda, Diadema, São Paulo, Brasil) aplicados a cada “10 dias”, totalizando cinco aplicações. Os tratamentos consistiram em:

T1- testemunha (água)

T2- de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a 50 mg L<sup>-1</sup>

T3- de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a 100 mg L<sup>-1</sup>

T4- de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a 150 mg L<sup>-1</sup>

T5- de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a 200 mg L<sup>-1</sup>

As concentrações de GA<sub>3</sub> foram diluídas em água destilada, sendo acrescentado às soluções um espalhante adesivo não iônico (alquil-poligligol- eter), produto comercial Adesil (NUFARM Indústria Química e Farmacêutica S/A, Maracanaú, Ceará, Brasil), na concentração de 0,5 ml L<sup>-1</sup> de solução. As pulverizações via foliar foram realizadas com pulverizador manual de 2 L, marca Palisad, com pressão do jato de 2,8 atm. Foram realizadas cinco aplicações dos tratamentos estudados com intervalos de dez dias, e o volume de aplicação foi o suficiente para molhar as folhas.

Trinta, quarenta e cinquenta dias após transplântio foi realizado o manejo adequado conforme o recomendado para espécie. Noventa dias após a semeadura foi realizada a colheita das plantas, que ocorreu sete dias após a última aplicação das soluções de GA<sub>3</sub>, onde as partes colhidas foram separadas em raiz, caule, folhas e flores.

As avaliações das características físicas e químicas consistiram em: altura de plantas (ALT), diâmetro do caule (DC), número de internódios (NI), número de panículas florais (NPF), área foliar (AF), massa fresca de raízes (MFR), massa fresca de folhas (MFF), massa fresca de flores (MFFLO), massa seca de raízes (MSR), massa seca de folhas (MSF), massa seca de flores (MSFLO) e teores de fenólicos totais (FEN) e flavonoides totais (FLAV).

### 2.3. Altura de plantas

Realizado ao final do experimento, onde foi mensurando o comprimento total das plantas, tomando-se a medida do colo da planta até o ápice foliar, com o auxílio de uma trena. Os comprimentos médios das plantas foram obtidos somando as medidas das plantas de cada parcela experimental, e dividindo a seguir, pelo

número de plantas de cada parcela. Os resultados foram expressos em cm/planta, considerando duas casas decimais.

#### 2.4. Diâmetro do caule

Com o auxílio de um paquímetro digital mediu-se o diâmetro do caule (mm) da planta, a partir do primeiro internódio (FIGURA 1), posicionando o paquímetro horizontalmente no sentido do maior diâmetro (CASTILHO et al., 2014).

**Figura 1.** Medição do diâmetro do caule de *O. basilicum*.



#### 2.5. Número de internódios

Na colheita as plantas foram separadas em parte aérea e raízes, retirou-se as folhas e inflorescências da parte aérea e foram contados o número de ramos secundários.

#### 2.6. Número de panículas florais

No momento da colheita foram retiradas as inflorescências de cada planta para realizar a contagem. Posteriormente calculou-se a média da soma da parcela experimental, obtendo assim o número de inflorescências referente as repetições de cada tratamento.



## 2.7. Massas da matéria fresca das partes da planta

As plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e, em seguida, foram separadas em raízes, caule, folhas e flores. As raízes foram lavadas e secas com papel toalha, em seguida aferiu-se o peso fresco utilizando uma balança digital com precisão de um grama. Utilizando a mesma balança, procedeu-se com a pesagem das massas fresca do caule, folhas e inflorescências de cada planta.

## 2.8. Área foliar

A área foliar foi determinada a partir do método das dimensões lineares, obtendo-se o comprimento e a largura máxima da folha com a utilização de uma régua milimetrada. A estimativa da área foliar foi calculada a partir da aplicação da equação abaixo, multiplicando o comprimento (C) pela largura máxima (L) e por um coeficiente, denominado fator de correção (FC) (MARTINS, 2016).

$$AF = L * C * 0,67$$

Em que: AF – Área Foliar (cm<sup>2</sup>)

C – Comprimento da folha (cm) L – Largura da folha (cm)

FC – Fator de correção (adimensional)

Para obter os resultados da AF foram medidas 30 folhas, escolhidas aleatoriamente de cada terço da planta, de cada unidade que compôs a parcela experimental. A média de cada repetição foi obtida a partir da somatória das medidas obtidas das amostras de folhas das plantas da parcela, dividida pelo número de plantas que compôs a parcela experimental (PEIXOTO et al., 2018; ALMEIDA et al., 2011).

## 2.9. Massas da matéria seca das partes da planta

As raízes, caules, folhas e inflorescências frescas de manjeriço foram colocadas em sacos de papel kraft, identificados com os tratamentos e repetições, e levadas para secar em estufa de circulação forçada de ar regulada a 65°C ± 2°C, por 72 horas, até obter peso constante. Em seguida, as massas da matéria seca das raízes, caule, folhas, e inflorescências foram determinadas em uma balança semi-analítica, a partir da qual foi calculada a massa seca correspondentes

aos tratamentos.

### **2.10. Prepara dos extratos hidroetanólicos de manjeriço**

O preparo do material vegetal se deu a partir da separação de amostras de folhas e inflorescências que foram acondicionadas em sacos de papel kraft e secas, em estufa de circulação forçada de ar, a 40°C por 72 h. Posteriormente estas amostras foram trituradas em liquidificador, acondicionado em sacos de polipropileno adesivo, identificados com os tratamentos e repetições, e armazenados em local seco sob condições de ambiente.

O material vegetal seco (0,2 g) foi pesado e colocado em tubos de ensaio, com 5 mL da solução extratora hidroetanólica composta por 43% de água destilada e 57% de etanol (MOREIRA, DIAS, 2018). Os tubos de ensaio foram imersos em um banho ultrassônico S10HEImasonic (Elma®, Medford, New York, Estados Unidos), e sonicados por 10 minutos a 40°C ± 2°C (MOREIRA, DIAS, 2018). Após a decantação das amostras sonicadas, as mesmas foram levadas para centrifuga (TECNAL®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Em seguida foram retiradas amostras do extrato hidroetanólico, que foram acondicionadas em tubos plásticos com tampa, identificados os tratamentos e repetições, e armazenados em ambiente de refrigerador para análise posterior.

### **2.11. Determinação de fenólicos totais**

O conteúdo fenólico total dos extratos hidroetanólicos foi determinado usando o reagente Folin Denis e o ácido gálico como padrão, de acordo com a metodologia proposta por Liazid et al. (2010), com algumas modificações. Em um balão volumétrico (10 mL), foram adicionados 400 µL do extrato da amostra, 1000 µL de uma solução saturada de carbonato de sódio e 300 µL de reagente Folin Denis. Finalmente, o volume foi completado com água destilada. A mistura foi incubada por 60 min no escuro, à temperatura ambiente, e o conteúdo total de fenólicos foi determinado, colorimetricamente, a 750 nm em espectrofotômetro (TECNAL®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). O conteúdo total de compostos fenólicos nos extratos foi calculado a partir da curva de calibração do ácido gálico e expresso em equivalente de ácido gálico (GAEq). Os testes foram realizados em triplicata.

### 2.12. Determinação de flavonóides totais

A determinação dos flavonóides foi realizada seguindo a metodologia proposta (MARQUES et al., 2012). Para esse fim, 1,0 mL do extrato da planta foi transferido para balões volumétricos de 10 mL, com 2,0 mL de uma solução de etanol de  $\text{AlCl}_3$  (5%,  $\text{m v}^{-1}$ ). O volume foi completado para 10 mL com uma solução hidroalcoólica (40%,  $\text{v v}^{-1}$ ). Em seguida, a mistura foi incubada por 30 min e o conteúdo de flavonóides foi determinado, colorimetricamente, a 408 nm em espectrofotômetro (TECNAL®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Os testes foram realizados em triplicata. O conteúdo total de flavonóides foi calculado usando a curva de calibração padrão da quercetina e o resultado expresso em equivalente à quercetina (EQ).

### 2.13. Análises Estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, quatro plantas na parcela experimental, e quatro repetições.

O programa estatístico RStudio versão 3.5.2 foi utilizado para aplicar os testes Shapiro-Wilk (normalidade) e Bartlett (homogeneidade) com significância de 5%. Os dados referentes às variáveis número de inflorescências, massa seca de raiz, e massa fresca de flores foram transformados usando  $\log(x + 1)$  para atender às premissas do modelo estatístico, e todas as variáveis foram submetidas à análise de variância (TABELA 2).

As variáveis agronômicas e químicas são multivariadas, portanto, usamos a Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Cluster (HCA), que se baseiam nos métodos quimiométricos multivariados, para identificar semelhanças e tendências em grupos induzidos pelas concentrações de  $\text{GA}_3$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as análises de variância (ANOVA) apresentadas na Tabela 2, pode-se inferir que as variáveis altura (ALT), área foliar (AF), número de panículas florais (NPF), massas fresca de raiz, caule, folhas e flores (MSR, MFC, MFF, MFFLO), massas seca de raiz, folhas e flores (MSR, MSF, MSFLO), apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre as concentrações de ácido

giberélico (GA<sub>3</sub>) estudadas.

**Tabela 2.** Análise de variância (ANOVA) e as médias correspondentes às diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) aplicadas em plantas de *O. basilicum* L. Cruz das Almas-BA, 2022.

ESTATÍSTICA	VARIÁVEIS									
	Altura (ALT)	Área foliar (AF)	Número de panículas florais (NPF)	Massa fresca do raiz (MFR)	Massa fresca do caule (MFC)	Massa fresca de folhas (MFF)	Massa fresca de flores (MFFLO)	Massa seca de raiz (MSR)	Massa seca de folhas (MSF)	Massa seca de flores (MSFLO)
Pr(>F)	0,0002***	0,0003***	0,0367*	0,004**	0,0433*	0,0034**	0,0067**	0,0003***	0,0452*	0,0154*
CV (%)	11,47	21,43	83,75	35,55	11,5	19,56	55,02	45,18	10,99	62,26
TRAT										
(T1) 0 mg L <sup>-1</sup>	56,42 a	5,28 a	2,58 a	19,87 a	95,58 a	139,00 a	3,73 a	3,81 a	11,46 a	0,48 a
(T2) 50 mg L <sup>-1</sup>	61,00 a	3,13 b	11,67 b	15,13 b	106,79 a	114,96 a	8,93 a	2,65 b	8,61 b	0,96 a
(T3) 100 mg L <sup>-1</sup>	67,33 a	2,69 b	29,58 b	14,40 b	105,83 a	99,83 b	12,72 a	2,39 b	8,35 b	1,57 b
(T4) 150 mg L <sup>-1</sup>	68,50 a	2,37 b	19,00 b	14,06 b	105,91 a	78,83 b	21,24 b	2,08 b	5,95 b	2,82 b
(T5) 200 mg L <sup>-1</sup>	89,67 b	3,25 b	25,83 b	12,33 b	126,17 b	80,42 b	27,17 b	1,98 b	6,66 b	3,19 b

Pr(>F) = \* Significativo em p <0,01, \*\* Significativo em p <0,001, \*\*\* Significativo em p <0,0001 de probabilidade de acordo com o teste Scott-Knott. CV = Coeficiente de variação em porcentagem, TRAT = tratamentos.

Neste estudo verificou-se que a aplicação de 200 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> (T5) favoreceu o alongamento do caule e internódios das plantas de manjeriço, apresentando uma média de 89,67 cm altura, e 126,17 gramas de massa fresca do caule (MFC). Conforme os resultados da análise de variância relacionadas a estas variáveis, o T5 diferiu significativamente (1% de probabilidade) dos demais tratamentos estudados (TABELA 2).

Os reguladores de crescimento de plantas (RCP) são moléculas que alteram a homeostase e a sinalização hormonal das plantas, e são importantes para aprimorar os processos de produção. A aplicação de RCP pode melhorar o desenvolvimento das plantas, e resultar numa maior produção de alimentos, além de melhorar o tempo de vida útil (RADEMACHER, 2015). Mas vale ressaltar que é necessário levar em consideração o tipo de RCP, a espécie de planta, a concentração adequada, a fase de desenvolvimento da planta que irá favorecer o objetivo ao qual se deseja alcançar, e as condições edafoclimáticas (DONG et al., 2016).

Abdel-Hamid (2020) obteve um crescimento médio expressivo em altura (61,30 cm) da espécie *O. basilicum*, com a aplicação 200 ppm de GA<sub>3</sub>, quando comparada à média (38,92 cm) das plantas controle. AL-Shahmani e Al-Tufaili

(2020) também registraram um maior crescimento médio (74,30 cm), com a aplicação de  $150 \text{ mg L}^{-1}$  de giberelina em plantas da mesma espécie. Ahmad et al. (2019) sustentam que a aplicação foliar de  $\text{GA}_3$  favorece o aumento do comprimento da parte aérea de *Mentha piperita* L., tomando como base o seu estudo, onde obteve um incremento de 8,87% no crescimento das plantas, com a aplicação de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  do regulador de crescimento.

Muitos fatores endógenos, e os reguladores de crescimento de plantas, como o ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ ), desempenham funções essenciais em diferentes fenômenos fisiológicos da planta. O crescimento e a regulação dos processos associados, têm papéis vitais na resposta ao estresse abiótico. Altas concentrações de  $\text{GA}_3$  podem induzir o alongamento expressivo do caule, principalmente em plantas de pequeno porte, podendo resultar no tombamentodas mesmas (TAIZ et al., 2017).

O alongamento expressivo pode ser observado na Figura 2, onde a aplicação das concentrações de 100, 150 e  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$ , deixaram as plantas de manjeriço suscetíveis ao tombamento, e promoveram a redução do tamanho das folhas.

**Figura 2.** Plantas de *O. basilicum* submetidas a diferentes concentrações de ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ ), (T1)  $0 \text{ mg L}^{-1}$ , (T2)  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , (T3)  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , (T4)  $150 \text{ mg L}^{-1}$  e (T5)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ . Cruz das Almas-BA, 2022.



As plantas que não foram tratadas com ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ ) apresentaram maiores massas fresca ( $19,87 \text{ g}$ ) e seca ( $3,81 \text{ g}$ ) de raízes, e maior área foliar ( $5,28 \text{ cm}^2$ ); resultando conseqüentemente em maiores pesos fresco ( $139 \text{ g}$ ) e seco ( $11,46 \text{ g}$ ) das folhas. Mas a aplicação de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  contribuiu para o incremento de MFF de manjeriço, não apresentando diferença significativa

quando comparada às plantas não tratadas com o regulador de crescimento. Contudo vale ressaltar, que as diferentes concentrações de ácido giberélico não proporcionaram diferenças significativas entre as médias de AF, MFR, MSR e MSF (TABELA 2).

A diminuição do comprimento, largura e relação comprimento/largura de folhas, como também a redução da massa da matéria fresca e seca de folhas jovens e de meia-idade de *Salvia officinalis*, em resposta a aplicação exógena de GA<sub>3</sub>, foi relatado por Schmiderer et al. (2010). Este resultado corroborou com o obtido por Rabiei, Bahador e Kordrostami (2018), no qual a aplicação exógena de 30 ppm de GA<sub>3</sub> promoveu o estreitamento das folhas da planta medicinal *Thymus vulgaris* L., diminuindo significativamente comprimento, largura, e a relação comprimento/largura.

O ácido giberélico é reconhecido como um potencial promotor do aumento e divisão celular (BUCHANAN, GRUISSEM, JONES, 2015; TAIZ et al., 2017). No experimento conduzido por Fernandes e David (2019), a aplicação de 100 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> promoveu um aumento médio de 20,7% no comprimento das raízes de *O. basilicum*, e apresentou diferença significativa quando comparado à testemunha. AL-Shahmani e Al-Tufaili (2020) também observaram o aumento no número médio de folhas (173 e 237), com a aplicação das concentrações de 75 e 150 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos em relação às médias de área foliar (6,54, 9,25 e 8,75 cm), pesos frescos (132,7, 176,2 e 190,8 g) e secos (37,2, 48,8 e 53,0 g) da parte aérea da planta, com a utilização das respectivas concentrações 0, 100 e 200 ppm de GA<sub>3</sub> (ABDEL-HAMID, 2020).

Neste estudo o número de panículas florais, e as massas frescas e secas de flores aumentaram com a aplicação das diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, quando comparado com os valores correspondentes ao T1 (TABELA 2). Conforme os resultados apresentados, pode-se observar que a aplicação de GA<sub>3</sub> favoreceu o florescimento, mas propiciou uma maior variabilidade dos valores médios. O que resultou em maiores percentuais do coeficiente de variação das características NPF= 83,75%, MFFLO 55,02% e MSFLO= 62,26%.

O manjeriço é caracterizado como uma planta de dias longos. Em regiões de clima quente é possível realizar de três a cinco cortes por ano, mas em ambientes de clima frio o número de cortes é reduzido, devido a diminuição do

período vegetativo e a indução do florescimento (SIPOS et al., 2021). A giberelina (GA) pode atuar como uma molécula de sinal indutora do florescimento. Portanto a aplicação em plantas que florescem em época com fotoperíodo (período de luz) longo, pode favorecer a indução do florescimento quando cultivadas em meses com fotoperíodo curto (KING, 2012).

A ação da giberelina na promoção do florescimento é complexa, pois a aplicação exógena pode induzir, inibir ou ser neutra a depender de fatores bióticos e abióticos (TAIZ et al., 2017, HEDDEN; SPONSEL, 2015). A aplicação das concentrações 50 e 100 ppm de GA<sub>3</sub>, proporcionaram melhores valores (61,11 e 50,07, respectivamente) no número médio de flores de *Matricaria recutita* L., em comparação com as plantas controle (AMIRI; SHARAFZADEH; ORDOOKHANI, 2014).

A aplicação única de 25 ou 50 mg L<sup>-1</sup> de ácido giberélico, em *Cynara scolymus* L. do cultivar “Green Globe”, cultivadas no período do outono na Califórnia, induziu uma maior aceleração do desenvolvimento da gema floral (CASTRO et al, 2016). Em outro estudo, o uso das concentrações de 100 a 1000 mg L<sup>-1</sup>, induziram o florescimento precoce das cultivares “Grand Rapids” e “Tendergreen” de *Lactuca sativa* L. (alface), em condições de dias curtos. E exceções foram registradas para repetidas aplicações do composto, para induzir o florescimento das cultivares “Bibb” e “Great Lakes” (CASTRO et al., 2016).

Diante dos resultados explanados na Tabela 2 pode-se afirmar que, a aplicação do ácido giberélico nas concentrações de 50, 100, 150, e 200 mg L<sup>-1</sup> interferiram de forma negativa no desenvolvimento do sistema radicular e das folhas; promovendo o decréscimo da massa das matérias fresca e seca das raízes e alterando a área do limbo foliar, o que comprometeu a área de captação de luz e CO<sub>2</sub>. Resultado positivo foi observado no número de inflorescências, no qual o aumento do florescimento teve relação direta com o aumento das concentrações de GA<sub>3</sub> aplicadas no manjericão.

As variáveis diâmetro do caule (DC), comprimento da haste principal (CHP), número de internódios (NI), massa seca do caule (MSC), fenólicos totais (FEN), flavonoides totais (FLAV) não apresentaram diferenças significativas conforme as análises estatísticas aplicadas.

O manjericão produz e armazena óleo essencial em toda parte aérea da

planta, mas o conteúdo de óleo nas folhas é maior (PEREIRA; MOREIRA, 2011). Entretanto, a composição e o conteúdo do óleo essencial pode ser influenciado por inúmeros fatores, dentre eles estão a espécie cultivada, fatores bióticos e abióticos, como também as partes área da planta (MARTINS et al., 2000). No estudo do *Ocimum gratissimum* L. foi observado a variação do conteúdo de óleo essencial de 3,6% nas folhas e 0,02% nas inflorescências, cujo teor de eugenol correspondeu a 77,3% e 50,17% respectivamente. Percentuais mais expressivos no conteúdo de eugenol foi observado em *Ocimum tenuiflorum* L., 79 a 83% nas folhas e 18 a 60% nas inflorescências (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Hazzoumi et al. (2014) observaram que a giberelina promoveu a diminuição no rendimento de óleo (0,2%) de *Ocimum gratissimum* L., mas aumentou a expressão de novos compostos ativos. Alguns estudos desenvolvidos na década de 90 demonstraram que a aplicação de GA<sub>3</sub> incrementou o rendimento e a composição de óleos essenciais de *O. basilicum* (MAHMOUD et al., 1995), e contribuiu para melhoria da biossíntese de flavonóides (KLESSIG; MALAMY, 1994). Mas também foi responsável pela redução da biossíntese de flavonoides a partir da aceleração do crescimento das plantas de *Ginkgo biloba* (CARRIER et al., 1990).

Os resultados obtidos neste estudo permite inferir que a resposta do GA<sub>3</sub> em relação a promoção do alongamento celular e divisão celular; principalmente dos tecidos caulinares, associando a estes a diminuição da espessura do caule e do tamanho das folhas, estão em conformidade com o efeito esperado pela aplicação do ácido giberélico. Porém a redução da biomassa de folhas, em resposta a aplicação de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, se contrapõe parcialmente às informações apresentadas na literatura. Outrossim, as concentrações de GA<sub>3</sub> induziram o florescimento precoce, influenciando na fase vegetativa do *O. basilicum* cv Grecco a Palla.

Assim sendo, admite-se que a variabilidade genética do manjeriço, como também fatores como estágio de desenvolvimento da planta, estado fisiológico e nutricional, equilíbrio hormonal endógeno, e condições ambientais (CASTRO et al., 2016; HEDDEN; SPONSEL, 2015; TAIZ et al., 2017; JAMWAL, BHATTACHARYA, PURI, 2018, THAKUR et al., 2019), refletem nas características agrônômicas e no produto final ao qual se deseja comercializar.



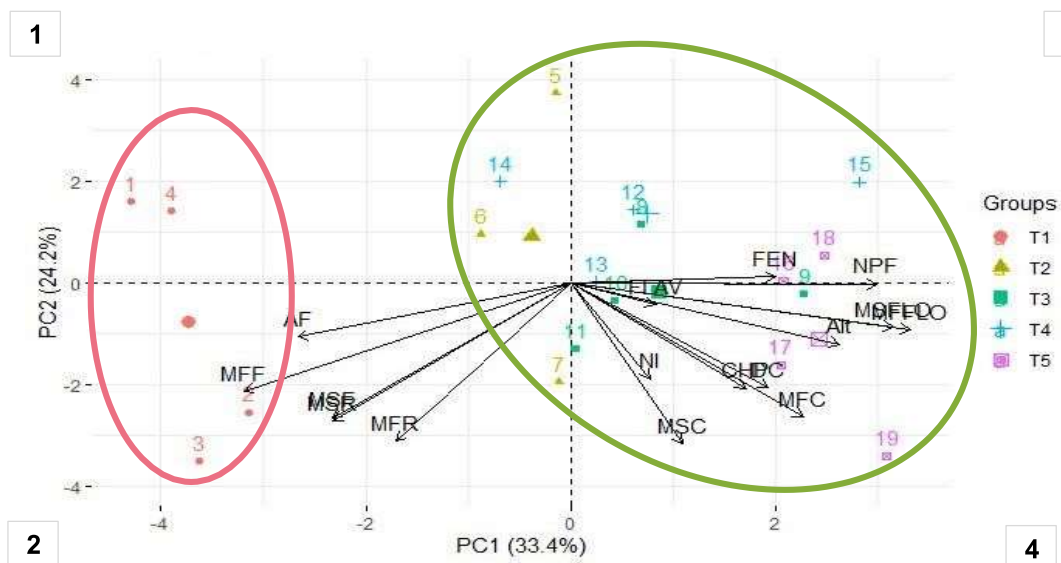
### 3.1 Análise Exploratória

Os componentes principais (PCs) foram responsáveis por 57,6% (33,4% PC1 e 24,2% PC2) da variação total dos dados relacionados a diferentes concentrações do regulador de crescimento GA<sub>3</sub>. A partir destes dois componentes foi possível distinguir as plantas de manjeriço em dois grupos, de acordo com os tratamentos aplicados (FIGURA 3). Diante deste resultado pode-se considerar que o mapa bidimensional foi adequado para avaliar as relações entre as variáveis, pois explica mais de 50% nos dois primeiros componentes.

O gráfico biplot PCA mostra que os tratamentos T3, T4 e T5, correspondentes às respectivas concentrações de 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, apresentam valores positivos com PC1, o que denota uma forte correlação positiva; mas o mesmo não é observado nos tratamentos T1 e T2 (0 e 50 mg L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, respectivamente). Contudo as plantas que foram tratadas com as diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, tiveram uma menor variabilidade dos dados, quando comparadas com as plantas não tratadas com as soluções de ácido giberélico.

Todos os tratamentos aplicados apresentaram correlações negativas e positivas com o PC2, demonstrando uma maior variabilidade entre os dados (FIGURA 3).

**Figura 3.** Plantas de *O. basilicum* submetidas a diferentes concentrações de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), (T1) 0 mg L<sup>-1</sup>, (T2) 50 mg L<sup>-1</sup>, (T3) 100 mg L<sup>-1</sup>, (T4) 150 mg L<sup>-1</sup> e (T5) 200 mg L<sup>-1</sup>. Cruz das Almas-BA, 2022.



[Altura de plantas (ALT), diâmetro do caule (DC), comprimento da haste principal (CHP), área

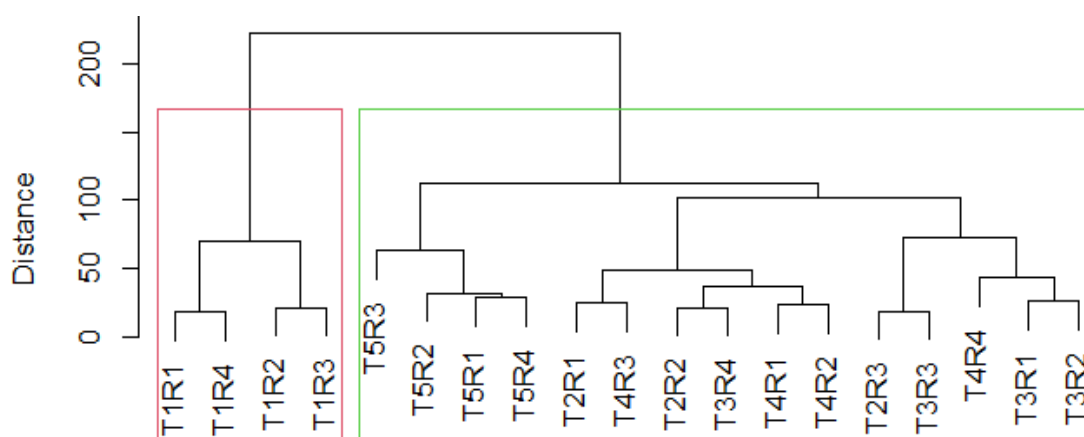
foliar (AF), número de internódios (NI), número de panículas florais (NPF), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca do caule (MFC), massa fresca de folhas (MFF), massa fresca de flores (MFFLO), massa seca de raiz (MSR), massa seca do caule (MSC), massa seca de folhas (MSF), massa seca de flores (MSFLO), fenólicos totais (FEN), flavonoides totais (FLAV)].

Os vetores correspondentes às variáveis MFF, AF, MSF, MSR e MFR que estão representados no quadrante 2, foram influenciados positivamente pelos tratamentos 1 e 2. As variáveis MSC, MFC, ALT, MFFLO, MSFLO, NPF seguiram uma tendência de maior poder de discriminação dos dados relacionados aos tratamentos 3, 4 e 5.

Na Figura 3 os vetores das variáveis formam ângulos entre si, isto representa uma menor ou maior correlação. Ângulos próximos a zero grau indicam um maior nível de correlação entre as variáveis. No primeiro componente principal (PC1) é possível observar uma maior relação com os vetores correspondentes às variáveis relacionadas as flores, NPF, MFFLO e MSFLO, indicando um maior poder de discriminação dos dados por possuírem maiores pesos positivos. Os vetores das variáveis NI, DC, CHP, FEN e FLAV que apresentam tamanhos menores, tiveram uma menor influência na diferenciação dos dados.

A Figura 4 apresenta o dendrograma de similaridade entre as amostras na análise hierárquica de clusters (HCA). Este resultado ratifica os resultados apresentados no mapa bidimensional do PCA, demonstrando a estratificação em dois grupos.

**Figura 4.** Dendrograma da análise hierárquica de agrupamentos (HCA) de diferentes concentrações de ácido giberélico ( $GA_3$ ), (T1)  $0 \text{ mg L}^{-1}$ , (T2)  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , (T3)  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , (T4)  $150 \text{ mg L}^{-1}$  e (T5)  $200 \text{ mg L}^{-1}$  aplicadas às plantas de *O. basilicum* L. Cruz das Almas-BA.



Os valores das variáveis analisadas em relação às diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> (T2, T3, T4 e T5) apresentaram valores semelhantes, o que resultou na aglomeração num único grupo, e numa menor diferença entre estes tratamentos. As diferenças entre plantas não tratadas e as que receberam a aplicação de soluções contendo o GA<sub>3</sub> apresentadas na HCA, corroboram com os resultados apresentados na PCA (FIGURA 3) e na ANOVA (TABELA 2).

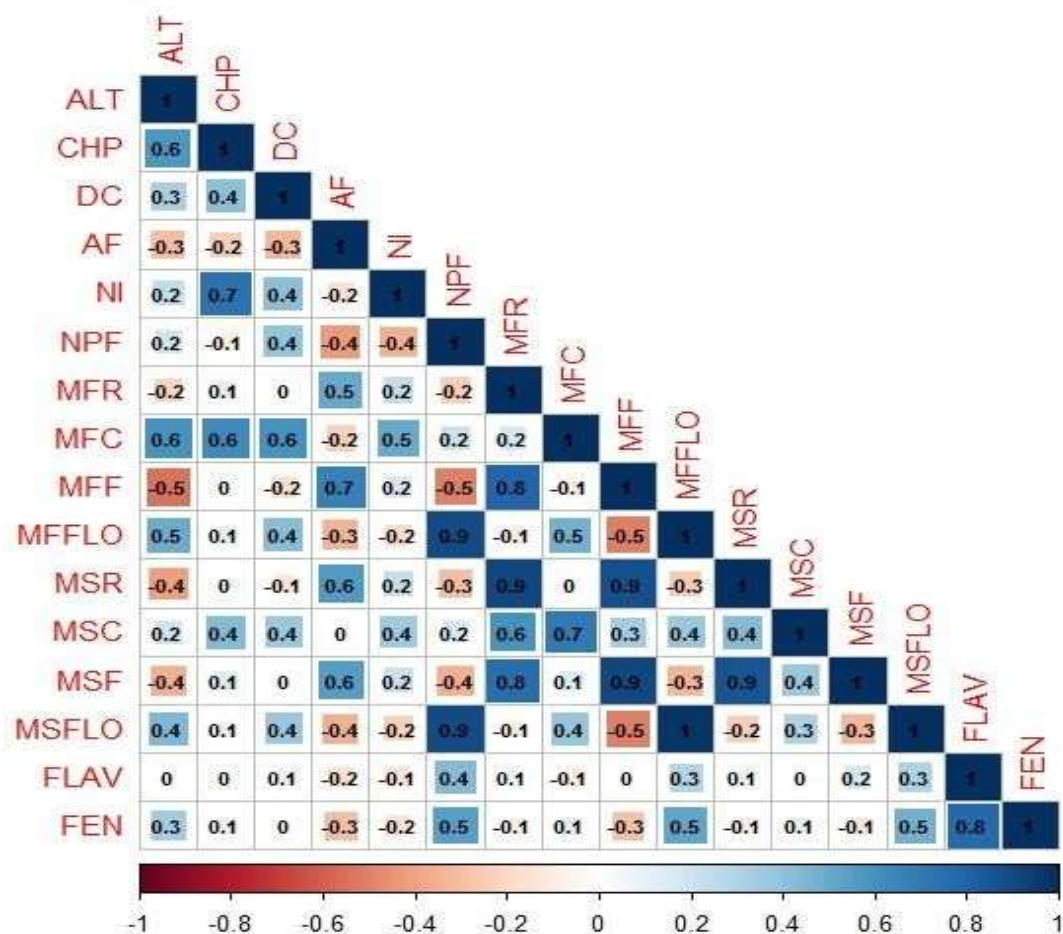
No estudo da espécie *Salvia officinalis* L., as diferenças verificadas entre as aplicações de ácido salicílico, giberelina, ácido abscísico, em plantas não tratadas com RCP, resultaram na formação de grupos distintos no gráfico PCA e HCA. A análise PCA contribuiu para confirmar que aplicação de 144 µmol L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> favorece o crescimento do sistema radicular e da parte aérea, além de aumentara produção de fotoassimilados (MOREIRA et al, 2022).

### 3.2. Análise de Correlação de Pearson

Neste estudo os dados obtidos também foram submetidos a análise de correção de Pearson, para avaliar o nível de correlação entre as variáveis estudadas, e para confirmar os resultados obtidos na análise PCA. No gráfico biplot (FIGURA 5) podem ser observados coeficientes que variam de -1 a +1, que estão relacionados a intensidade e a direção das relações lineares entre duas variáveis. Os intervalos que mais se aproximam de -1 e +1 apresentam correlação forte, e os que estão mais próximo de zero correspondem a uma correlação mais fraca.

As variáveis NPF, MFFLO e MSFLO apresentaram coeficientes 0.9, demonstrando uma correlação forte entre elas, o que é óbvio, pois as variáveis tratam sobre as características das inflorescências do manjeriço. O mesmo resultado pode ser observado em relação a MSR e MFR, como também as massas frescas e secas de folhas (MFF e MSF). Contudo observa-se coeficientes de 0.8 entre as variáveis MFF e MFR, demonstrando que quanto maior a massa fresca de folhas maior a massa fresca de raízes. O mesmo ocorre com as massas secas de folhas e raízes, porém com um coeficiente de correlação de 0.9 (FIGURA 5).

**Figura 5.** Coeficientes de correlação de Pearson das variáveis estudadas, representados em escala numérica e intensidade de cores. Cruz das Almas-BA, 2022.



[Altura de plantas (ALT), diâmetro do caule (DC), comprimento da haste principal (CHP), área foliar (AF), número de internódios (NI), número de panículas florais (NPF), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca do caule (MFC), massa fresca de folhas (MFF), massa fresca de flores (MFFLO), massa seca de raiz (MSR), massa seca do caule (MSC), massa seca de folhas (MSF), massa seca de flores (MSFLO), fenólicos totais (FEN), flavonoides totais (FLAV)].

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que a aplicação de concentrações crescentes de  $GA_3$  em *O. basilicum* cv. Grecco a Palla, cultivadas em vasos sob ambiente de casa de vegetação, favoreceu o alongamento da parte aérea, e o florescimento precoce, aumentando a biomassa de panículas florais. Em contrapartida reduziu a biomassa do sistema radicular e das folhas, e diminuiu a área foliar do manjeriço.

Com base nos resultados das análises estatísticas, não houve diferença

significativa entre as diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, em relação ao conteúdo de compostos fenólicos dos extratos hidroetanólicos de manjeriço.

## 5. REFERÊNCIAS

ABBASI, B. H.; ULLAH, M. A.; NADEEM, M.; TUNGMUNNITHUM, D.; HANO, C. Exogenous application of salicylic acid and gibberellic acid on biomass accumulation, antioxidant and anti-inflammatory secondary metabolites production in multiple shoot culture of *Ajuga integrifolia* Buch. Ham. Ex D. Don. **Ind. Crops Prod.**, v. 145, n. 112098, jan. 2020.

ABDEL-HAMID, A. N. Effect of benzyl adenine, indole acetic acid and gibberellic acid on vegetative growth, chemical constituents and volatile oil attributes of sweet basil plants. **Egypt. J. Hort.**, v.47, n.1, p.41-56, apr. 2020.

AHMAD, B.; JALEEL, H.; SHABBIR, A.; KHAN, M. M. A.; SADIQ, Y. Concomitant application of depolymerized chitosan and GA<sub>3</sub> modulates photosynthesis, essential oil and menthol production in peppermint (*Mentha piperita* L.). **Sci. Horticult.**, v. 246, p. 371-379, oct. 2019.

AHMED, A. F.; ATTIA, F. A. K.; LIU, Z.; LI, C.; WEI, J.; KANG, W. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. **Food Sci. Human Wellness**, v.145, p.1-7, aug.2019.

AL-SHAHMANI, N. S. K; AL-TUFAILI, A. K. H. The effect of gibberellin and tryptophan on some vegetative and qualitative characteristics of sweet basil. **Plant Archives**, v. 20, n. 2, p. 1891-1894, 2020.

ALMEIDA, J. A. R.; PEIXOTO, C. P.; PASSOS, A. R.; SANTOS, J. F.; PEIXOTO, V. A. B. Diferentes métodos para a determinação da área foliar em genótipos de girassol. **Enc. Biosfera**, v..7, n.13, 2011.

AMIRI, S., SHARAFZADEH, S., ORDOOKHANI, K. The effect of gibberellic acid and benzyladenine on growth and essential oils of german chamomile. **Indian J. Fundam. Appl. Life Sci.**, v. 4, n. 1, p.186-188, jan-mar 2014.

AYE, A.; JEON, Y-D.; LEE, J-H.; BANG, K-S.; JUN, J-S. Anti-inflammatory activity of ethanol extract of leaf and leaf callus of basil (*Ocimum basilicum* L.) on RAW 264.7 macrophage cells. **Orient. Pharm. Experim. Med.**, v.19, p.217–226, apr. 2019.

BOSE, S. K.; YADAV, R. K.; MISHRA, S.; SANGWAN, R. S.; SINGH, A.K.; MISHRA, B.; SRIVASTAVA, A.K.; SANGWAN, N. S. Effect of gibberellic acid and calliterpenone on plant growth attributes, trichomes, essential oil biosynthesis and pathway gene expression in differential manner in *Mentha arvensis* L. **Plant Physiol. Biochem.**, v.66, p.150-158, may 2013.

BOZIN, B., MINIICA-DUKIC, N., SIMI, N. AND 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. Agricult. Food Chem.**, v.54, p.1822-1828, feb. 2006.

BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W., JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. John Wiley & Sons: ed. 2, ago. 2015, 1264 p.

CARRIER, D.J., COSENTINO, G., NEUFELD, R., RHO, D., WEBER, M., ARCHAMBAULT, J.. Nutritional and hormonal requirements of *Ginkgo biloba* embryo-derived callus and suspension cell culture. **Plant Cell Rep.**, v.8, n.11, p. 635–638, apr. 1990.

CASTILHO C., Juliana Schietti, Maria Aparecida de Freitas, Maria Carmozina de Araújo, Fernanda Coelho, William Magnusson e Flávia Costa. **Manual para Medição e Marcação de Árvores em grades e módulos RAPELD do PPBio**. Centro de Estudos Integrados da Biodiversidade Amazônica, Manaus-AM, abril 2014. Disponível em: < [https://ppbio.inpa.gov.br/sites/default/files/Protocolo\\_estrutura\\_vegetacao\\_2014\\_0.pdf](https://ppbio.inpa.gov.br/sites/default/files/Protocolo_estrutura_vegetacao_2014_0.pdf)>. Acesso em: 24 mai 2022.

CASTRO, L. S.; NOBRE, D. A. C.; HURTADO, D. A. V.; MACEDO, W. R. Bioregulators on seed germination and seedling growth of sweet basil. **Comum. Sci.**, v. 11, n. e3324, jun. 2020.

CASTRO, P. R. C., ARAÚJO, D. K., ANGELINI, B. G., MENDES, A. C. C. M. **Biorreguladores na agricultura**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, 2016, 154 p.

CHIANG, L-C., NG, L-T., CHENG, P-W., CHIANG, W., LIN, C-C. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.32, p. 811-816. 2005.

ÇOLAK, A.M. Effect of melatonin and gibberellic acid foliar application on the yield and quality of Jumbo blackberry species. **Saudi J. Biol. Sci.**, v.25, n.6, p. 1242-1246, sep. 2018.

DONG, C., XU, N., DING., C., GU, H., ZHANG, W., LI, X. Suitable gibberellic acid treatment for double-purpose rice (*Oryza sativa* L.) varieties at different harvest times. **Field Crops Res.**, v. 193, p. 178-185, jul. 2016.

FERNANDES, A. C. S. S.; DAVID, E. F. S. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. cultivada com aplicação de diferentes doses de giberelina via foliar. **F. Ver. AGROFIB**, v. 1, n.1, p. 39-46, abr. 2019.

GÜEZ, C. M.; SOUZA, R. O. ; FISCHER, P.; LEÃO, M. F. M.; DUARTE, J. A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; ZURAVSKI, L.; OLIVEIRA, L. F. S.; MACHADO, M. M. Evaluation of basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on oxidative, anti-genotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agentes. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.53, n.1, article e15098, apr. 2017.

GUNDOGDU, M.; BERK, S.; YILDIZ, K.; KAKI, B.; TUNA, S.; CANAN, I.; OKATAN, V. Influence of foliar application with gibberellic acid on phenolic and bioactive

compounds of strawberry fruits. **Erwerbs-Obstbau**, v. 63, p.15–23, jan.2021.

HASSANZADEH, M. K., EMANI, S. A., ASILI, J., NAJARAN, Z. T. Review of the essential oil composition of Iranian Lamiaceae. **J. Essent. Oil Res.**, v. 23, n. 1, p.1-40, dez. 2011.

HAZZOUMI, Z., MOUSTAKIME, Y., JOUTEI, K.A., 2014. Effect of gibberellic acid (GA), indole acetic acid (IAA) and benzylaminopurine (BAP) on the synthesis of essential oils and the isomerization of methyl chavicol and trans-anethole in *Ocimum gratissimum* L. **Springer Plus**, v. 3, n.26, p. 321-327, jun. 2014.

HEDDEN, P.; SPONSEL, V. A Century of Gibberellin Research. **J. Plant Growth Regul**, v. 34, n.4, p.740-60, oct. 2015.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. **Temperaturas diárias (máxima, média, mínima) II Estação: Cruz das Almas (A406) – 04/2019 a 06/2019**. Disponível em:<<https://tempo.inmet.gov.br/Graficos/A001>>. Acesso em: 20 maio 2022.

JAFRI, N.; MAZID, M.; MOHAMMAD, F. Responses of seed priming with gibberellic acid on yield and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Indian J. Agric. Res**, v. 49, n.3, p. 235-240, nov. 2015.

JAMWAL, K.; BHATTACHARYA, S.; PURI, S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. **J. Appl. Res. Med. Aromatic Plants**, v.9, p.26-38, may. 2018.

LIAZID, A., SCHWARZ, M., VARELA, R. M., PALMA, M., GUILL'EN, D. A., BRIGUI, J., et al. Evaluation of various extraction techniques for obtaining bioactive extracts from pine seeds. **Food Bioprod. Process.**,v. 88, p. 247–252,2010.

LINDSTRON, R.S. & WITTEWER, SR. Gibberelin and higher plants, IX; Flowering in geranium (Pelargonium hortorum). **Mich. Quart. Bull.**, v.40, n.1, p. 225-231, 1957.

KIM, Y.H., HAMAYUN, M., KHAN, A.L., NA, C.I., KANG, S.M., HAN, H.H., LEE, L. Exogenous application of plant growth regulators increased the total flavonoid content in *Taraxacum officinale* Wigg. **Afr. J. Biotechnol.**, v. 8, n. 21, p. 5727–5732.

KING, R. W. Mobile signals in day length-regulated flowering: Gibberellins, flowering locus T, and sucrose. **Russ. J. Plant Physiol.**, v. 59, n. 4, p. 479-490,2012.

KLESSIG, D.F., MALAMY, J., 1994. The salicylic acid signal in plants. **Plant Mol. Biol.**, v. 26, p. 1439-1458, 1994.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnol. Rep.**, v.24, n. e00370, dec. 2019.

LAZZARINI, L. E. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A.; SANTIAGO, A. C.; PACHECO, F. V.; FERREIRA CÉLIO, M. M.; et al. Growth regulators affect the dry weight production, carvacrol and thymol content of *Lippia gracilis* Schauer. **Ind.**

**Crops Prod.**, v.129, p.35–44, mar. 2019.

LIANG, Z., MA, Y., XU, T., CUI, B., LIU, Y., GUO, Z., YANG, D., 2013. Effects of abscisic acid, gibberellin, ethylene and their interactions on production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* bunge hairy roots. **PLoS One**, v. 2, n. 8, sep. 2013.

MAHMOUD, S.E.D. Response of growth and essential oil content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) to some natural hormones. **Inter. Symp. Med. Aromatic Plants**, v. 426, p. 629–634, 1995.

MARQUES, G. S.; MONTEIRO, R. P. M.; LEÃO, W. F.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; ROLIM-NETO, P. J.; et al. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* link. **Quím. Nova**, v.35, n. 3, p. 517-522, 2012.

MARTINS, I. P. **Crescimento e consumo de água por manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) sob diferentes regimes hídricos.** 2017. 45 p. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Área de concentração: Água e Solo) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2017.

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

MONFORT, L.E.F., BERTOLUCCI, S.K.V., LIMA, A.F., DE CARVALHO, A.A., MOHAMMED, A., BLANK, A.F., PINTO, J.E.B.P. Effects of plant growth regulators, different culture media and strength MS on production of volatile fraction composition in shoot cultures of *Ocimum basilicum*. **Ind. Crops Prod.**, v.116, p. 231–239, 2018.

MOREIRA, G. C., CARNEIRO, C. N., ANJOS, G. L., SILVA, F., SANTOS, J. L. O., DIAS, F. S. Support vector machine and PCA for the exploratory analysis of *Salvia officinalis* samples treated with growth regulators based in the agronomic parameters and multielement composition. **Food Chem.**, v. 373, n. 131345, mar. 2022.

MOREIRA, G. C., & DIAS, F. S. Mixture design and Doehlert matrix for optimization of the ultrasonic assisted extraction of caffeic acid, rutin, catechin and trans - cinnamic acid in *Physalis angulata* L. and determination by HPLC DAD. **Microchem. J.**, v. 141, p. 247–252, 2018.

MOSADEGH, H., TRIVELLINI, A., FERRANTE, A., LUCCHESINI M., MENSUALI, A. Applications of UV-B lighting to enhance phenolic accumulation of sweet basil. **Sci. Horticult.** v.229, n.9, p.107-116, feb. 2018.

MA, H-Y.; ZHAO, D-D.; NING, Q-R.; WEI, J-P.; LI, I; WANG, M-M.; et al. A multi-year beneficial effect of seed priming with gibberellic acid-3 (GA3) on plant growth and production in a perennial grass, *Leymus chinensis*. **Scient. Reports**, v. 8, n. 13214, 2018.



NAIK, P. M.; AL-KHAYRI, J. M. **Abiotic and biotic elicitors—role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants.** In: SHANKER, A.; SHANKER, C. Abiotic and biotic stress in plants - recent advances and future perspectives. 1 ed. Intech Open Science, 2016. 768 p.

PATEL, R.P., SINGH, R., RAO, B. R. R., SINGH, R. R., SRIVASTAVA, A., LAL, R. K. Differential response of genotype x environment on phenology, essential oil yield and quality of natural aroma chemicals of five *Ocimum* species. **Ind. CropsProd.s**, v.87, p.210–217, set. 2016.

PEIXOTO, C. P.; PEIXOTO, M. F. S. P. **Dinâmica do crescimento vegetal: princípios básicos.** In: CARVALHO, C.A.L.; DANTAS, A.C.V.L.; PEREIRA, F.A.C.; SOARES, A.C.F.; MELO FILHO, J.F. Tópicos em Ciências Agrárias, 1 ed. Editora Nova Civilização, Cruz das Almas. p. 37-53, 2009.

PEIXOTO, C. P.; ALMEIDA, A. T.; SANTOS, J. M. S.; POELKING, V. G. C.; OLIVEIRA, E. R. **Curso de Fisiologia vegetal.** Cruz das Almas, BA: UFRB, 2020. 218 p.

PEREIRA, R.; MOREIRA, A. L. M. Manjeriço: cultivo e utilização. Embrapa Agroindústria Tropical-Documents (INFOTECA-E), 2011.

PEREIRA, A. E. S.; SILVA, P. M.; OLIVEIRA, J. L.; OLIVEIRA, H. C.; FRACETO, L. F. Nanopartículas de quitosana como sistemas transportadores para o hormônio de crescimento vegetal ácido giberélico. **Colloids Surf B Biointerf.**, v.150, n. 1, p. 141-152, 2017.

RABIEI, B., BAHADOR, S., KORDROSTAMI, M. The expression of monoterpene synthase genes and their respective end products are affected by gibberellic acid in *Thymus vulgaris*. **J. Plant Physiol.**, v. 230, p. 101-108, nov. 2018.

RADEMACHER, W. Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. **J. Plant. Growth Regul.**, v. 34, p. 845–872, oct. 2015.

RADMAN, R.; SAEZ, T.; BUCKE, C.; KESHAVARZ, T. Review: Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnol. Appl. Biochem**, v.37, n.1, p.91–102, feb. 2003.

REDA, F., ABDEL RAHIM, E.A., EL BAROTY, G.S., AYAD, H.S., 2005. Response of essential oils, phenolic components and polyphenol oxidase activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) to some bioregulators and vitamins. **J. Agric. Biol.**, v. 7, p. 735–739, 2005.

REINHARDT, D. H. **Abacaxi – práticas pós-indução floral que podem aumentar o tamanho do fruto / Domingo Haroldo Reinhardt.** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2021. 19 p.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, A.; ÁLVAREZ-GARCÍA, S; GONZÁLEZ-LÓPEZ, O.; SILVA, F.; CASQUERO, P. A. Insecticidal Properties of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon winterianus* against *Acanthoscelides obtectus*, Insect Pest of the Common Bean

(*Phaseolus vulgaris* L.). **Insects**, v.10, n.151, p.1-14, may 2019.

ROSTAMI, S.; AZHDARPOOR, A. The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review. **Chemosphere**, v.220, p. 818-827, 2019.

SAKR, S.A.; AL-AMOUDI, W.M. Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on deltamethrin induced nephrotoxicity and oxidative stress in albino rats. **J. Appl. Pharmac. Sci.**, v.2, n.5, p.22-27, may 2012.

SCAGEL, C. F.; LEE, J.; MITCHELL, J. N. Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. **Ind. Crops Prod.**, v.127, p.119-128, jan. 2019.

SCHMIDERER, C., GRAUSGRUBER-GRÖGER, S., GRASSI, P., STEINBORN, R., NOVAK, J. Influence of gibberellin and daminozide on the expression of terpene synthases and on monoterpenes in common sage (*Salvia officinalis*). **J. of Plant Physiol.**, v.167, p. 779-786, 2010.

SIPOS, L.; BALÁZS, L.; SZÉKELY, G.; JUNG, A.; SÁROSI, S.; RADÁCSI, P.; CSAMBALIK, L. Otimização da produção de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em ambientes de luz LED – uma revisão. **Sci. Horticul.**, v. 289, n. 110486, nov.2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Armed, 2017. 858 p.

TEOFILOVIĆ, B., GRUJIĆ-LETIĆ, N. GOLOČORBIN-KON, S., STOJANOVIĆ, S., GADŽURIĆ, S. Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. **Ind. Crops Prod.**, v.100, p.176-182, jun. 2017.

THAKUR, M., BHATTACHARYA, S., KHOSLA, P. K., PURI, S. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **J. Appl. Res. Med. Aromatic Plants**, v.12, p. 1-12, mar. 2019.

THIRUMURUGAN, D.; CHOLARAJAN, A.; RAJA, S. S. S.; VIJAYAKUMAR, R. **An Introductory Chapter: Secondary Metabolites**. *IN: VIJAYAKUMAR, R.; RAJA, S. S. S. Secondary Metabolites: Sources and applications*. 1 ed. Books onDemand, set. 2018, 148 p.

TRETTEL, J. R.; NASCIMENTO, A. B.; BARBOSA, L. N.; MAGALHÃES, H. M. *In vitro* organogenesis and growth of *Ocimum basilicum* 'Genovese' (basil) cultivated with growth regulators. **Austral. J. Crop Sci.**, v. 13, n.7, p. 1131-1140, 2019.

TREVISAN, M.T.; SILVA, M.G.; PFUNDSTEIN, B.; SPIEGELHALDER, B.; OWEN, R.W. Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. **J. Agr. Food Chem.**, v. 54, p. 4378-4382, 2006.

ZŁOTEK, U.; SZYMANOWSKA, U.; KARAŚ, M.; ŚWIECA, M. Antioxidative and anti-inflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.)

leaves induced by jasmonic, arachidonic and b-aminobutyric acid elicitation. **Intern. J. Food Sci. Technol.**, v. 51, p.163–170, 2016.

WARIKOO, R.; WAHAB, N.; KUMAR, S. Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedes aegypti* L. **Parasitol. Res.**, v.109, n.4, p.1125–1131, mar. 2011.

YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review of Plant Biol.**, v. 59, p.225–251, 2008.

## CAPÍTULO 2

**Application of multivariate analysis to assess stress by Cd, Pb and Al in basil (*Ocimum basilicum* L.) using caffeic acid, rosmarinic acid, total phenolics, total flavonoids and total dry mass in response<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Artigo publicado no periódico científico Food Chemistry.

**Application of multivariate analysis to assess stress by Cd, Pb and Al in basil (*Ocimum basilicum* L.) using caffeic acid, rosmarinic acid, total phenolics, total flavonoids and total dry mass in response.**

Nadjama B. do Prado<sup>a</sup>, Claudia B. de Abreu<sup>a</sup>, Cyndi S. Pinho<sup>a</sup>, Manoel M. de N. Júnior<sup>a</sup>, Mariana D. Silva<sup>a</sup>, Magdalena Espino<sup>b</sup>, Maria F. Silva<sup>b</sup>, Fabio de S. Dias<sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Campus Universitário de Cruz das Almas, 44380-000. Cruz das Almas, Bahia, Brazil.

<sup>b</sup> Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM-CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

<sup>c</sup> Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências Tecnologia e Inovação, Campus Universitário de Camaçari, 42809-000. Camaçari, Bahia, Brazil.

**ABSTRACT**

Basil is an edible, aromatic plant, which makes the study of the ecotoxicity of metals in plant metabolism relevant. Given the above, the objective of this study was to evaluate the effects of metals, aluminum, lead, and cadmium, in the synthesis of phenolic compounds and in the dry mass of basil plants (*O. basilicum* L.) grown in a hydroponic system. The plants were subjected to four different concentrations of cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), lead and aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>), and compared with the control. After desiccation of the plant material, the total dry mass was obtained and then, hydroethanolic extracts (43% distilled water and 57% ethanol) were made for biochemical analyzes, which consisted of the determination of caffeic acid (CA) and rosmarinic acid (RA) by high performance liquid chromatography analysis with a diode detector (HPLC-DAD); total phenolics (TP) and total flavonoids (TF) by spectrophotometry. The data were submitted to analysis of variance and multivariate analysis (principal component analysis-PCA and hierarchical cluster analysis-HCA) was applied for data association. The phenolic compounds showed a high positive correlation with each other, and the total dry mass showed low and negative correlations with the analyzed variables. The results showed that the metals aluminum, lead, and cadmium promoted a stress condition in basil plants, which resulted in the reduction of the dry matter mass and an increase in the synthesis of phenolic compounds, according to the type and concentration of the metal.

**Keywords:** phenolic compounds, basil, cadmium, lead, aluminum.

## 1. Introduction

Human activity, industrialization and inadequate agricultural practices have led to a global environmental problem, the contamination by toxic metal, affecting not only human health, but also soils, air and water (Lajayer et al., 2017). In plants, these toxic elements are absorbed by the root system, by air through wet or dry deposition, or during processing; resulting in contamination of plant material in different parts (Zeiner & Juranović Cindrić, 2017).

In the protected cultivation system, hydroponics has been widespread in Brazil and worldwide. This system is characterized by soilless cultivation, and its main components are water and nutrients but organic or inorganic substrate can be used, whose purpose is to give support to the aerial part of the plant (Dankwa et al., 2020).

Water and substrate are potential sources of contamination by metals, being essential to carry out chemical and microbiological analysis of the water, full knowledge of the composition of the fertilizers to be used in the nutrient solution, as well as the use of inert substrates free of contaminants; such as pathogens and toxic metals (Dankwa et al., 2020; Dias et al., 2019; Carvalho et al., 2015).

Toxicity caused by metals such as aluminum, cadmium, and lead, has been reported in plants, even at low concentrations. The metallic stress caused by these elements affects growth, photosynthetic reactions, the absorption, transport, and metabolism of nutrients; as well as physiological, biochemical, and morphological changes (Ahmad et al., 2018; Dinu et al., 2020; Fattahia et al., 2019, Jalmi et al., 2018). However, these reactions to stress, lead to different degrees of toxicity and, vary according to each metal, its mobility and translocation to different parts of the plant (Chandrasekhar and Ray, 2019; Manquián-Cerda et al., 2018).

Several studies have demonstrated the induction of an increase in the synthesis of phenolic compounds, as one of the main impacts of stress by metals on plants (Fattahia et al., 2019, Jalmi et al., 2018; Korkmaz et al., 2018; Manquián-Cerda et al., 2018; Zoufan et al., 2020). Phenolic compounds are bioactive substances, resulting from the secondary metabolism of plants, and are well known for their antioxidant capacity (Dias, David, & David, 2016). In addition, plants also synthesize flavonoids, which act as metal ion chelators forming a soluble and non-toxic complex (Jalmi et al., 2018).

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is an aromatic, medicinal sub-shrub that belongs to the Lamiaceae family (Chiang et al., 2005; Hassanzadeh et al., 2011). This species may be commercialized in nature, dry, processed, as well as in the forms of extracts and essential oil (Scagel et al., 2019). This aromatic herb is an important ingredient, which gives aroma and flavor to food additives, in addition to presenting therapeutic characteristics to pharmaceutical products of industrial importance (Mosadegh et al., 2018; Teofilović et al., 2017).

Previous research has shown its medicinal and therapeutic effects with antioxidant, anti-inflammatory (Güez et al., 2017), anti-aging, anticancer, antiviral, and antimicrobial action (Sakr and Al-amoudi, 2012). The antioxidant activity is mainly due to polyphenols, flavonoids and to compounds such as rosmarinic acid, which are derived from the secondary plant metabolism. (Güez et al., 2017; Zhang and Tsao, 2016).

Several studies of basil cultivation, in soils contaminated with potentially toxic metals, have demonstrated the potential as phytoextractor, as well as the translocation of these elements to different parts of the plant (Dinu et al., 2020; Divani et al., 2017). In addition, toxic metals had positive effects on basil growth and production of bioactive compounds (Korkmaz et al., 2018; Padash et al., 2019). Considering the potential for metal accumulation, this plant has great potential in phytoremediation. However, further studies on the effects of aluminum, cadmium, and lead on the synthesis of phenolic compounds and their correlation with the biomass of basil plants under hydroponic cultivation conditions are still needed.

In the present work, a comprehensive study was carried out to evaluate the effect of three potentially toxic metals on the synthesis of phenolic compounds in *O. basilicum* plants. For this, the plants were exposed to different concentrations of cadmium, lead, and aluminum. Then, extracts of the plant were obtained. Finally, the stress caused by these metals was evaluated in terms of the phenolic content determined in the extracts.

## **2. Experimental**

### *2.1. Reagents and solvents*

Quality methanol and acetic acid for High Performance Liquid

Chromatography (HPLC) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Ultrapure water was obtained from a Millipore Milli-Q water purifier system (Bedford, MA, USA), and was used after filtration through a 0.45  $\mu$  mmol L<sup>-1</sup> pore membrane filter. Analytical standards, caffeic acid, quercetin, and rosmarinic acid, were obtained from Sigma (St. Louis, MO, USA). The phenolic stock solution (100 mg L<sup>-1</sup>) was prepared in methanol–water (1:1). The stock solution was diluted to prepare standard solutions in different concentrations.

## 2.2. Samples

The seeds of *O. basilicum*, cultivar grecco a palla, were purchased from ISLA Sementes Ltda. Cultivation was carried out in a greenhouse, located at the Center for Agricultural, Environmental and Biological Sciences (CCAAB), Federal University of Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas Campus, Bahia-Brazil (12°40'19" S, 39°06'23" O, altitude 220 m).

The seeds were sown in september 2017, in 80 mL plastic cups filled with coconut fiber, being manually irrigated with distilled water, keeping the substrate moist. Twenty days after sowing, the seedlings were transplanted into 1L pots, containing inert substrate (washed and autoclaved sand) and Clark's nutrient solution (Clark, 1975). After the seven-day period for acclimatizing the plants, treatments were applied, which consisted of four different doses of the cadmium metals (0.2, 0.6, 1.2 and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), lead and aluminum (0.04; 0.08; 0.12 and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) and the control, all with five repetitions. The doses of metals were added to the nutrient solution, and the sources of metals used were salts p.a. cadmium nitrate Cd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, lead nitrate Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, and aluminum chloride AlCl<sub>3</sub>. The pH of the solution was adjusted to 4.0 ± 0.2, corrected with HCl or NaOH.

## 2.3. Sample preparation

Basil was harvested sixty days after sowing, as recommended by the company that produces the seeds. The plant material was separated into aerial parts and roots, and their respective fresh weights were measured. Subsequently they were packed in Kraft paper bags and transferred to a forced air circulation oven (40 °C) for 72 h. At the end of this period, the dry weight of the samples was



measured on a semi-analytical balance with an accuracy of 0.001 g, and the calculation of the total dry mass (aerial part and roots) was performed (Vieira et al., 2010).

After determining the dry mass, the material was triturated in a knife mill, model Star FT 50 - Fortinox®, packed in glass containers, and kept at room temperature.

#### *2.4. Ultrasound-assisted extraction*

Dry plant material (0.2 g) was weighed and placed in test tubes, with 5 mL of the hydro-ethanolic extracting solution (43% distilled water and 57% ethanol). The test tubes were immersed in an ultrasonic bath (Elma Ultrasonic S10H (typ), f.: 50/60 Hz, P.: 90 W, (Germany), and sonicated for 10 min at  $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ . After decanting the sonicated samples, they were filtered, then packed in glass containers and stored in a freezer for later analysis (Moreira and Dias, 2018).

#### *2.5. Determination of total phenolics*

Total phenolic content of ethanol–water basil extracts was determined using Folin-Ciocalteu reagent and gallic standard from Sigma Aldrich Co (St. Louis, MO, USA), according to the methodology proposed by Liazid (Liazid et al., 2010), with some modifications. In a volumetric flask (10 mL), 400  $\mu\text{L}$  of the sample extract, 1000  $\mu\text{L}$  of a saturated solution of sodium carbonate, and 300  $\mu\text{L}$  of Folin Denis reagent were added. Finally, the volume was completed with distilled water. The mixture was incubated for 60 min in the dark, at room temperature, and the total phenolic content was determined by UV–visible spectrophotometer (Biotech Engineering Management Co. Ltd., UK), BLL Model 1105) at 750 nm. The total content of phenolic compounds in the extracts was calculated from the calibration curve of gallic acid and expressed in gallic acid equivalent (GAE). The tests were performed in triplicate.

#### *2.6. Determination of total flavonoids*

The determination of flavonoids was performed following the methodology

proposed by Marques et al. (2012). For this purpose, 1.0 mL of the plant extract was transferred to 10 mL volumetric flasks, with 2.0 mL of an ethanol solution of  $\text{AlCl}_3$  (5%, m/v). The volume was completed to 10 mL with a solution composed of ethanol–water (40%, v/v). Then, the mixture was incubated for 30 min, and the flavonoids content was determined by UV–visible spectrophotometer (Biotech Engineering Management Co. Ltd., UK), BLL Model 1105) at 408 nm. The tests were performed in triplicate. The total flavonoid content was calculated using the quercetin standard calibration curve and the result expressed in quercetin equivalent (EQ).

### *2.7. Toxic metals determinations in nutritive solution by MIP OES*

The microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES) instrumental parameters were used according to the manufacturer's recommendations. The sample introduction system includes an Agilent SPS 3 automatic sampler, a double pass glass cyclonic nebulizer chamber, and an inert OneNeb nebulizer. A model 4107 nitrogen generator (Agilent Technologies) was used as a gas source for plasma. Using the MP Expert software, an automatic background correction was performed. The peristaltic pump was programmed to operate at 15 rpm. The stabilization time was 15 s and the integration time was 3 s. Two critical operating parameters (nebulizer flow and observation position in the plasma) were automatically optimized by the MP Expert software (Agilent Technologies). The Analytical wavelengths (nm) chosen were Al (396.152), Pb (405.781), Cd (508.582).

### *2.8. Determination of caffeic acid and rosmarinic acid by HPLC-DAD*

The determination was performed by HPLC-DAD system (Dionex Softron GmbH, Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Germany). The HPLC instrument was a Dionex Ultimate 3000 chromatograph, that consists of a vacuum degassing unit, automatic injection via autosampler, quaternary pump, thermostated oven to control the temperature of the chromatographic column and Dionex-DAD 3000 detection system. Chromeleon 7.1 software was used both for the control of chromatographic parameters and for the processing of the data obtained. A Zorbax

SB-Aq column (4.6 × 150 mm, 5 μ mol L<sup>-1</sup>, Agilent Technologies) was used for HPLC separations. Ultrapure water with 0.1% formic acid (A) and acetonitrile (B) were used as mobile phase. Phenolics were separated using the following gradient 0–3 min 5% B, 3–11 min 15% B, 11–15 min 32% B, 15–15.5 min 40% B, 15.5–16.5 min 50% B, 16.5–17 min 30% B, 17–17.5 min 15% B, 17.5–18 min 5% B, 18.5–20 min 5% B. The mobile phase flow was 1.2 mL/min, the column temperature 30 °C and the injection volume 5 μL. The identification and quantification of phenolic compounds were based on the comparison of the retention times and absorbance values of the peaks detected in the extracts with those obtained by injection of pure standards of each analyte.

### 2.9. Statistical analysis

The RStudio version 3.5.2 statistical program was used to apply the Shapiro-Wilk (normality) and Bartlett (homogeneity). The data regarding the variables caffeic acid, rosmarinic acid, and total dry mass, were transformed using  $\log(x + 1)$  to meet the assumptions of the statistical model, and then all variables were subjected to analysis of variance (Table 1). Multivariate analysis was applied to associate the data. Principal components analyses (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) were applied to the values of the concentrations obtained from total phenolics, total flavonoids, caffeic acid and rosmarinic acid from plant material and this PCA was performed on data on an automatic scale. For multivariate analysis, the software STATISTICA 7.0 for windows was used.

## 3. Results and discussion

The results for total dry mass, shown in Table 1, indicated that there was a significant difference ( $P < 0.001$ ) between the treatments with different concentrations of Al, Cd and Pb, in terms of dry biomass yield. The coefficient of variation was 24.19%, while the F ratio was one of the lowest (*F*value - 17.88), corresponding to one of the variables under study less influenced by the action of metals.

**Table 1.** Analysis of variance (ANOVA) the corresponding concentrations variables of aluminum, cadmium and lead applied in plants of *O. basilicum* L.

Variable	Source of variation	Df	SS	MS	Fvalue	Pr(>F)	CV (%)
Caffeic Acid	Metals	12	2.4033	0.2003	75.37	2.2 x 10 <sup>-16</sup> ***	11.29
	Residuals	26	0.0691	0.0026			
	Total	38	2.4724				
Rosmarinic Acid	Metals	12	8.4493	0.7041	182.00	2.2 x 10 <sup>-16</sup> ***	16.00
	Residuals	26	0.1006	0.0038			
	Total	38	8.5499				
Total Phenolics	Metals	12	86.046	7.1705	15.64	6.02 x 10 <sup>-9</sup> ***	15.52
	Residuals	26	11.918	0.4584			
	Total	38	97.964				
Total Flavonoids	Metals	12	808.68	67.390	56.38	1.75 x 10 <sup>-15</sup> ***	28.81
	Residuals	26	31.07	1.195			
	Total	38	839.75				
Total Dry Mass	Metals	12	0.3689	0.0307	17.88	1.389 x 10 <sup>-09</sup> ***	24.19
	Residuals	26	0.0447	0.0017			
	Total	38	0.4136				

Df= degrees of freedom; SS= Sum of Squares; MS= Mean Square; Fvalue= Fisher value; CV= Coefficient of variation in percentage. Pr(>F)= \*\*\* Significant at  $p < 0.001$ . Data transformed by Log ( $x+1$ ).

The averages of the different concentrations of aluminum, cadmium, and lead in relation to the total dry mass of the basil are presented in Table 2. The increase in the doses of Al, Pb and Cd resulted in a decrease in the average weight of the total dry mass. Except for dose 0.02 mmol L<sup>-1</sup> of cadmium. This decline resulted in values of  $0.99 \pm 0.37$  g in 0.12 mmol L<sup>-1</sup> of Al,  $0.98 \pm 0.18$  g in 0.16 mmol L<sup>-1</sup> of Pb, and  $1.30 \pm 1.08$  g in 1.20 mmol L<sup>-1</sup> of Cd, compared to the control ( $2.53 \pm 0.51$  g).

The accumulation of metallic pollutants in the environment, resulting from agricultural, industrial, or mineral activities, represents a serious problem due to its persistence and bioaccumulation. Metals can be easily inserted into the food chain by applying metal-based fertilizers and pesticides to increase production or control pests, diseases, and invasive plants. On the other hand, the practice of cultivating plants in a hydroponic system allows uniform growth conditions, better control of different types of fertilization, allowing reproducibility. This system offers advantages in quality and production, and under controlled conditions, minimizes problems related to plant contamination – in addition to promoting nutritional balance through the homogeneous distribution of nutrients (Sgherri et al., 2010).

**Table 2.** Average values of the analyzed variables (mean  $\pm$  confidence interval) as a function of the concentrations of aluminum, cadmium and lead applied in plants of *O. basilicum* L.

Sample	Concentration add (mmol L <sup>-1</sup> )	CA (mg g <sup>-1</sup> )	RA (mg g <sup>-1</sup> )	TP (mg GAE g <sup>-1</sup> )	TF (mg EQ g <sup>-1</sup> )	TDM (g)
Control	0.00	87.06 $\pm$ 0.30	319.87 $\pm$ 0.55	10.23 $\pm$ 0.15	18.44 $\pm$ 0.10	2.53 $\pm$ 0.51
	0.04	99.39 $\pm$ 0.33	239.73 $\pm$ 0.51	8.64 $\pm$ 0.47	12.07 $\pm$ 0.04	1.80 $\pm$ 1.06
Add aluminum	0.08	87.59 $\pm$ 0.17	258.46 $\pm$ 0.11	8.49 $\pm$ 0.45	7.85 $\pm$ 0.62	1.32 $\pm$ 0.46
	0.12	80.51 $\pm$ 0.27	200.54 $\pm$ 0.74	8.35 $\pm$ 0.49	11.39 $\pm$ 0.29	0.99 $\pm$ 0.37
	0.16	86.58 $\pm$ 0.26	210.46 $\pm$ 0.46	7.79 $\pm$ 0.51	9.34 $\pm$ 0.37	1.18 $\pm$ 0.33
	0.04	295.98 $\pm$ 0.34	2747.54 $\pm$ 0.36	10.75 $\pm$ 0.09	19.62 $\pm$ 0.22	2.26 $\pm$ 0.87
Add lead	0.08	233.22 $\pm$ 0.66	1722.59 $\pm$ 0.75	10.68 $\pm$ 0.18	17.00 $\pm$ 0.40	1.64 $\pm$ 0.09
	0.12	257.91 $\pm$ 0.38	2689.14 $\pm$ 0.52	11.29 $\pm$ 0.21	18.56 $\pm$ 0.16	1.46 $\pm$ 0.27
	0.16	290.68 $\pm$ 0.98	2328.24 $\pm$ 1.11	11.80 $\pm$ 0.79	14.79 $\pm$ 0.28	0.98 $\pm$ 0.18
Add cadmium	0.02	244.01 $\pm$ 0.38	1495.92 $\pm$ 0.20	10.73 $\pm$ 0.05	20.65 $\pm$ 0.28	3.20 $\pm$ 0.90
	0.06	327.38 $\pm$ 0.72	2029.36 $\pm$ 0.97	12.33 $\pm$ 0.13	20.57 $\pm$ 0.26	2.37 $\pm$ 0.45
	1.20	331.04 $\pm$ 0.40	2244.98 $\pm$ 0.40	11.59 $\pm$ 0.24	19.38 $\pm$ 0.17	1.30 $\pm$ 1.18
	1.80	302.08 $\pm$ 0.74	2165.09 $\pm$ 0.52	12.44 $\pm$ 0.13	22.41 $\pm$ 0.38	2.08 $\pm$ 0.34

Caffeic acid (CA). rosmarinic acid (RA). totals phenolics (TP). totals flavonoids (TF). e total dry mass (TDM).

In the present study, it was found that 0.02 mmol L<sup>-1</sup> of cadmium provided a slight increase in dry matter mass in basil samples, grown in a hydroponic system. However, the increasing concentrations of aluminum, lead, and cadmium, may have caused a nutritional imbalance, which is reflected in the productivity (Table 2). This productivity is causally related to the total dry mass content. Fattahia et al. (2019) also reported a reduction in the dry weight of aerial parts of the same species, in response to the addition of different concentrations of cadmium (0, 5, 10, and 20) and lead (0, 100, 200, and 400) in mg kg<sup>-1</sup> of soil. Thus, it can be said that the physiological reactions related to the primary metabolism of the plant, responsible for growth and development, were compromised by metallic stress.

Considering previous studies and the results presented in this work, it is suggested that the metallic stress can be phytotoxic, varying according to the type, quantity, and mobility of the metal for the different parts of the plant. Depending on the concentration, cadmium influences the primary metabolism, and can stimulate an increase in the dry matter mass of basil plants grown in a hydroponic system.

To evaluate the effect of metals on the synthesis of phenolic compounds, the content of rosmarinic and caffeic acids in ethanol–water basil extracts was determined. When analyzing the results obtained, the concentration of rosmarinic acid in relation to the addition of different concentrations of the metals aluminum,

lead and cadmium, there was a significant difference ( $P < 0.001$ ) in the synthesis of this biocompound. In addition, according to the high value resulting from the  $F$  ratio ( $F_{value} = 128$ ), it is suggested that this variable was the most influenced by the action of metals when compared to the other variables studied (Table 1).

The results explained in Table 2, show that treatments with different doses of cadmium and lead, provided an increase in the content of phenolic acids in hydroethanolic basil extracts. Rosmarinic acid was one of the acids with the highest concentration range. In samples of plants submitted to Pb doses, there was a variation of 1722.59–2747.54 mg g<sup>-1</sup>, while in the samples resulting from treatments with Cd doses; the variation was between 1495.92 and 2244.98 mg g<sup>-1</sup>. The doses of 0.04 mmol L<sup>-1</sup> of lead and 1.20 mmol L<sup>-1</sup> of cadmium are responsible for the highest average values of the content of rosmarinic acid present in hydroethanolic basil extracts.

The content of rosmarinic acid in samples of basil plants, submitted to the application of different aluminum doses, was reduced (200.54–258.46 mg g<sup>-1</sup>), when compared to the average content presented by the control treatment (319.87 mg g<sup>-1</sup>) and, in the treatments with cadmium and lead (Table 2).

Regarding the results obtained for caffeic acid, it was observed that the averages resulting from the treatments studied differed from each other, at the level of significance of 5% (Table 1). The analysis showed an increase in the synthesis of this phenolic acid in most of the treatments applied when compared to the control treatment. Among the variables studied, caffeic acid showed a lower coefficient of variation ( $CV = 11.29\%$ ), showing less variability between the average values of the concentrations of the metals studied among themselves.

The addition of lead and cadmium in the hydroponic cultivation of basil resulted in higher average values of caffeic acid, when compared to the average values of control plants and those treated with aluminum. The highest averages of this variable resulted from the concentrations of 0.04 and 0.16 mmol L<sup>-1</sup> of lead (295.98 and 290.68 mg g<sup>-1</sup>) and the cadmium doses of 0.06 and 1.20 mmol L<sup>-1</sup> (327.38 and 331.04 mg g<sup>-1</sup>), respectively. The lowest concentrations were found in the control plants (87.06 mg g<sup>-1</sup>) and in those that received different concentrations of aluminum (80.51 to 99.39 mg g<sup>-1</sup>). It is noteworthy that the increase in aluminum concentrations led to a decrease in the synthesis of caffeic acid under the conditions of the present study (Table 2).

Total phenolic content was also explored, to evaluate the influence of metals on this important biocompound group. The average values of total phenolic compounds varied significantly ( $P < 0.001$ ), in relation to the stress caused by the different concentrations of metals applied in this study. The lowest result of the  $F$  ratio ( $Fvalue = 15.64$ ) expresses the low influence of metals in the total phenolic content, when compared to the result of the ratio of the other analyzed variables (Table 1).

By analyzing the data presented in Table 2, the increasing concentrations (0.04 to 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) of aluminum decreased from 8.64 to 7.79 mg GAE g<sup>-1</sup> of the average value of the total phenolic content, which was not observed in the treatments with the metals lead, cadmium, and the control. The highest concentrations of lead (0.16 mmol L<sup>-1</sup>) and cadmium (1.80 mmol L<sup>-1</sup>) induced an increase in the synthesis of total phenolic compounds, resulting in 11.80 and 12.44 mg GAE g<sup>-1</sup>. The production of total phenolic compounds was directly influenced by the application of different concentrations of metals in the hydroponic system, in comparison with plants that were not subjected to stress by metals.

Therefore, the total content of flavonoids was also evaluated. The statistical results for the concentration of total flavonoids (Table 1) infer a greater variability ( $CV = 28.81\%$ ) between the average values of the concentrations of the metals studied among themselves, which resulted in a significant difference ( $P < 0.001$ ) between the treatments (Table 1).

Aluminum concentrations also promoted a reduction (7.85 to 12.07 mg EQ g<sup>-1</sup>) in the synthesis of total flavonoids, in comparison to the average of control plants and the other treatments applied. The highest concentrations of total flavonoids were found in plants treated with cadmium, at a concentration of 1.80 mmol L<sup>-1</sup> with the highest mean value (22.41 mg EQ g<sup>-1</sup>). Different concentrations of lead provided a high variation in the induction of the synthesis of total flavonoids, mostly lower than the average of the control plants (18.44 mg EQ g<sup>-1</sup>), except for the concentration 0.04 mmol L<sup>-1</sup> when it was an average observed 19.62 mg EQ g<sup>-1</sup> (Table 2).

The results of the determination of caffeic and rosmarinic acids, in hydroethanolic basil extracts, suggested that the increase was conditioned by the presence of the metals cadmium and lead, but not directly proportional to the increase in the concentrations of these metals. It is noteworthy that the highest

amounts of rosmarinic acid belonged to the lead samples, and the increases in caffeic acid and total phenolics were greater in the samples with cadmium. The genus *Ocimum* is one of the most important in the *Lamiaceae* family. Several reports have shown that different concentrations of *O. basilicum* extract have antioxidant action, due to polyphenols and flavonoids such as rosmarinic acid, caffeic, ferulic, rutin, isoquercetin, apigenin (Güez et al., 2017; Mousavi et al., 2019).

Secondary metabolites are essential to attribute quality to medicinal plants (Cheng et al., 2018), and respond to signs of various types of abiotic stresses such as water, saline, ultraviolet radiation (UV), metals, among others (Kumar and Sharma, 2018). The inadequate application of fertilization and irrigation can result in soil salinization and promote stress in basil plants, decreasing the total phenolic content and total flavonoids (Bahcesular et al., 2020). On the other hand, the acute incidence of UV-B radiation at concentrations of 8.5, 34, 68, and 102 kJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, for up to 72 h, favors the progressive increase in the synthesis of phenolic compounds (Mosadegh et al., 2018). A similar result is observed in the increase in the concentrations of cadmium and lead in the soil, on the content of active compounds in the essential oil of basil (Fattahia et al., 2019).

Moreover, aluminum associated with cadmium favors the expression of a biochemical response in the synthesis of compounds and in the antioxidant activity of blueberries (Manquián-Cerda et al., 2018). These stresses promote changes in the primary and secondary metabolism of the plant, but when oxidative stress occurs the plant increases the synthesis of various secondary compounds and endogenous enzymes, to reduce the effect of reactive oxygen species (ROS) (Kumar & Sharma, 2018).

According to Lajayer et al. (2017), phenolic compounds are an important part of the non-enzymatic antioxidant system and help the plant to deal with abiotic stress. Flavonoids also contribute to this action and are correlated with antioxidant activity, which determines the quality of basil extract (Teofilović et al., 2017). Therefore, the 21.53% increase in the concentrations of total flavonoids in basil plants, treated with 1.80 mmol L<sup>-1</sup> of cadmium, may be associated with increased antioxidant activity and better quality in the plant medicinal potential. The direct relationship between the metallic stress caused by lead and cadmium under the increased synthesis of phenolic compounds, is also reported by Venkatachalam et al. (2017), Chandrasekhar and Ray (2019), Chen et al. (2019) and Zoufan et al.



(2020). However, the identification and specific increases of some secondary metabolites can vary between species, varieties, and cultivars, as recognized by different authors (Kwee and Niemeyer, 2011; Manquián-Cerda et al., 2018). For example, Korkmaz et al. (2018) observed that among eight basil genotypes surveyed, only four showed specific increases in total phenolics in an environment with up to 20 mg kg<sup>-1</sup> of cadmium. The low content of mineral nutrition (3.79 mmol L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) contributed to variation in the total phenolic content, while inducing an increase in the synthesis of flavonoids in all tested cultivars (Jakovljević et al., 2019).

The exogenous application of different doses of aluminum in the hydroponic cultivation of basil, proposed in this study, demonstrated the sensitivity of this species in relation to the action of aluminum, in the synthesis of active compounds of secondary metabolism.

The low values (reduction of up to 7.52% CA, 37.30% RA, 23.85% TP and 57.42% TF) may be related to the high toxicity of aluminum on the plant's metabolism, but the different concentrations do not have a direct relationship with the synthesis of these compounds. Similar results were observed by Manquián-Cerda et al. (2018), where the application of aluminum (100 µmol L<sup>-1</sup>) in the *in vitro* cultivation of blueberry seedlings (*Vaccinium corymbosum* L.), resulted in an increase in the concentration of phenolic compounds content in the first seven days, and a reduction in cultivation, stabilizing in the final period (21 and 30 days) of the study.

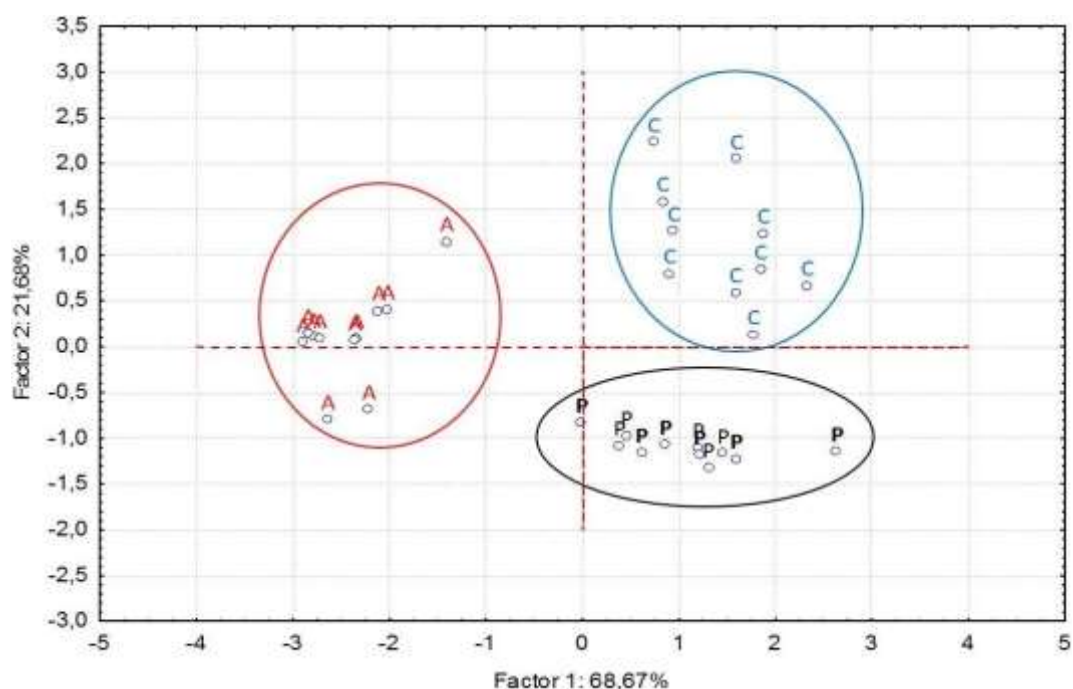
Thus, it is concluded that the effect of aluminum on the synthesis of phenolic compounds will depend on the degree of tolerance and the time of exposure of the plant to this metal. Controversial result was observed by Đogić et al. (2017) in the study of seedlings (60 days) of *O. basilicum*, when it was found that the concentration of 100 mg kg<sup>-1</sup> of aluminum chloride (Al<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>) and cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) in the soil, provided a significant increase of 50% in the contents of phenolics, flavonoids and flavanols, compared to the control.

### 3.1 Exploratory analysis

The PCA results were used to explain the relationships between the mean values of the variables (caffeic acid, rosmarinic acid, total phenolics, total flavonoids and total dry mass) analyzed for each sample were used, according to the four

different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (Al) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) studied. The response matrix constructed with 45 samples and 5 variables, and the data were autoscaling.

The two principal components were responsible for 90.35% of the accumulated variance, in the presence of different potentially toxic metals. The score plot (Fig. 1) in the plane defined by PC1 (68.67%) and PC2 (21.68%), in the score graph shows the separation in three different groups, according with applied stress (Al, Pb and Cd), in other words, in Fig. 1 shows a trend that denotes a variation in the plant's responses to the action of the different treatments applied, since all the metals studied are in different clusters. However, the different concentrations of the metals cadmium and lead showed positive values with PC1, which was not observed for the two groups of metals in PC2, when cadmium was positively distributed and lead negatively. Different behaviors were obtained for the different aluminum concentrations in the two PC (Fig. 1).

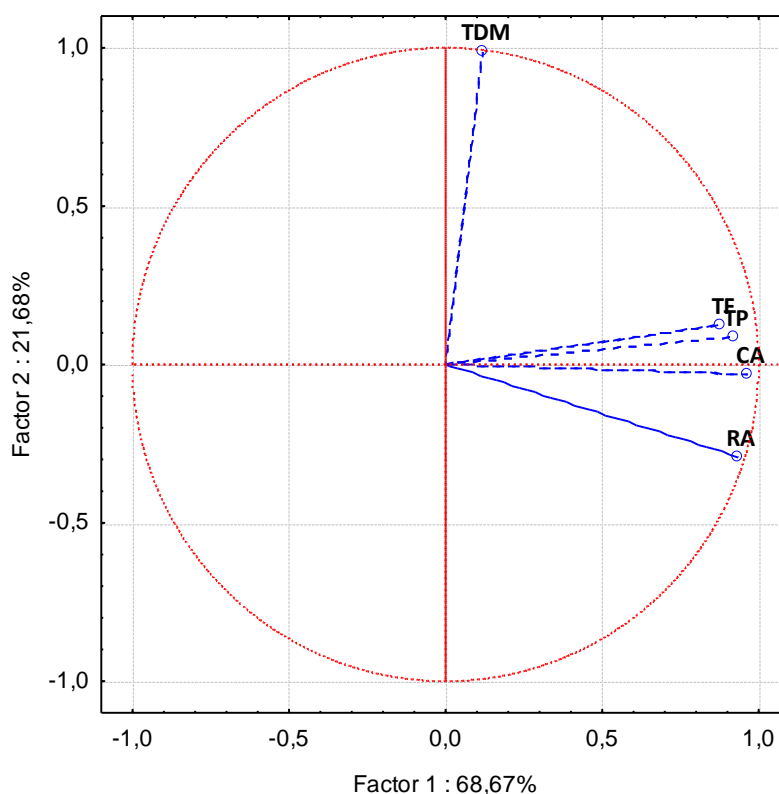


**Fig. 1.** Score graph for PC1 X PC2 of four different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (A) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) applied in plants of *O. basilicum* L.

The Principal component analyzes (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) using the Ward's method were applied to the values of concentrations obtained from total phenolics, total flavonoids, caffeic acid and rosmarinic acid from plant material data as a response matrix and this PCA was performed using using

autoscaling as preprocessing for every variable.

In the projection graph (Fig. 2), the variables total flavonoids (TF), total phenolics (TP), caffeic acid (CA) and rosmarinic acid (RA) formed acute angles to each other, which indicates high positive correlations between these variables. The projection of the vector corresponding to the total dry mass (TDM), formed angles close to 90° with the variables TF, TP, CA and RA, which suggests that there is no correlation between TDM and the other variables (Fig. 2). Given the above, it can be inferred that the weight of the total dry mass does not directly influence the synthesis of active compounds, resulting from the secondary metabolism of basil plants.



**Fig. 2.** Graph of weight of the variables totals phenolics contents (TP), totals flavonoids (TF), caffeic acid (CA), rosmarinic acid (RA), e total dry mass (TDM) of extracts of *O. basilicum* L. subjected to of four different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (Al) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) in the plane.

Table 3 shows the weights and factors of the principal components, and the first principal component (PC1) is mainly related to the concentrations of caffeic, rosmarinic and total phenolic acids; followed by total flavonoids. These variables

expressed a correlation with PC1 above 85%. This result can also be seen in Fig. 2, where the vectors corresponding to these same variables (CA, RA, TP and TF), showed vectors of greater length and closer to the axis of PC1. This suggests that these variables were the ones that most influenced the power of discrimination of the data, as they had higher positive weights (Fig. 2 and Table 3).

In relation to PC2, the total dry mass is the variable with the highest positive weight (Fig. 2 and Table 3), being responsible for the greatest dispersion and formation of the groups observed in Fig. 1.

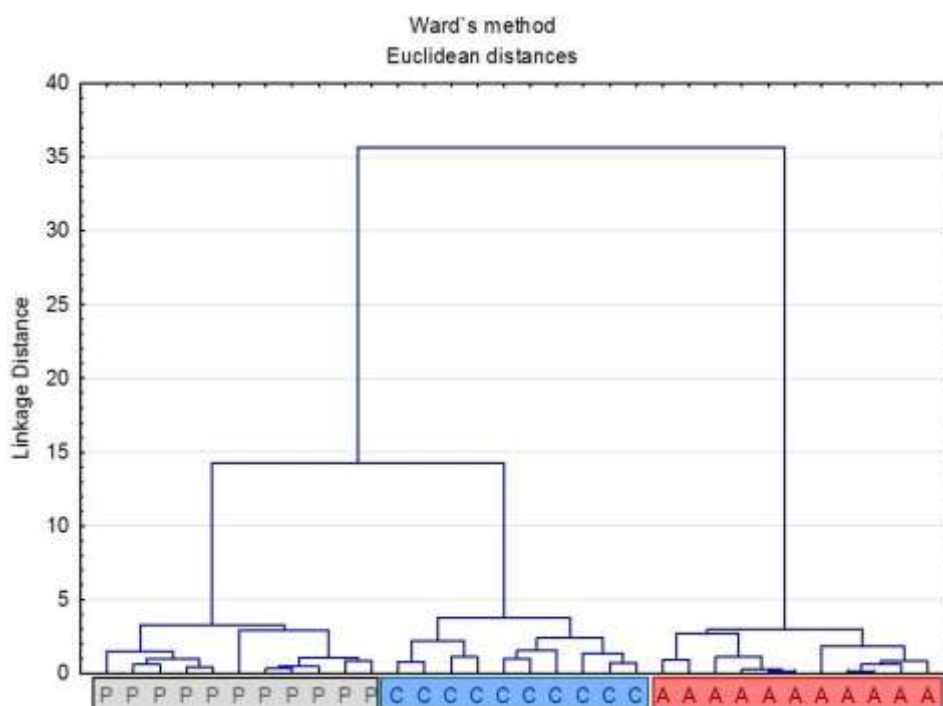
**Table 3.** Weights of the variables in relation to the main components.

Variable	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5
Cafeic acid	0.97	-0.03	-0.13	0.19	0.11
Rosmarinic acid	0.94	-0.28	-0.04	0.15	-0.12
Total phenolics	0.92	0.08	-0.24	-0.29	-0.003
Total flavonoids	0.88	0.14	0.45	-0.07	0.014
Total dry mass	0.09	0.99	-0.06	0.085	-0.033

As for the presence of cadmium in the cultivation of the species *Kandelia obovata*, Chen et al. (2019) there was a high positive correlation between the cadmium content Cd (0.237 mg kg<sup>-1</sup>) and the content of total phenolic compounds, which was not observed in relation to biomass. Therefore, they concluded that the concentration of cadmium present in the cultivation of *K. obovata*, inhibits the growth of plants and stimulates the accumulation of phenolic compounds. Fattahia et al. (2019) also reported this positive correction between the increase in the synthesis of compounds in the essential oil of *O. basilicum*, and the metals cadmium and lead. In the study with extracts from 15 species of the genus *Ocimum*, Koroch et al. (2010) confirmed by HPLC analysis, that the ethanolic extracts of the species are rich in phenolic compounds (2.59 to 8.28 g GAE / 100 g DW), and that rosmarinic acid was the predominant phenolic acid (0.48 to 5.9 g RA / 100 g DW). In view of the results, the authors interrelated that the antioxidant capacity was associated with the content of the phenolic components.

The HCA confirmed the results presented in the two-dimensional map of the PCA, forming three main clusters, which can be combined with the different

concentrations of the studied metals. In the first cluster are the concentrations of lead (P) highlighted in gray; in the second the cadmium concentrations (C) highlighted in blue, and the third the aluminum concentrations (A) highlighted in red (Fig. 3). This stratification into groups reveals that there was a difference between the metals studied on the secondary metabolism of *O. basilicum*. The similarity dendrogram between the samples presented in the HCA shows that the proximity between the samples is related to similar values for the analyzed variables (different concentrations of metals). Therefore, the smallest distances between measurements in relation to the samples correspond to a greater analogy between them. However, they observed that the different concentrations of aluminum showed a difference of 36% in relation to the concentrations of the metals lead and cadmium, which showed the same level of similarity (14%), according to the percentages presented on the y-axis.



**Fig. 3.** Dendrogram of Hierarchical Cluster Analysis (HCA) of of four different concentrations of (C) cadmium (0.2, 0.6, 1.2, and 1.8 mmol L<sup>-1</sup>), (P) lead and (A) aluminum (0.04, 0.08, 0.12, and 0.16 mmol L<sup>-1</sup>) applied to plants of *O. basilicum* L.

According to the data presented in Table 4 (Complementary material), there are strong positive correlations between caffeic acid, rosmarinic acid and total phenolics; medians between rosmarinic acid, total flavonoids, and total phenolics.

However, the correlation between total dry mass and the other variables (total flavonoids, total phenolics, caffeic acid and rosmarinic acid) shows extremely low and decreasing values (0.215 to -0.007), reaching negative values.

**Table 4.** Correlation coefficients of the studied variables.

	CA	RA	TP	TF	TDM
CA	1.000000	0.940521	0.828968	0.691617	-0.007088
RA		1.000000	0.783777	0.683070	-0.233914
TP			1.000000	0.721627	0.147858
TF				1.000000	0.215467
TDM					1.000000

Caffeic acid (CA), Rosmarinic acid (RA), Totals phenolics (TP), Totals flavonoids (TF), e Total dry mass (TDM).

The results of PCA and HCA presented in this study revealed that the concentrations of metals studied directly influence the antioxidant potential of basil plants, due to the strong correlation between the concentrations of rosmarinic and caffeic acids, the total phenolic content, and the concentration of flavonoids. The anti-correlation between total dry mass and the other variables analyzed in this study reinforces the results presented in the literature that the dry mass yield of *O. basilicum* plants submitted to different concentrations of the metals aluminum, cadmium, and lead, not correlated to the synthesis of these active compounds.

Considering the results of the present study and the comparison with works reported in the literature, it can be said that metallic stress can promote changes in the development of plants and trigger various biochemical, physiological, and morphological reactions, varying according to the type of metal, concentration, time of exposure, and species to be cultivated.

#### 4. Conclusion

From the results obtained in this work, it is concluded that *O. basilicum* plants may be sensitive to aluminum, and moderately tolerant to the addition of different concentrations of lead and cadmium, when grown in a hydroponic system. The addition of metals to hydroponic solutions may have caused nutritional imbalance, negatively affecting growth, which is directly related to the mass production of plant dry matter.

The metals lead and cadmium induced an increase in the synthesis of phenolic acids, especially rosmarinic acid, which had a content four times higher than caffeic acid.

The hierarchical cluster analysis was an efficient study to verify the clustering of the metals Al, Cd and Pb, in relation to the dry matter mass, and of the phenolic compounds identified in the samples of basil hydroethanolic extracts.

It is worth mentioning that no other studies were found that compared the doses of the studied metals and correlated them with the phenolic profiles of hydroethanolic extracts of *O. basilicum*.

### **Funding information**

This study was funded by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

### **Ethical approval**

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

### **Declaration of Competing Interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### **Acknowledgments**

The authors are grateful to the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB, Brazil), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil).

### **Appendix A. Supplementary data**

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130682>.

## References

- Ahmad, J., Baig, M. A., Ali, A. A., Al-Huqail, A. A., Ibrahim, M. M., & Qureshi, M. I. (2018). Differential antioxidative and biochemical responses to aluminum stress in *Brassica juncea* cultivars. *Horticulture Environment Biotechnology*, 59, 615–627. <https://doi.org/10.1007/s13580-018-0068-1>.
- Bahcesular, B., Yildirim, ED, Karaçocuk, M., Kulak, M., Karaman, S., 2020. Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. *Industrial Crops & Products*. 146, april 2020, 112165, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112165>.
- Chandrasekhar, C., & Ray, J. G. (2019). Lead accumulation, growth responses and biochemical changes of three plant species exposed to soil amended with different concentrations of lead nitrate. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 171, 026–36. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.058>.
- Chen, S., Wang, Q., Lu, H., Li, J., Yang, D., Liu, J., & Yan, C. (2019). Phenolic metabolism and related heavy metal tolerance mechanism in *Kandelia obovata* under Cd and Zn stress. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 169, 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.004>.
- Cheng, L., Han, M., Yang, L. M., Li, Y., Sun, Z., & Zhang, T. (2018). Changes in the physiological characteristics and baicalin biosynthesis metabolism of *Scutellaria baicalensis* Georgi under drought stress. *Industrial Crops & Products*, 122, 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.030>.
- Chiang, L.-C., Ng, L.-T., Cheng, P.-W., Chiang, W., & Lin, C. C. (2005). Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32, 811–816. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2005.04270.x>.
- Clark, R. B. (1975). Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(3), 458–460. <https://doi.org/10.1021/jf60199a002>.
- Carvalho, R. N. C. S., Brito, G. B., Korn, M. G. A., Teixeira, J. S. R., Dias, F.d. S., Dantas, A. F., & Teixeira, L. S. G. (2015). Multi-element determination of copper, iron, nickel, manganese, lead and zinc in environmental water samples by ICP OES after solid phase extraction with a C18 cartridge loaded with 1-(2-pyridylazo)-2- naphthol. *Analytical Methods*, 7(20), 8714–8719. <https://doi.org/10.1039/C5AY01929J>.
- Dankwa, A. S., Machado, R. M., & Perry, J. J. (2020). Sources of food contamination in a closed hydroponic system. *Letters in Applied Microbiology*, 70(1), 55–62. <https://doi.org/10.1111/lam.v70.110.1111/lam.13243>.
- Dias, Fabio de Souza, David, & David. (2016). Determination of phenolic acids and quercetin in brazilian red wines from vale do sao francisco region using liquid-liquid ultrasound-assisted extraction and HPLC-DAD-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 1055–1059. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150363>.
- Dias, F. S., Guarino, M. E. P. A., Pereira, A. L. C., Pedra, P. P., Bezerra, M. A., & Marchetti, S. G. (2019). Optimization of magnetic solid phase microextraction with CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles unmodified for preconcentration of cadmium in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 146, 1095–1101. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.005>.



- Dinu, C., Vasile, G.-G., Buleandra, M., Popa, D. E., Gheorghe, S., & Ungureanu, E.-M. (2020). Translocation and accumulation of heavy metals in *Ocimum basilicum* L. plants grown in a mining-contaminated soil. *Journal of Soils and Sediments*, 20(4), 2141–2154. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02550-w>.
- Divani, S., Paknejad, F., Ghafourian, H., Alavifazel, M., Ardakani, MR, 2017. Feasibility Study on Reducing Lead and Cadmium Absorption in Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) With Using Active Carbon. *Journal of Crop Nutrition Science*. 3, 25-36, ISSN 2423-7353.
- Đogić, S., Džubur, N., Karalija, E., & Parić, A. (2017). Biochemical responses of basil to aluminium and cadmium stresses. *Acta Agriculturae Serbica*, 22(44), 57– 65. <https://doi.org/10.5937/AASer1743057D>.
- Fattahia, B., Arzania, K., Souria, M. K., & Barzegarb, M. (2019). Effects of cadmium and lead on seed germination, morphological traits, and essential oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Industrial Crops & Products*, 138, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111584>.
- Güez, C. M., Souza, R. O., Fischer, P., Leão, M. F. M., Duarte, J. A., Boligon, A. A., et al. (2017). Evaluation of basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on oxidative, anti-genotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agentes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53, 1–12. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902017000115098>.
- Hassanzadeh, M. K., Emami, S. A., Asili, J., Tayarani-Najaran, Z., (2011). Review of the essential oil composition of Iranian Lamiaceae. *Journal of Essential Oil Research*. 23, 1-40, <https://doi.org/10.13140/2.1.1261.7929>.
- Jakovljević, D., Topuzović, M., & Stanković, M. (2019). Nutrient limitation as a tool for the induction of secondary metabolites with antioxidant activity in basil cultivars. *Industrial Crops and Products*, 138, 111462. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.06.025>.
- Jalmi, S. K., Bhagat, P. K., Verma, D., Noryang, S., Tayyeba, S., Singh, K., et al. (2018). Traversing the links between heavy metal stress and plant signaling. *Frontiers in Plant Science*, 9, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00012>.
- Korkmaz, K., Erturk, O., Ayvaz, M. C., Ozcan, M. M., Akgun, M., Kirli, A., & Odabas Alver, D. (2018). Effect of Cadmium Application on Antimicrobial, Antioxidant and Total Phenolic Content of Basil Genotypes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52, S108–S114. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.84>.
- Koroch, A. R., Juliani, H. R., Sims, C., & Simon, J. E. (2010). Antioxidant activity, total phenolics, and rosmarinic acid content in different basil (*Ocimum* spp.). *Israel Journal of Plant Sciences*, 58, 191–195. <https://doi.org/10.1560/IJPS.58.3-4.191>.
- Kwee, E. M., & Niemeyer, E. D. (2011). Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 128(4), 1044–1050. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.011>.
- Kumar, I., Sharma, RK, (2018). Production of secondary metabolites in plants under abiotic stress: an overview. *Significances of Bioengineering & Biosciences*.2, 1-5. <https://doi.org/10.31031/SBB.2018.02.000545>.
- Lajayer, B. A., Ghorbanpour, M., & Nikabadi, S. (2017). Heavy metals in contaminated environment: Destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. *Ecotoxicology*

- Environmental Safety*, 145, 377–390.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.035>.
- Liazid, A., Schwarz, M., Varela, R. M., Palma, M., Guill'en, D. A., Brigui, J., et al. (2010). Evaluation of various extraction techniques for obtaining bioactive extracts from pine seeds. *Food and Bioproducts Processing*, 88(2-3), 247–252. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2009.11.004>.
- Manquián-Cerda, K., Cruces, E., Escudey, M., Zúniga, G., & Calderon, R. (2018). Interactive effects of aluminum and cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets cultivated in vitro. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 150, 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.050>.
- Marques, G. S., Monteiro, R. P. M., Leão, W. d. F., Lyra, M. A. M., Peixoto, M. S., Rolim- Neto, P. J., et al. (2012). Avaliação de procedimentos para quantificação espectral fotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* LINK. *Química Nova*, 35(3), 517–522. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300014>.
- Moreira, G. C., & Dias, F. S. (2018). Mixture design and Doehlert matrix for optimization of the ultrasonic assisted extraction of caffeic acid, rutin, catechin and trans -cinnamic acid in *Physalis angulata* L. and determination by HPLC DAD. *Microchemical Journal*, 141, 247–252. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.035>.
- Mosadegh, H., Trivellini, A., Ferrante, A., Lucchesini, M., & Mensuali, A. (2018). Applications of UV-B lighting to enhance phenolic accumulation of sweet basil. *Scientia Horticulturae*, 2299, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.043>.
- Mousavi, M., Zaiter, A., Becker, L., Modarressi, A., Baudelaire, E., & Dicko, A. (2019). Optimisation of phytochemical characteristics and antioxidative properties of *Foeniculum vulgare* Mill. seeds and *Ocimum basilicum* L. leaves superfine powders using new parting process. *Phytochemical Analysis*, 2019, 1–10. <https://doi.org/10.1002/pca.2875>.
- Padash, A., Ghanbari, A., Asgharipour, M. R., & Javaheri, M. A. (2019). Changes in antioxidant enzymes activity and physiological traits by exogenous salicylic acid in basil (*Ocimum basilicum*) under Pb stress. *Journal of Plant Process and Function*, 7, 17–24.
- Scagel, C. F., Lee, J., & Mitchell, J. N. (2019). Salinity from NaCl changes the nutrient and polyphenolic composition of basil leaves. *Industrial Crops and Products*, 127, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.048>.
- Sakr, S. A., & Al-Amoudi, W. M. (2012). Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on deltamethrin induced nephrotoxicity and oxidative stress in albinorats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(5), 22–27. <https://doi.org/10.7324/JAPS10.7324/JAPS.2012.2507>.
- Sgherri, C., Cecconami, S., Pinzino, C., Navari-Izzo, F., & Izzo, R. (2010). Levels of antioxidants and nutraceuticals in basil grown in hydroponics and soil. *Food Chemistry*, 123, 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.058>.
- Teofilović, B., Grujić-Letić, N., Goločorbin-Kon, S., Stojanović, S., Vastag, G., & Gadžurić, S. (2017). Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. *Industrial Crops and Products*, 100, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.039>.
- Venkatachalam, P., Jayalakshmi, N., Geetha, N., Sahi, S. V., Sharma, N. C.,

- Rene, E. R., et al. (2017). Accumulation efficiency, genotoxicity and antioxidant defense mechanisms in medicinal plant *Acalypha indica* L. under lead stress. *Chemosphere*, 171, 544–553. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.092>.
- Vieira, E. L., Souza, G. S., Santos, A. R., & Silva, J. S. (2010). *Manual de fisiologia vegetal* (p. 230p). São Luis: EDUFMA.
- Zeiner, M., & Juranović Cindrić, I. (2017). Review – trace determination of potentially toxic elements in (medicinal) plant materials. *Analytical Methods*, 9(10), 1550–1574. <https://doi.org/10.1039/C7AY00016B>.
- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>.
- Zoufan, P., Azad, Z., Rahnema Ghahfarokhie, A., & Kolahi, M. (2020). Modification of oxidative stress through changes in some indicators related to phenolic metabolism in *Malva parviflora* exposed to cadmium. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 187, 109811. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109811>.