Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Manejo de irrigação em diferentes fases de desenvolvimento
da *Calendula officinalis* L.**

Catariny Cabral Aleman

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Engenharia de
Sistemas Agrícolas

Piracicaba
2015

Catariny Cabral Aleman
Engenheira Agrônoma

Manejo de irrigação em diferentes fases de desenvolvimento da *Calendula officinalis* L.
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Profa. Dra. **PATRICIA ANGÉLICA ALVES MARQUES**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Engenharia de Sistemas Agrícolas

Piracicaba
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Aleman, Catariny Cabral

Manejo de irrigação em diferentes fases de desenvolvimento da *Calendula officinalis* L. /
Catariny Cabral Aleman. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de
2011. - - Piracicaba, 2015.

71 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Planta medicinal 2. Exigência hídrica 3. Produtividade de água 4. Metabólitos
secundários I. Título

CDD 633.88
A367a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICATÓRIA

Dedico em primeiro lugar a Deus que me deu forças para seguir em frente mesmo nos momentos de franqueza.

Dedico a todos os meus familiares, em especial a meu pai Aristides Ramon Aleman Estigarribia, minha mãe Lucila Cabral Aleman e minha irmã Géssica Cabral Aleman que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando, amparando e dando força para não desistir deste sonho.

Dedico aos meus avôs Adeades de Luna Cabral e Ilza Terezinha Theodósio Cabral, que apesar de todos os obstáculos, me ajudaram para que eu conseguisse realizar esse sonho.

Dedico à minha avó Isabel Estigarribia (in memorian) que mesmo não estando mais entre nós, torceu para que eu alcançasse essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que me guiou durante todo o doutorado, pela saúde e pela proteção durante toda caminhada.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e em especial ao Departamento de Engenharia de Biosistemas por conceder essa oportunidade e fornecer toda estrutura necessária para execução desta tese.

Agradeço a professora Dra. Patricia Angélica Alves Marques, que durante toda minha vida acadêmica (graduação, mestrado e doutorado) me aconselhou, orientou e confiou para realização deste trabalho.

A todos os professores do programa de Pós-Graduação em Engenharia de Sistemas Agrícolas, pela contribuição, em especial aos que tive oportunidade de ampliar meus conhecimentos: Dr. José Antônio Frizzzone, Dr. Tarlei Arriel Botrel, Dr. Marcos Vinícius Folegatti, Dra. Patricia Angélica Alves Marques; Dr. Ricardo Ferraz, do Programa de Fisiologia e Bioquímica de Plantas; Dra. Sônia Maria de Stefano Piedade, Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias e Dr. Gabriel Adrian Sarries, do Programa de Ciências Exatas, por todos os ensinamentos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia de Biosistemas, em especial Sr. Antônio, Gilmar, Paula, Antônio Pires, Ezequiel, Hélio, Luiz e as secretárias Davilmar, Angela, Beatriz e Paula.

A todos os colegas de Pós-Graduação que estiveram envolvidos direta ou indiretamente e que contribuíram para alcançar meu objetivo e concluir este trabalho.

BIOGRAFIA

Catariny Cabral Aleman, filha de Aristides Ramon Aleman Estigarribia e Lucila Cabral Aleman, nascida em São Paulo-SP, em 07 de julho de 1988. Iniciou os estudos na Escola Pequiá em 1990 no município de São Paulo. Concluiu o ensino médio no Colégio Carlos Drummond de Andrade em Colorado-PR. De 2006 a 2009 graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente-SP. Em 2009 obteve bolsa da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo para realização da iniciação científica intitulada: “Resposta da *Calendula officinalis* L. a diferentes lâminas de irrigação e doses de adubo orgânico, organomineral e mineral”. No mesmo ano, obteve bolsa, da mesma fundação, para realização do mestrado. Em 2010 iniciou o Mestrado em Agronomia com Área de Concentração em Produção Vegetal, na mesma Universidade em que graduou-se, com dissertação intitulada: “Efeito da adubação orgânica utilizando esterco de aves e esterco bovino curtido associado com lâminas de irrigação em *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert”. Em 2012 iniciou o Doutorado em Engenharia de Sistemas Agrícolas, no Departamento de Engenharia de Biosistemas, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

“Agradeço todas as dificuldades que
enfrentei, não fosse por elas, eu não
teria saído do lugar. As facilidades nos
impedem de caminhar.”

Chico Xavier

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA TABELAS	19
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	21
1 INTRODUÇÃO	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 Manejo de irrigação em plantas medicinais	25
2.1.1 Potencial matricial de água no solo	26
2.1.2 Déficit hídrico	27
2.2 Cultivo de plantas medicinais	29
2.3 Períodos de desenvolvimento de plantas medicinais	30
2.4 Aspectos da cultura da <i>Calendula officinalis</i> L	30
2.4.1 Princípios ativos presentes na <i>Calendula officinalis</i> L	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Instalação e localização do experimento	33
3.2 Produção de mudas, preparo dos vasos e análise de solo	33
3.3 Delineamento experimental	36
3.4 Tratamentos	37
3.5 Variáveis analisadas	39
3.5.1 Parâmetros biométricos	39
3.5.2 Parâmetros bioquímicos	40
3.6 Análise de dados	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Resultados biométricos	44
4.2 Resultados bioquímicos	53
5 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXOS	69

RESUMO

Manejo de irrigação em diferentes fases de desenvolvimento da *Calendula officinalis* L.

A calêndula é uma planta medicinal de grande importância para indústria cosmética e farmacêutica. Existem poucos estudos sobre as necessidades hídricas e nutricionais das plantas medicinais. O controle do potencial matricial de água no solo pode ser uma alternativa de manejo de irrigação que favoreça a qualidade e produção de metabólitos secundários. O objetivo do experimento foi avaliar a resposta fisiológica e bioquímica da *Calendula officinalis* L. submetida a vários níveis de potencial matricial de água no solo para manejo da irrigação em três diferentes fases de desenvolvimento. O experimento foi conduzido em ambiente protegido sem controle de temperatura e umidade na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 6 tratamentos e 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais. Foram utilizadas sementes de calêndula bonina sortida para produção de mudas. As mudas foram transplantadas para vasos de 8 L para condução do experimento. Os potenciais matriciais adotados foram: -10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa. Foram realizados três ensaios distintos definidos de acordo com a fase de desenvolvimento: ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva/florescimento. O controle do potencial matricial de água no solo foi realizado utilizando tensiômetros de punção previamente instalados na profundidade de 20 cm. As leituras foram realizadas uma vez por semana com auxílio de tensímetro, desde o transplântio até a senescência das plantas. As irrigações foram realizadas por sistema de irrigação por gotejamento com gotejadores autocompensantes com vazão média de 3,92 L h⁻¹. Os parâmetros analisados foram: taxa de crescimento relativo, massa seca de parte aérea, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca de raiz, produção de capítulos florais, massa seca de capítulos florais, relação raiz/parte aérea, produtividade de água, teor e rendimento de flavonoides totais e concentração de prolina. Os dados obtidos foram submetidos ao teste F, ao teste de normalidade de Komogorov-Smirnov e ao teste de Scott-Knott para comparação de médias. Os parâmetros que apresentaram diferenças entre os tratamentos foram submetidos à regressão. Foi utilizado o pacote estatístico Assistat 7.7 Beta. A taxa de crescimento relativo, a massa seca de parte aérea, o volume e massa seca de raiz, e a produção de capítulos florais apresentaram diferenças significativas apenas para o ensaio com estresse hídrico durante todo ciclo de desenvolvimento da calêndula. Para essas variáveis a diminuição da disponibilidade de água no solo apresentou resultados negativos para a planta. A massa seca de capítulos florais foi superior para o potencial matricial de -10 kPa durante a fase reprodutiva e ciclo completo. A produtividade de água foi superior para os potenciais matriciais de -30 e -40 kPa no ciclo completo e fase reprodutiva. O rendimento de flavonoides e a concentração de prolina apresentaram resultados inversamente proporcionais. A redução do rendimento de flavonoides com o decréscimo da disponibilidade de água no solo favoreceu o aumento da prolina.

Palavras-chave: Planta medicinal; Exigência hídrica; Produtividade de Água; Metabólitos secundários

ABSTRACT

Irrigation management in different phases of development of *Calendula officinalis* L.

Calendula is a medicinal plant of great importance in cosmetic and pharmaceutical industry. There are few studies on hydric and nutritional requirement of medicinal plants. The control of water with soil matric potential can be an alternative to the irrigation management that improve the quality and production of secondary metabolites. The objective of the experiment was to evaluate the physiological and biochemical response of *Calendula officinalis* L. subjected to various degree of water stress soil water for irrigation management in three different stages of development. The experiment was conducted in a greenhouse without temperature and humidity control in the Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo. The experimental design was a randomized block design with 6 treatments and 4 repetitions, totaling 24 experimental units. The calendula bonina sortida seed were used to produce seedlings. The seedlings were transplanted to 8 L vessels to conduct the experiment. The potential matrices adopted were: -10, -15, -30, -40, -50 and -60 kPa. Three different tests were performed according to defined stages of development: full cycle, vegetative phase and reproductive/flowering stage. The control of the matric potential of soil water was performed using punch tensiometers previously installed at a depth of 20 cm. The measurements were performed with a tensiometer once a week, beginning the transplanting until senescence of plants. The irrigation was drip irrigation system with drip with flow of 4 L h⁻¹. The parameters analyzed were: relative growth rate, dry weight of shoot, root length, root volume, root dry weight, production of floral chapters, dry mass of flower heads, root/shoot, water productivity, content and yield of total flavonoids and concentration of proline. The data were submitted to the test F, the normality test Komogorov -Smirnov and the Scott -Knott test for comparison of means. The parameters that show differences between treatments were submitted to regression. We used the statistical package Assistat 7.7 Beta . The relative growth rate, shoot dry weight, volume and root dry weight, and the production of floral chapter showed significant differences only for test water stress throughout the marigold development cycle. For these variables, decreased water availability in the soil was negative for the plant. The dry mass of floral chapter was superior to the matric potential of - 10 kPa during the reproductive phase and full cycle. The productivity of water was higher for the matric potentials of -30 and -40 kPa in the complete cycle and reproductive phase. The yield of flavonoids and proline concentration showed inversely proportional results. The reduction in the yield of flavonoids with decreased water availability occurred an increase of proline.

Keywords: Medicinal plant; Hydric exigency; Water productivity; Secondary metabolities

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura base de um flavonoide (A) e molécula de quercetina (B).....	32
Figura 2 –	Produção de mudas de calêndula em bandejas de isopor.....	33
Figura 3 –	Transplântio das mudas para os vasos de 8,5 L.....	34
Figura 4 –	Curva de retenção de água no solo.....	35
Figura 5 –	Croqui representando a distribuição dos tratamentos por experimento.....	37
Figura 6 –	Extração de flavonoides totais pelo método de Verlag.....	41
Figura 7 –	Umidade relativa do ar (UR) máxima (MAX), mínima (MIN) e média (MED) durante o período experimental (formação das mudas até a senescência das plantas).....	44
Figura 8 –	Temperatura do ar (T) máxima (MAX), mínima (MIN) e média (MED) durante o período experimental (formação das mudas até a senescência das plantas).....	44
Figura 9 –	Taxa de crescimento relativo (TCR) da calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	45
Figura 10 –	Massa seca de parte aérea (MSPA) da calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	46
Figura 11 –	Comprimento de raiz (CR) (A), Volume de raiz (VR) (B) e Massa seca de raiz (MSR) (C) da calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	47
Figura 12 –	Número de capítulos florais (NCF) produzidos por planta, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	50
Figura 13 –	Massa seca de capítulos florais (MSCF) por planta, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	51

Figura 14 –	Produtividade de água (W) em calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	52
Figura 15 –	Rendimento de flavonoides totais (RFT) em calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	54
Figura 16 –	Concentração de prolina (PRO) nas folhas frescas de calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa).....	56
Figura 17 –	Curva padrão para quantificação de flavonoides totais.....	71
Figura 18 –	Curva padrão para quantificação de prolina.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise química do solo	34
Tabela 2 – Granulometria.....	34
Tabela 3 – Lâmina total aplicada (mm) para cada fase de desenvolvimento considerando os diferentes potenciais matricial adotados	43
Tabela 4 – Relação raiz/parte aérea da calêndula para cada fase de desenvolvimento considerando os diferentes potenciais matricial adotados	49
Tabela 5 – Teor de flavonoides totais da calêndula em $\mu\text{g mL}^{-1}$, considerando os diferentes potenciais matricial adotados	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CR	Comprimento de raiz
CUD	Coeficiente de uniformidade de distribuição
DAS	Dias após a semeadura
DAT	Dias após o transplântio
ECA	Evaporação do Tanque Classe “A”
ETo	Evapotranspiração de referência
Li	Lâmina líquida
Lc	Lâmina bruta
MAX	Máxima
MIN	Mínima
MED	Média
MSCF	Massa seca de capítulos florais
MSPA	Massa seca de parte aérea MSR Massa seca de raiz
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCF	Produção de capítulos florais
PRO	Prolina
RFT	Rendimento de flavonoides totais
RRPA	Relação raiz/parte aérea
SUS	Sistema Único de Saúde
TCR	Taxa de crescimento relativo
TDR	Time Domain Reflectometry
T	Temperatura do ar
Ti	Tempo de irrigação
UR	Umidade relativa do ar
W	Produtividade de água

1 INTRODUÇÃO

O suprimento de água para a planta é resultante da interação solo, planta e atmosfera. A influência destes componentes torna o sistema dinâmico de tal forma que seja atendida a necessidade hídrica da cultura. A granulometria, a porosidade, a concentração da matéria orgânica e o potencial da água no solo são características que estão diretamente relacionadas à retenção e armazenamento de água. Estes fatores interferem diretamente nas decisões de manejo de irrigação para atender a demanda hídrica da cultura, de maneira a proporcionar a produção ótima do ponto de vista econômico. A irrigação deve repor a água retirada pela cultura no momento em que a disponibilidade de água no solo atingir o valor mínimo, abaixo do qual a planta começa a sentir os efeitos da restrição hídrica.

As técnicas de manejo de irrigação podem ser empregadas em diferentes culturas, dentre as quais se deve destacar o cultivo de plantas medicinais. Em virtude de existirem poucos estudos relacionados a demanda hídrica de plantas medicinais, torna-se importante quantificar o conteúdo de água no solo por meio de medidas de potencial de água, para determinar quando e quanto irrigar. Além disso, determinar a quantidade de água adequada de acordo com a fase de desenvolvimento permite a utilização sustentável e econômica dos recursos hídricos disponíveis.

A calêndula (*Calendula officinalis* L.) é uma planta medicinal que apresenta grande importância sendo utilizado como fitoterápico no Sistema Único de Saúde (SUS). Para otimização da produção e da síntese de metabólitos secundários, técnicas agrônômicas edáficas e hídricas devem ser estudadas e aprimoradas.

O cultivo de plantas medicinais tem aumentado em virtude da liberação da comercialização de inúmeras espécies medicinais pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Existem poucos estudos relacionados ao manejo agrônômico adequado para obtenção de plantas de qualidade e com elevada produtividade. Há, portanto, necessidade de pesquisas para definir os parâmetros de umidade crítica e reposição de água do solo para o correto cultivo de plantas medicinais. É importante observar que, quando a água é administrada de acordo com a necessidade hídrica da planta medicinal, pode ocorrer resposta do metabolismo secundário quanto ao acúmulo de flavonoides, produto empregado na indústria farmacêutica e cosmética.

Existem algumas fases de desenvolvimento das plantas medicinais em que há necessidade de intensificar o emprego de irrigação para atender as necessidades da planta e aumentar sua produtividade. Dessa forma, o controle da umidade do solo a partir do potencial

matricial de água no solo permite identificar qual o nível adequado de água no solo que beneficia a planta para o seu crescimento, desenvolvimento e acúmulo de metabólitos secundários. Deve-se destacar a necessidade de determinar um ponto ótimo entre a produtividade e o acúmulo de flavonoides, pois a maior produtividade pode não resultar na maior concentração de flavonoides.

O objetivo do experimento foi avaliar a resposta fisiológica e bioquímica da *Calendula officinalis* L. submetida a vários níveis de potencial matricial de água no solo para manejo da irrigação em três diferentes fases de desenvolvimento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Manejo de irrigação em plantas medicinais

O manejo de irrigação consiste no emprego racional da água com o objetivo de atender as necessidades hídricas das plantas elevando a produção e a produtividade de água. Pode ser baseado na evapotranspiração relacionando o consumo de água pela planta e na umidade do solo, determinando parâmetros de estresse hídrico a partir do potencial matricial (SHOCK; WANG, 2011). A irrigação deve repor ao solo a quantidade de água retirada pela planta, no momento que a disponibilidade de água assumir um valor baixo que prejudique o desenvolvimento da planta (TORMENA et al., 1999).

O manejo adequado da água é de fundamental importância para o desenvolvimento das plantas, nas quais os processos de absorção, condução e perda de água estão relacionados ao balanço hídrico. A diferença entre a água absorvida e a água perdida pela planta é importante para que sejam considerados os processos metabólicos de ajustamento da planta (BILIBIO et al., 2010). O fornecimento de água através da irrigação deve ocorrer nas épocas adequadas ao desenvolvimento da cultura para favorecer o aumento de produção (DOORENBOS; KASSAN, 2000).

Segundo Carvalho et al. (2004), a maior limitação ao cultivo de plantas medicinais e hortaliças é a inadequada umidade do solo. O excesso hídrico é prejudicial ao desenvolvimento da planta, dificultando a floração e a frutificação, resultado da produção de substâncias inibidoras. O adequado emprego da irrigação é importante para que seja fornecida a quantidade de água suficiente para o desenvolvimento e a manutenção das reações metabólicas da planta, de modo a estabelecer uma relação água-solo-planta equilibrada.

A qualidade das plantas medicinais depende de inúmeros fatores relacionados ao crescimento e ao desenvolvimento. A disponibilização de água por meio da irrigação é um dos fatores que proporciona melhor desenvolvimento e produção das plantas (AHMADIAN; TAVASSOLI; AMIRI, 2011). Para o manejo adequado da irrigação deve-se definir o volume de água a ser aplicado considerando as condições de umidade do solo. Em pimenteira (*Capsicum* spp.), a aplicação crescente das lâminas de irrigação de 70%, 100% e 130% da evapotranspiração do Tanque Classe “A” (ECA) proporcionaram aumento significativo na produtividade (AZEVEDO et al., 2005).

Pravuschi et al. (2010) e Bortolo, Marques e Pacheco. (2009) estudaram o efeito de diferentes lâminas de irrigação sobre o desenvolvimento do manjerição (*Ocimum basilicum*) e

calêndula para a região de Presidente Prudente-SP, respectivamente. Para o manjerição a lâmina de irrigação de 100% da ECA promoveu a máxima produtividade de matéria seca e o máximo acúmulo de óleo essencial, e para a calêndula a lâmina de irrigação de 150% ECA promoveu a máxima produtividade de flores.

Alvarenga et al. (2012) verificaram o fator resposta (K_y) do alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) em função de diferentes lâminas de irrigação e concluíram que as lâminas de irrigação acima de 1,0 mm da evapotranspiração de referência (ET_o) apresentaram coeficiente de resposta positivo para a correlação entre matéria seca e óleo essencial.

2.1.1 Potencial matricial de água no solo

O potencial matricial de água no solo corresponde às interações entre a matriz e a solução do solo, incluindo forças associadas à adsorção e capilaridade, responsáveis pela retenção de água. O conceito de água disponível encontra-se entre dois parâmetros: a capacidade de campo e o ponto de murcha permanente. Alguns valores são predefinidos para a capacidade de campo e variam de -10 a -33 kPa, dependendo da textura do solo (LIBARDI, 2004; SHOCK; WANG, 2011).

O acompanhamento do nível de umidade na região de maior atividade do sistema radicular é importante para verificar a efetividade do uso da irrigação. O potencial matricial de água no solo permite identificar a condição atual de umidade do solo, tanto superficial quanto em profundidade, bem como verificar a necessidade de aplicação de irrigação. Sendo possível verificar se o solo tem água suficiente para atender às necessidades hídricas da planta (AZEVEDO; SILVA, 1999).

A determinação da necessidade de irrigação é importante para suprir as necessidades hídricas da cultura e minimizar a proliferação de pragas, doenças e lixiviação de nutrientes a partir da aplicação da quantidade de água adequada. O manejo de irrigação deve considerar fatores como o solo, o clima e a planta. Existem inúmeros critérios que podem ser estabelecidos para determinar qual o momento adequado para o emprego da irrigação. O uso de sensores no solo que indicam o momento e a quantidade adequada de água a ser aplicada é viável e prático para atender o manejo de irrigação (SANTOS; PEREIRA, 2004).

O controle da irrigação por meio da avaliação do potencial matricial de água no solo tem mostrado elevada eficiência para evitar irrigações deficitárias ou excessivas que refletem na quebra de produção. Para a cultura do crisântemo (*Chrysanthemum morifolium*) observou-se que existe um nível de potencial matricial de água no solo para a produção de flores de qualidade. O potencial matricial adequado para garantir a qualidade e uma boa produtividade

desta flor foi -4 kPa (FARIA; SAAD; VILLAS BÔAS, 2003).

Bilibio et al. (2010) concluíram que no cultivo de berinjela sob diferentes potenciais matriciais de água no solo, o maior crescimento e a maior produtividade foram obtidos quando a irrigação foi feita a partir do potencial de -15 kPa. Marouelli, Silva e Moretti (2002) verificaram para experimento a campo com alho (*Allium sativum*) que a produção reduziu linearmente em relação a deficiência hídrica. Foram considerados os potenciais matriciais de água no solo de -10, -40, -80 e -160 kPa.

Mameli et al. (2009) estudaram a utilização de diferentes lâminas de irrigação determinadas em função do potencial matricial de água no solo e concluíram que o déficit hídrico influenciou significativamente na produção de biomassa de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), de sálvia (*Salvia officinalis* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Para a sálvia o déficit hídrico resultou na maior concentração de óleo essencial, considerando 100 g de matéria seca.

O momento adequado para irrigação deve relacionar medidas de potencial matricial de água no solo considerando o intervalo ótimo de valores para flexibilizar o manejo de irrigação. A partir de uma média de leituras de potencial matricial na região mais superficial do solo, onde há maior concentração de raízes, otimiza-se o momento de irrigar e a quantidade de água a ser aplicada (AZEVEDO; SILVA, 1999).

2.1.2 Déficit hídrico

O estresse hídrico pode ser definido como a umidade inadequada do solo que pode afetar o crescimento e o ciclo de desenvolvimento da planta. Situações de déficit hídrico podem apresentar impacto negativo no crescimento e desenvolvimento das plantas. A deficiência hídrica provoca alterações morfofisiológicas que refletem no metabolismo primário e secundário, causando danos ao aparato metabólico ou promovendo a síntese de proteínas que atenuam os efeitos do estresse (TAIZ, ZEIGER, 2013).

A frequência e a intensidade do déficit hídrico constituem os principais fatores que limitam a produção agrícola mundial. Segundo Selmar e Kleinwachter (2013) as plantas medicinais que se desenvolvem em condições de baixa disponibilidade de água desenvolvem mecanismos fisiológicos e bioquímicos que permitem a síntese de compostos ativos. O aparato metabólico exposto a situações de estresse hídrico promove o fechamento estomático, decréscimo de CO₂, consumo do NADPH⁺H⁺ e consequentemente a síntese de compostos fenólicos, alcaloides ou isoprenos, também denominados metabólicos secundários.

Algumas mudanças decorrentes da adaptação à situação de limitação hídrica podem

ocasionar injúrias às plantas, no entanto outras mudanças ocorrem enquanto a planta ajusta-se fisiologicamente ao menor estado de disponibilidade hídrica. O lento desenvolvimento de plantas medicinais submetidas a condições de deficiência hídrica pode induzir o ajuste osmótico em algumas espécies, resultando na manutenção da turgescência celular a baixos potenciais hídricos durante períodos de seca. O ajuste osmótico é um importante mecanismo de tolerância à seca porque capacita a planta a manter sua expansão celular, realizando ajustes estomáticos e fotossintéticos; e favorecendo o crescimento da planta (KUMAR; SINGH, 1998).

Além da síntese de princípios ativos ou metabólicos secundários, as plantas medicinais também sintetizam solutos orgânicos de baixo peso molecular e com alta solubilidade que protegem as plantas do estresse abiótico. A prolina é um aminoácido que apresenta características osmorreguladoras e osmoprotetoras que promovem a estabilização das membranas, eliminação dos radicais livres e equilíbrio do pH do citossol durante períodos de estresse (TAIZ; ZEIGER, 2013; ALVARENGA et al., 2011; AGHAEI, KOMATSU, 2013). O aumento da concentração de prolina é resultante da inibição na síntese e aumento da degradação de proteínas, que levam ao acúmulo de aminoácidos e aminas livres (LARCHER, 2000; FUMIS; PEDRAS, 2002; ÜNYAYAR; KELES; UNAL, 2004).

Segundo Carvalho et al. (2005) o acúmulo de prolina quantificado em folhas totalmente expandidas, pode ser designado como parâmetro para avaliação de estresse hídrico. Para a Artemísia (*Tanacetum parthenium* L. Shultz – BIP), os autores verificaram que o maior acúmulo de prolina ocorreu em plantas submetidas a deficiência hídrica.

2.2 Cultivo de plantas medicinais

A utilização da fitoterapia movimenta um mercado de bilhões de dólares que amplia o interesse pelo cultivo das plantas medicinais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) as plantas medicinais e aromáticas são utilizadas por 80% da população mundial e no Brasil pesquisas demonstram que mais de 90% da população já fez uso de alguma planta medicinal (ABIFISA, 2007; NAGUIB, 2011).

O crescimento anual do mercado mundial de fitoterápicos é estimado em 10 a 20%, com estimativa do mercado de fármacos de US\$ 300 bilhões em 2010, sendo US\$ 20 bilhões derivados de princípios ativos de plantas medicinais. No âmbito nacional, a estimativa do mercado de fitoterápicos é de US\$ 1,5 bilhão ao ano (SOUSA; MIRANDA, 2010).

O cultivo de plantas medicinais no Brasil tem sido intensificado em virtude da liberação da comercialização dessas plantas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com finalidade fitoterápica. A calêndula é uma planta medicinal e encontra-se na lista das 66 plantas medicinais liberadas para a comercialização e o emprego na fitoterapia do SUS (Sistema Único de Saúde) (BRASIL, 2006). É importante considerar que o cultivo de plantas medicinais no Brasil é realizado principalmente pela agricultura familiar e há projetos que tendem a ampliar esse cultivo para intensificar a medicina fitoterápica assistida por profissionais de saúde (ARNOUS, SANTOS, BEINNER, 2005).

O Estado do Paraná apresenta a maior área cultivada com plantas medicinais, sendo responsável por 90% da produção do país e produzindo 40 mil toneladas em uma área de mil hectares, responsável pelo movimento de 25 milhões de reais por ano no Estado. A região destaca-se no cultivo dessas plantas por apresentar clima ameno e fotoperíodo adequado (NAIVERTH; FARIA, 2007; SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO - SAB, 2011).

Existem poucos estudos agronômicos específicos para plantas medicinais, portanto há necessidade de aprimorar as práticas agronômicas que resultem no aumento da produção e da concentração de metabólitos de importância fitoterápica e cosmética. As espécies medicinais e aromáticas apresentam melhor desenvolvimento em solos bem estruturados e com umidade do solo suficiente para atender as necessidades hídricas das plantas (SANTOS et al., 2009).

2.3 Períodos de desenvolvimento das plantas

A fenologia das plantas pode ser influenciada por vários fatores, dentre os quais se destacam a precipitação, o estresse hídrico, a irradiação, a temperatura do ar, a umidade do ar, os nutrientes do solo e o fotoperíodo. As principais aplicações dos períodos de desenvolvimento da cultura são as subdivisões do ciclo da planta, a determinação de exigências edafoclimáticas, a determinação de períodos críticos associados à irrigação e à nutrição, o zoneamento agrícola e as práticas agrícolas (BERGAMASCHI, 2011).

As fases de desenvolvimento das plantas são definidas como fase ou período inicial (fase I) de desenvolvimento desde a germinação até 10% do desenvolvimento vegetativo; desenvolvimento vegetativo (fase II) que se refere a 80% da cobertura do terreno com a planta; produção (fase III) que vai do final do desenvolvimento vegetativo até ao início da maturação; e final (fase IV) que se refere ao início da colheita e ao final da maturação (MANTOVANI, BERNARDO, PALARETTI, 2009; ASSIS, 2011).

A duração e o grau de sincronia das fases de desenvolvimento das plantas tem importante implicação na quantidade e qualidade dos produtos finais de plantas tropicais e medicinais (PEDRONI; SANCHEZ; SANTOS, 2002). Para o alecrim-pimenta o rendimento e a composição do óleo essencial podem ser influenciados quantitativamente e qualitativamente pelas condições climáticas, hora da coleta, idade da planta, cuidados na preparação do material coletado entre outros fatores. A coleta de folhas após o florescimento resultou na maior concentração de timol para essas plantas (LEAL et al., 2003).

2.4 Aspectos da cultura da *Calendula officinalis* L.

A *Calendula officinalis* L. é uma planta medicinal da família Asteraceae, conhecida popularmente como calêndula ou maravilha-dos-jardins. É uma planta originária de áreas temperadas do Mediterrâneo e amplamente adaptada às regiões Sul e Sudeste do Brasil (VAZ, 2008). Desenvolve-se sob luz plena e apresenta um ciclo de 90 a 120 dias, variando de acordo com a estação de ano em que é cultivada. Recomenda-se cultivá-la em um espaçamento de 0,20m x 0,30m (FOGOLARI, 2010).

A colheita deve ser realizada no início da floração e conduzida até a planta senescer. As flores colhidas devem ser armazenadas em embalagens de papel kraft para serem submetidas à secagem sob condições naturais ou artificiais. A secagem natural é um processo lento, utilizado em âmbito doméstico, recomendado para regiões que tenham condições climáticas favoráveis. A secagem artificial é realizada em estufa sob condições controladas de

temperatura (35 a 40°C) e ventilação, para evitar as perdas dos metabólitos secundários (UCHIMURA, 2008).

A diversidade de compostos secundários encontrados nas plantas medicinais representa uma alternativa para o controle de doenças fúngicas, bacterianas e nematoides em plantas (RUDDOCK et al., 2011). A calêndula apresenta propriedades químicas e morfológicas que garantem sua importância econômica para a indústria fitoterápica (BAUER, 2010). Dentre os diversos usos medicinais da planta estão os tratamentos de processos febris, de cânceres e de inflamações de pele. Pode ser empregada na forma de extratos, tinturas e bálsamos produzidos principalmente das flores, que apresentam elevada concentração dos princípios ativos (FOGOLARI, 2010).

2.4.1 Princípios ativos presentes na *Calendula officinalis* L.

O metabolismo secundário é alterado pelo estresse abiótico. Em plantas medicinais e aromáticas as variações do ambiente (salinidade, práticas agrícolas inadequadas, variações de temperatura, distribuição heterogênea da precipitação) e deficiência hídrica podem promover alterações fisiológicas e bioquímicas. Quando as plantas medicinais e aromáticas sofrem estresse hídrico, a produção e composição dos princípios ativos podem ser alteradas (BETTAIEB et al., 2009). Dentre os principais compostos ativos que classificam a calêndula na Farmacopeia Brasileira estão os flavonoides presentes nos capítulos florais (FOGOLARI, 2010).

Os flavonoides (Figura 1) são compostos fenólicos que compõem uma ampla classe de substâncias com elevada aplicabilidade farmacológica. Estes compostos são responsáveis pela coloração amarela em flores, podendo também ser encontrados em frutas, legumes e sementes. Estruturalmente, trata-se de substâncias compostas por benzo-gama-pirona de origem vegetal que apresentam uma grande diversidade de compostos em virtude das modificações por hidroxilação, metilação, glicosilação, entre outros processos (LOPES et al., 2000). Este grupo de compostos é acumulado nas rotas do metabolismo secundário, principalmente em plantas submetidas a estresse abiótico. Sob situação de estresse abiótico o carbono fixado fotossinteticamente da síntese dos metabólitos primários é redirecionado para a síntese de metabólitos secundários, como os compostos fenólicos e terpenóides. Existem mais de 8.000 flavonoides que já foram identificados, variando quanto ao tipo e quantidade. Na calêndula, o principal flavonoide acumulado nas flores é a quercetina (BORTOLO; MARQUES; PACHECO, 2009).

O processo de secagem é fundamental para a conservação das propriedades dos compostos antioxidantes, como flavonoides. Quando o teor de umidade está acima de 10% pode ocorrer degradação dos compostos secundários ocasionada pela ação de fungos e bactérias (BORGIO et al., 2010).

Figura 1 - Estrutura base de um flavonoide (A) (MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002) e molécula da quercetina (B) (PRONATPLUS, 2011)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Instalação e Localização do Experimento

A pesquisa foi conduzida em ambiente protegido com estrutura metálica de aço galvanizado nas dimensões de 18 m de comprimento, 6 m de largura e 6 m de altura na parte central, com janelas frontais. As laterais com tela de proteção (sombrite 50%) e o teto na forma de arco com cobertura de filme de polietileno transparente de 150 micras tratado contra raios ultravioletas, sem controle de luz e temperatura, instalada no Departamento de Engenharia de Biosistemas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), no município de Piracicaba, SP, situada nas coordenadas geográficas de 22° 42’ de latitude sul e 47° 38’ de longitude oeste, a uma altitude de 546 m.

Segundo a classificação internacional de Köppen, o clima da região é do tipo Cwa, tropical de altitude com inverno seco, temperatura média inferior a 18°C no mês mais frio, e verão úmido com temperaturas médias superiores a 22°C no mês mais quente. De acordo com Embrapa (2013), o solo utilizado nos vasos do experimento foi caracterizado como Latossolo Vermelho Eutrófico Típico. Durante o período experimental foi monitorada a temperatura e umidade do ar da estufa com o auxílio de estação meteorológica automática

3.2 Produção de mudas, preparo dos vasos e análise físico-hídrica do solo

As mudas de calêndula foram produzidas com sementes comerciais cultivar bonina sortida (ISLA® - germinação: 70% e pureza: 97,8%) cultivadas em bandejas de poliestireno expandido de 200 células com substrato comercial Plantmax® (Figura 2). A semeadura foi realizada em 27 de março de 2014. O período de formação das mudas foi de 34 dias após a semeadura (DAS) (Figura 3).

Figura 2 - Produção das mudas de calêndula em bandejas de isopor

Figura 3 - Transplântio das mudas para os vasos de 8,5 L

Foram utilizados vasos de 8,5 L (dimensões: altura 27,5 cm, diâmetro menor (base) 22,1 cm e diâmetro maior (superior) 24,7 cm) preparados com uma camada de pedra brita e outra de bidim, e posteriormente preenchidos com solo peneirado. Foi realizada a análise química (Tabela 1) e granulométrica (Tabela 2) do solo. O solo foi corrigido segundo Raij et al. (1997) com aplicação de 527 mg de calcário dolomítico com PRNT 70% para elevar o V% a 70% e adubação com 2 g por vaso do formulado 4-30-10.

Tabela 1 - Análise química do solo

pH	M.O.	P	S-SO ₄	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	M	V
(CaCl ₂)	g dm ⁻³	--mg dm ⁻³ --					mmolc dm ⁻³				---	---
5,5	14,2	19,0	8,5	0	25,5	1,4	28,4	9,6	39,5	65,0	0	60,8

Fonte: Laboratório de análise de solos e tecidos vegetais – UNOESTE

Tabela 2 - Granulometria.

Areia total	Silte	Argila	Classe Textural	Densidade (g cm ⁻³)
g Kg ⁻¹	g Kg ⁻¹	g Kg ⁻¹		
781	85	134	Arenosa	1,44

Fonte: Laboratório de análise de solos e tecidos vegetais – UNOESTE.

Foram coletadas duas amostras indeformadas nos vasos previamente preparados na profundidade de 0-20 cm para determinar a curva de retenção de água no solo. A curva foi obtida com auxílio de mesa de tensão para os pontos de 0,1, 2 e 4 kPa, e da câmara de Richards para os pontos de 10, 20, 40, 100, 300, 500, 1000, 5000 e 15000 kPa.

O ajuste da curva foi realizado de acordo com a metodologia de Van Genuchten (1980), conforme eq. 1. Os parâmetros θ_r , θ_s , α , n e m foram determinados com base nos dados observados na curva de retenção de água no solo. Utilizou-se o programa RETC para determinar os parâmetros médios da equação de ajuste. A capacidade de campo e o ponto de murcha permanente foram determinados de acordo com a curva de retenção de água no solo (Figura 4). A capacidade de campo para esse solo foi de $0,243 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ (-30 kPa) e o ponto de murcha permanente $0,101 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ (-7935 kPa).

$$\theta = \theta_r + \frac{\theta_s - \theta_r}{[1 + (\alpha |\psi_m|^n)]^m} \quad (01)$$

Em que:

- θ - umidade volumétrica em função do potencial matricial ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$);
- θ_r - umidade volumétrica residual do solo ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$);
- θ_s - umidade volumétrica do solo saturado ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$); n e
- m - parâmetros adimensionais da equação de regressão;
- α - parâmetro com dimensão igual ao inverso da tensão (kPa^{-1});
- ψ_m - potencial matricial de água no solo (kPa).

Figura 4 - Curva de retenção de água do solo.

Os vasos foram mantidos na capacidade de campo durante o período de 15 dias para garantir o estabelecimento das mudas. A capacidade de campo foi monitorada com o auxílio de tensiômetros.

Os níveis de potencial matricial estudados (10, 15, 30, 40, 50 e 60 kPa) foram determinados a partir de leituras semanais dos tensiômetros de punção instalados à profundidade de 20 cm. Os tensiômetros foram saturados em água destilada por 24 horas antes da instalação. As leituras foram realizadas entre 7:00 e 8:00 horas para evitar interferências da temperatura do ar e radiação solar (MIRANDA; GONDIM; OLIVEIRA, 2013).

Após 24 horas da instalação iniciaram-se as leituras com auxílio de tensímetro digital e posteriormente calculou-se o potencial matricial de água no solo (eq. 02) conforme Braga e Calgaro (2010). As leituras foram realizadas uma vez por semana, durante todo ciclo de desenvolvimento da calêndula, iniciando após o transplântio.

$$\Psi_m = |L| + 0,098c \quad (02)$$

Em que:

- L - leitura do tensímetro (kPa);
- c - profundidade de instalação do tensímetro (cm).

3.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC), com seis níveis de potencial matricial de água no solo com quatro blocos, totalizando 24 parcelas por experimento. Cada experimento foi representado por uma fase de desenvolvimento, sendo: ciclo completo, fase vegetativa e emissão de botões florais/florescimento. A disposição dos tratamentos por experimento está representada na Figura 5.

Figura 5 - Croqui representando a distribuição dos tratamentos por experimento

3.4 Tratamentos e manejo de irrigação

Totalizaram três experimentos irrigados de acordo com o potencial matricial de água no solo para cada fase de desenvolvimento da calêndula. As fases de desenvolvimento da cultura foram designadas como: ciclo total da cultura (duração 118 dias após o transplantio), fase vegetativa (duração 61 dias após o transplantio) e fase de emissão dos botões florais/florescimento (duração 57 dias após o início do florescimento). Os tratamentos com potencial matricial iniciaram 15 dias após o transplantio (DAT) para garantir o estabelecimento das mudas.

Foram estabelecidos seis níveis de potencial matricial de água no solo para o manejo de irrigação. Os níveis de potencial matricial variaram para cada fase de desenvolvimento da calêndula. Adotaram-se os seguintes potenciais: -10; -15, -30, -40, -50 e -60 kPa. Os tratamentos correspondem à umidade média de 0,3387; 0,3034; 0,2430; 0,2207; 0,2051 e 0,1933 $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$, respectivamente.

As lâminas de irrigação foram calculadas de acordo com a umidade determinada para cada tratamento. A irrigação foi realizada por um sistema de irrigação por gotejamento com bomba KSB de 0,5 cv e gotejadores autocompensados com vazão de 4 L h^{-1} . O sistema de irrigação foi montado utilizando tubulação de polietileno NaanDanJain com diâmetro de 16 mm e microtubo com 1 m de comprimento. Todos os gotejadores foram avaliados em condição de trabalho para verificar a vazão e a uniformidade de distribuição (CUD) (eq. 03). De acordo com a classificação de Mantovani (2002) os gotejadores foram considerados regulares, com $\text{CUD}=84,6\%$ e vazão média de 3,92 L h^{-1} .

$$CUD = \frac{q_{25\%}}{q_m} \cdot 100 \quad (03)$$

Em
que:

- CUD - coeficiente de uniformidade de distribuição (%); $q_{25\%}$
 - média de $\frac{1}{4}$ das vazões com menores valores ($L h^{-1}$); q_m
 - média de todas as vazões ($L h^{-1}$).

A lâmina de irrigação líquida (Li) foi calculada considerando a umidade atual e a umidade referente ao tratamento (eq. 04). Depois de calculada a Li foi calculada a lâmina bruta (Lc) (eq. 05) ajustada pelo coeficiente de uniformidade de distribuição (CUD). Em seguida, determinou-se o tempo de irrigação (eq. 06) considerando a Lc e a vazão média (q) dos gotejadores. A lâmina total de irrigação para cada fase de desenvolvimento e potencial matricial foi determinada ao final do experimento e considerou todas as lâminas de irrigação aplicadas após 15 dias após o transplantio (DAT).

$$Li = (U_d - U_{atual}) \cdot z \quad (04)$$

$$Lc = \frac{Li}{CUD} \quad (05)$$

$$Ti = \frac{Lc}{q} \quad (06)$$

Em que:

- Li - lâmina líquida (mm);
 U_d - umidade desejada (mm);
 U_{atual} - umidade atual (mm);
 z - profundidade efetiva do sistema radicular (20 cm);
 Lc - lâmina bruta (mm);
 CUD - uniformidade de distribuição (%); Ti
 - tempo de irrigação (h);
 q - vazão média do emissor ($3,92 L h^{-1}$).

3.5 Variáveis avaliadas

3.5.1 Medidas Biométricas

a) Taxa de crescimento relativo (TCR)

A taxa de crescimento relativo (TCR) (eq.07) foi determinada a partir das medidas de altura semanal, segundo metodologia de Radford (1967). A altura das plantas foi medida semanalmente com o auxílio de régua milimetrada, considerando a base das plantas de calêndula até a o desdobramento da folha mais jovem.

$$TCR = \frac{\ln(Alt F) - \ln(Alt I)}{T} \quad (07)$$

Em que:

TCR - taxa de crescimento relativo ($\text{cm}^{-1}\text{dia}^{-1}$)

AltF - altura final das plantas (cm);

AltI - altura inicial das plantas (cm);

T - intervalo de tempo (dias).

b) Massa seca de parte aérea (MSPA)

A massa seca da parte aérea (MSPA) foi determinado após a colheita final em balança analítica, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel kraft e posteriormente em estufa de circulação de ar à 50°C até atingir peso constante.

c) Comprimento (CR), volume (VR) e massa seca de raízes (MSR)

O comprimento de raízes (CR) foi medido após a colheita final e separação de parte aérea e da raiz. Foi utilizada uma régua milimetrada. As raízes foram colocadas em pacotes de papel kraft e em estufa de circulação de ar a 65°C até atingir peso constante, para determinação da massa seca de raiz (MSR) em balança analítica.

Em seguida, foi determinado o volume de raízes (VR), colocando-as em uma proveta contendo um volume conhecido de água e, posteriormente, medindo a diferença de volume como proposto por Scheffer-Basso, Voss e Jacques (2001) e Frazão et al. (2010).

d) Produção (PCF) e massa seca de capítulos florais (MSCF)

A produção de capítulos florais (PCF) por planta foi determinada por meio da soma de capítulos por planta ao final da colheita. Foram realizadas 10 colheitas do início da floração (60 DAT) até a senescência das plantas (118 DAT), sendo realizadas semanalmente. A massa seca de capítulos florais (MSCF) foi determinada colocando-se os capítulos em sacos de papel de kraft acondicionados em estufa a 50°C até obtenção de peso constante.

e) Relação raiz/parte aérea (RRPA)

A relação raiz/parte aérea (RRPA) foi determinada após obtenção das MSR e MSPA de acordo com a eq. 7.

$$RRPA = \frac{MSR}{MSPA} \quad (07)$$

f) Produtividade do uso da água (W)

A produtividade do uso da água (W) foi determinada considerando a produção final da cultura e a lâmina total de irrigação aplicada (eq. 9).

$$W = \frac{MSCF}{L_t} \quad (09)$$

Em
que:

W - produtividade do uso de água ($\text{kg}^{-1} \text{mm}^{-1}$);

L_t - lâmina total de irrigação aplicada no período (mm).

3.5.2 Medidas Bioquímicas

a) Teor (TF) e rendimento de flavonoides (RF)

O teor de flavonoide (Figura 6) foi extraída dos capítulos florais pelo método de Verlag (1978) modificado. A metodologia foi realizada no Laboratório de Irrigação no Departamento de Engenharia de Biosistemas da ESALQ/USP.

Figura 6 – Extração de flavonoides totais pelo método de Verlag

A dosagem de flavonoides utilizou a quercetina como padrão, em solução de metanol (MeOH) e cloreto de alumínio. Foram utilizado 2 g das flores secas e pulverizadas da calêndulas (receptáculos + lígulas), e desta massa foi obtido um extrato com 20 mL de MeOH a 80%, aquecido a 60°C em banho-maria. O extrato retirado e aquecido foi filtrado para um balão volumétrico de 50 mL e novamente foi repetido o processo, utilizando 10 mL de MeOH a 80%. O extrato obtido foi filtrado e reunido no balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com MeOH a 80 %.

Em seguida foi transferida uma alíquota de 5 mL para um tubo de ensaio, adicionando-se MeOH a 100%, homogeneizando-se manualmente. Finalmente, foi retirado um volume de 2 mL e transferido a um tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 2 mL de uma solução de cloreto de alumínio (5 g de cloreto de alumínio em 100 mL de água destilada) e 6 mL de metanol 100%. Após um repouso de 15 minutos realizou-se leitura em espectrofotômetro calibrado à 420 nm. A avaliação foi feita em triplicata. Os dados de absorbância da amostra foram analisados mediante curva padrão construída a partir de soluções com concentrações crescentes de quercetina.

A solução padrão de quercetina foi obtida utilizando MeOH 100% em concentração de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$. Alíquotas de 1 mL ($20 \mu\text{g mL}^{-1}$) a 8 mL ($160 \mu\text{g mL}^{-1}$), com intervalos de 1 mL acrescidas de 2 mL de cloreto de alumínio e concentrações decrescentes de MeOH a 100% de 8 a 1 mL, foram utilizados para a confecção da curva padrão. O rendimento de total de flavonoides foi obtido pela multiplicação do teor pela massa seca de flores.

b) Concentração de prolina (PRO)

A prolina (PRO) foi extraída de folhas frescas através do método de Bates, Waldren e Teare (1973) modificado por Machado Neto et al. (2004). A metodologia foi realizada no Laboratório de Irrigação do Departamento de Engenharia de Biossistemas da ESALQ/USP.

Foram macerados de 200 a 400 mg de material fresco em 5 – 10 mL de ácido sulfosalicílico a 3%. Após a maceração, o material foi filtrado. Foi extraído 2 mL da solução obtida e colocado em tubo de ensaio onde foi adicionado 2 mL de ninidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial. As amostras foram mantidas em banho maria por 1 hora e posteriormente submetidas a banho de gelo, para leitura em espectrofotômetro calibrado a absorbância à 520 nm.

A solução de ninidrina ácida foi preparada utilizando 1,25 g de ninidrina em 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6 M (404,58 mL de H_3PO_4 85% em 1 L de água). A solução foi agitada e aquecida até completa dissolução da ninidrina.

Para quantificação da prolina, os resultados da espectrofotometria foram empregados em uma equação gerada pela curva padrão de prolina de 0 a 80 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Para a curva padrão foi utilizada uma solução estoque de prolina em ácido sulfosalicílico 3% e procedeu-se com a metodologia da reação.

3.6 Análise de dados

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Komogorov-Smirnov e posteriormente ao teste F ao nível de probabilidade de 5%. Em seguida, compararam-se as médias dos tratamentos pelo teste de Scott-Knott e os parâmetros que apresentaram diferenças entre as médias dos tratamentos foram submetidos à análise de regressão. Foi utilizado o software estatístico ASSISTAT 7.7 beta (SILVA, 2014)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período total do experimento foram realizadas 13 irrigações, de acordo com os potenciais matriciais, durante todo ciclo testado da calêndula. A lâmina total de irrigação (Tabela 3) para cada fase de desenvolvimento e potencial matricial foi determinada ao final do experimento considerando todas as lâminas de irrigação aplicadas após 15 dias após o transplântio (DAT).

Tabela 3 - Lâmina total aplicada (mm) para cada fase de desenvolvimento considerando os diferentes potenciais matriciais adotados

Potencial matricial (kPa)	Lâmina total aplicada (mm)		
	Ciclo completo	Fase vegetativa	Fase reprodutiva
-10	252,11	186,71	150,33
-15	219,28	150,70	137,09
-30	186,45	98,32	135,05
-40	163,54	79,21	124,12
-50	153,62	53,05	122,97
-60	140,63	41,71	112,04

Na Figura 7 observou-se que durante o período experimental a umidade média ficou em torno de 60 a 77% e a temperatura média (Figura 8) de 18 a 24°C. A variação de temperatura mínima e máxima pode ter interferido principalmente nas variáveis biométricas e bioquímicas nos ensaios durante o desenvolvimento vegetativo e o reprodutivo. A diminuição seguida de aumento da temperatura pode promover redução da atividade fotossintética da planta, consequentemente redução da assimilação de carbono e impactos na produção de biomassa (SANTOS; BRENZAN; SERRA, 2013).

Figura 7 – Umidade relativa do ar durante o período experimental (formação das mudas até a senescência das plantas).

Figura 8 – Temperatura do ar durante o período experimental (formação das mudas até a senescência das plantas)

4.1 Resultados biométricos

A taxa de crescimento relativo (Figura 9) foi significativa para o ciclo completo. O decréscimo da taxa de crescimento ocorreu com a redução do potencial matricial de água no solo, sendo que o potencial matricial de -60 kPa apresentou os menores resultados. Considerando os tratamentos de -10 a -60 kPa a diminuição da taxa de crescimento foi de 33,4%.

Em condições de restrição hídrica os processos metabólicos como o fechamento estomático, redução da fotossíntese e transpiração, causam redução da taxa de crescimento (SCALON et al., 2011). Marinho et al. (2011) e Soares et al. (2013) concluíram para a videira e

para o tomateiro, respectivamente, que aplicações decrescentes de lâminas de irrigação causando restrição hídrica limitam a taxa de crescimento das plantas. O declínio do crescimento, de acordo com Taiz e Zeiger (2013) é afetado pelo déficit hídrico que provoca modificação na anatomia e na morfologia das plantas, além de interferir nas reações metabólicas.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1% e n.s. não significativo

Figura 9 – Taxa de crescimento relativo (TCR) da calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

Bettaieb et al. (2009) estudaram para a sálvia (*Salvia officinalis* L.) diferentes níveis de déficit hídrico, sendo: 100% (controle), 50% (moderado) e 25% (severo) da capacidade de campo. O déficit hídrico causa redução significativa do crescimento da sálvia e os efeitos desse estresse se tornam mais pronunciados com o déficit hídrico severo.

Avaliando a fase vegetativa e fase reprodutiva não houve diferenças significativas entre as médias de crescimento. Em situações onde ocorre variação entre a disponibilidade de água adequada e a restrição hídrica, a variação do consumo de água causa reflexos sobre os processos fisiológicos nas plantas. As variações no metabolismo podem em alguns casos não causar diferenças no crescimento das plantas dependendo do manejo de irrigação (SOARES et al., 2012).

Na massa seca de parte aérea (Figura 10) foi possível verificar que o decréscimo na massa seca de parte aérea apresentou a mesma tendência linear que a taxa de crescimento

relativo. A deficiência hídrica causa diminuição da produção de folhas, redução da área foliar, prolongamento do sistema radicular e aumento de relação raiz/parte aérea e a redução de matéria seca. A reduzida disponibilidade hídrica reduz o potencial hídrico das folhas e a condutância estomática e causa impactos adversos na redistribuição de fotoassimilados, afetando o acúmulo de massa de parte aérea.

De acordo com Bandeira et al. (2011), o déficit hídrico em algumas espécies afeta diretamente a produção, massa fresca e seca de parte aérea, e massa fresca e seca de raiz. Esses resultados são reflexos da variação da condutância estomática e da redistribuição de fotoassimilados para a raiz como mecanismo para sobrevivência. Benicasa e Leite (2004) afirmam ainda que em situações de alta temperatura, baixa disponibilidade de água e elevada taxa transpiratória, a assimilação de CO_2 é reduzida e pode ocorrer efeito negativo sobre o acúmulo de fitomassa.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1% e n.s. não significativo

Figura 10 – Massa seca de parte aérea (MSPA) da calêndula por vaso, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

Na Figura 11 A, observou-se que os potenciais matriciais de -10 e -60 kPa apresentaram maior comprimento no ciclo completo. Embora o sistema radicular efetivo da calêndula seja em torno de 20 cm (ALEMAN; MARQUES; PACHECO, 2010) em decorrência das variações de temperatura e umidade ao longo do período experimental, o sistema radicular apresentou maior crescimento para Piracicaba.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1% e n.s. não significativo

Figura 11 – Comprimento de raiz (CR) (A), massa seca de raiz (MSR) (B) e volume de raiz (VR) (C) da calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

Não ocorreram diferenças significativas para o comprimento de raiz para os ensaios com variação do potencial matricial durante a fase vegetativa e fase reprodutiva/florescimento. O ajuste polinomial para o ciclo total denota que em situação de excesso hídrico e déficit hídrico ocorreu uma tendência positiva ao aumento do comprimento do sistema radicular.

O desenvolvimento do sistema radicular é acentuado quando as plantas estão expostas a alguma situação de estresse abiótico. O excesso ou déficit hídrico pode provocar a elongação do sistema radicular para restringir ou aumentar a disponibilidade real de água no solo. Em contrapartida, e principalmente em situações de déficit hídrico ocorre declínio no desenvolvimento da parte aérea, prejudicando o acúmulo de massa seca (Figura 11B).

Embora o comprimento de raiz apresentasse resposta exponencial aos potenciais matriciais de água no solo, para o volume de raiz (Figura 11C) no ciclo completo ocorreu declínio de 44,05% no volume de raízes a medida que aumento a restrição hídrica. Corroborando com o volume de raiz, a massa seca de raiz (Figura 11B) apresentou tendência linear com redução do acúmulo de massa à medida que aumentou a restrição hídrica.

A quantidade de água disponível no solo é o principal fator que afeta a taxa de desenvolvimento do sistema radicular. Em função da disponibilidade real ou total de água no solo o volume do sistema radicular e a massa de raiz variam, sendo possível identificar que com a redução do potencial matricial (déficit hídrico) de água no solo, o sistema radicular torna-se mais concentrado na superfície do solo (SILVA et al., 2013).

O regime hídrico do solo adequado, denominado intervalo hídrico ótimo, apresenta relação direta com os fatores físicos do solo, principalmente relacionados à porosidade e a compactação. O conteúdo de água no solo reduzido prejudica as características edáficas do solo e compromete o desenvolvimento radicular. Gubiani, Reichert e Reinert (2014) concluíram que o aumento da disponibilidade de água no solo para o cultivo contribui para o desenvolvimento do sistema radicular, crescimento e produção do feijoeiro.

Azhar et al. (2011) estudaram que conforme aumenta a restrição hídrica no solo, as raízes de ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) reduzem o desenvolvimento, afetando o acúmulo de biomassa e a absorção de nutrientes. A deficiência hídrica é um estresse abiótico que promove as maiores limitação no crescimento e desenvolvimento das plantas por induzir variações metabólicas e fisiológicas nas plantas. Queiroz (2012) verificou que para a cultura da ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) a massa seca de raízes decresce com o aumento do potencial matricial, sendo que entre -10 kPa e -58,4 kPa ocorre redução de 65,59% equivalendo a 19,41 g.

A relação raiz/parte aérea (Tabela 4) não apresentou diferenças significativas para os diferentes potenciais matriciais de água no solo. Embora seja possível verificar que os maiores

valores da relação raiz/parte aérea foram obtidos para -50 kPa para o ciclo completo, -15 kPa para fase vegetativa e -60 kPa para a fase reprodutiva. Geralmente, em situações de déficit hídrico há uma tendência positiva para o desenvolvimento radicular. Segundo Li et al. (2011) o déficit hídrico de 60-70% da capacidade de campo causou redução da massa seca de parte aérea em plantas de alcaçuz (*Glycyrrhiza uralensis*) e resultou em maior relação raiz/parte aérea a medida que aumentou o déficit hídrico.

Tabela 4 – Relação raiz/parte aérea da calêndula para cada fase de desenvolvimento considerando os diferentes potenciais matriciais adotados.

Potencial matricial (kPa)	Relação raiz/parte aérea		
	Ciclo completo	Fase vegetativa	Fase reprodutiva
-10	0,698 a	0,870 a	0,574 a
-15	0,529 a	1,129 a	0,942 a
-30	0,708 a	0,572 a	0,499 a
-40	0,463 a	0,402 a	0,698 a
-50	1,051 a	0,583 a	0,606 a
-60	0,735 a	0,597 a	0,985 a
F	1,412	1,601	2,361
C.V. (%)	49,43	59,72	36,55

As letras minúsculas comparam as médias da relação raiz/parte aérea considerando as diferentes fases de desenvolvimento e fases de desenvolvimento.

De acordo com a Figura 12, notou-se que a redução do potencial matricial durante ciclo completo de desenvolvimento da calêndula, resultou no decréscimo de 77,7% na produção de capítulos florais por planta. O potencial matricial de água no solo é um fator limitante para a produção das plantas, pois está diretamente relacionado ao teor de água disponível no solo. Quando ocorre déficit hídrico as plantas reduzem o desenvolvimento da parte aérea (caule, folhas e capítulo florais) e estimulam a elongação radicular, como adaptação à situação de restrição hídrica.

Os resultados de produção variam de acordo com as culturas estudadas, com as condições climáticas e capacidade de retenção de água no solo. Para plantas medicinais existem poucos estudos sobre o manejo de irrigação (SILVA et al., 2002), por isso as condições ambientais podem ser utilizadas como critério para verificar resultados de produção. Em solos com granulometrias semelhantes, arenosa como o solo utilizado para cultivo da calêndula, os resultados de produção podem variar, como os obtidos por Bilibio et al. (2010) que observaram que para a produtividade (kg planta^{-1}) da berinjela submetida aos potenciais

matriciais de água no solo de -15, -30, -45, -60 e -80 kPa, ocorreu diminuição da produtividade à medida que reduziu o potencial matricial.

O tratamento com potencial matricial de -80 kPa apresentou a menor produtividade por planta. Para a videira, Souza et al. (2013) concluíram que o manejo de água no solo a -30, -50 e -70 kPa não apresentaram diferenças significativas na produção de cachos por planta.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1% e n.s. não significativo

Figura 12 - Número de capítulos florais (NCF) produzidos por planta, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

Não houve diferença estatística para a produção de capítulos florais nas fases vegetativa e reprodutiva. A aclimação da calêndula em relação ao excesso ou restrição hídrica não interferiu no desenvolvimento e florescimento dessas plantas. Como as plantas mantiveram-se expostas durante todo seu ciclo de desenvolvimento a variação da capacidade de campo e dos potenciais matriciais de -10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa, as plantas apresentaram plasticidade fenotípica, ou seja, resposta não resultante de alteração genética e que varia de acordo com as características abióticas, sendo para essa situação a variação da quantidade de água disponível no solo. Segundo Lima et al. (2013) a medida que reduz o potencial de água no solo aplicado de -20 a -120 kPa na fase vegetativa e reprodutiva em pimenta cayenne, ocorreu decréscimo da produtividade da cultura, como resposta ao distúrbio no desenvolvimento das plantas como a redução da massa de parte aérea.

Geerts e Raes (2009) verificaram que a irrigação com déficit é uma alternativa para otimizar o manejo de irrigação durante o desenvolvimento das plantas. Em regiões onde o tipo de solo, a disponibilidade de água e as condições climáticas são fatores limitantes para a produção, a maximização da produtividade de água deve ser uma alternativa para manter ou maximizar a produção de culturas agrícolas. Rios et al. (2014) concluíram que para o cultivo de mamoneiro em Lavras-MG, o potencial matricial de -15 kPa resultou na maior produtividade (1994,14 kg ha⁻¹) e o potencial matricial de -75 kPa resultou na menor produtividade (773,91 kg ha⁻¹). Pereira et al. (2009) estudando os potenciais matriciais de -15, -25, -40 e -60 kPa para o cultivo de gladiolo (*Gladiolus* L.), verificaram que a redução do potencial matricial apresentaram influência significativa na produção de flores e que o potencial de -15 kPa promoveu os melhores resultados para número de flores.

A massa seca de capítulos florais (Figura 13) reduziu em média 7,2% para cada nível de potencial matricial durante o ciclo completo. Durante a fase reprodutiva, a massa seca de capítulos florais atingiu a maior massa para o potencial matricial de -15 kPa, apresentando 3,25 g planta⁻¹ de massa seca de capítulos. Os resultados corroboram com os obtidos por Laribi et al. (2009) onde ocorreu redução de 20,68% da produção de massa seca de alcaravia (*Carum carvi*) em decorrência da restrição de água.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1% e n.s. não significativo

Figura 13 – Massa seca de capítulos florais (MSCF) produzidos por planta, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa).

A produtividade do uso de água (Figura 14) é definida como a quantidade de água utilizada para produção de uma determinada cultura. Constatou-se na Figura 10 que para o ciclo completo e fase reprodutivo a faixa de potencial matricial entre -30 e -40 kPa apresentaram maior eficiência do uso da água o acúmulo de biomassa de capítulos florais. Os resultados obtidos divergem dos obtidos por Delatorre-Herrera et al (2010) que concluíram que o estresse hídrico pode promover aumento da eficiência da água para aloe vera cultivada em regiões áridas do norte do Chile.

* Significativo a 5%; ** significativo a 1% e n.s. não significativo

Figura 14 – Produtividade do uso de água em calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

4.2 Resultados bioquímicos

Embora não ocorreram diferenças significativas no teor de flavonoides totais (Tabela 5), foi possível verificar que o ensaio com estresse hídrico na fase vegetativa apresentou os maiores valores se comparada com o estresse hídrico durante o ciclo completo ou fase vegetativa. Capra et al. (2014) observaram que a plasticidade anatômica, fisiológica e química em função das condições de cultivo, está diretamente relacionada ao potencial de aclimação. O estresse hídrico é um dos principais fatores que determina a quantidade e qualidade de metabólitos secundários, como os flavonoides.

Ekren et al. (2012) concluíram que o crescimento vegetativo de manjerição (*Ocimum basilicum*) sofre impactos de diferentes níveis de irrigação, o que pode prejudicar posteriormente a produção, síntese de metabólitos secundários e o crescimento. Embora para calêndula o órgão comercialmente cultivado seja os capítulos florais para extração de flavonoides, é possível verificar variação na produção e princípios ativos na fase vegetativa e reprodutiva dependendo da lâmina de irrigação aplicada. A restrição hídrica durante a fase vegetativa ou durante o florescimento tem efeitos diretos sobre o metabolismo secundário. De acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007) o efeitos do déficit hídrico sobre a síntese de princípios ativos é dependente da severidade e da duração do estresse.

Pinto et al. (2014) concluíram que o estresse hídrico promoveu aumento da biomassa seca de capim limão (*Cymbopogon citratus* D.C.) e maior estimativa de produção de princípios ativos. A duração do estresse hídrico é um componente importante da produção e metabolismo secundário de plantas medicinais.

Tabela 5 – Teor de flavonoides totais (TF) da calêndula em $\mu\text{g mL}^{-1}$, para cada fase de desenvolvimento considerando os diferentes potenciais matriciais adotados

Potencial matricial (kPa)	Fase de desenvolvimento		
	ciclo completo	fase vegetativa	fase reprodutiva
-10	12,657 a	27,789 a	62,328 a
-15	10,684 a	37,329 a	41,276 a
-30	10,794 a	29,763 a	56,408 a
-40	12,329 a	26,473 a	45,881 a
-50	12,000 a	24,828 a	35,355 a
-60	14,631 a	29,763 a	28,776 a
F	0,4798	1,0995	2,4813
C.V. (%)	34,27	28,37	35,71

As letras minúsculas comparam as médias da relação raiz/parte aérea considerando as diferentes fases de desenvolvimento e fases de desenvolvimento

O rendimento de flavonoides (Figura 15) não apresentou diferenças significativas para a fase vegetativa, assim como não houve diferenças para as outras variáveis analisadas. Durante a após a fase vegetativa (floração), a água foi resposta para manter o solo na capacidade de campo, logo é possível considerar que o teor de água no solo ao longo dos tratamentos promoveu o equilíbrio do potencial hídrico da planta uma vez que o solo apresentava a quantidade real de água requerida para o desenvolvimento adequado das plantas, ou seja, sem reflexos para a produção e acúmulo de flavonoides. Meira et al. (2013) verificaram que durante a fase inicial de desenvolvimento, o manejo de irrigação com restrição

hídrica seguido da reposição hídrica para atender as necessidades hídricas da planta nas fases de desenvolvimento subsequentes, não causou reflexos na altura, produção e metabolismo secundário de melissa (*Melissa officinalis* L.).

Para o ciclo completo e fase reprodutivo o potencial matricial de -10 kPa resultou nos maiores valores de rendimento de flavonoides, variando entre 42,31 e 108,68 g por planta. Em média ocorreu redução de 68 a 72% do rendimento a medida que aumentou a restrição hídrica. Segundo Chavarria et al. (2011), a menor disponibilidade hídrica reflete no potencial de água nas folhas, implicando na síntese de produtos da fotossíntese e consequentemente na produção de flores. A redução do número de flores resultado da restrição hídrica promoveu aumento dos teores de metabólitos secundários na uva.

Alvarenga et al. (2011) concluíram para o alecrim-pimenta que a diminuição do potencial hídrico nas folhas apresentou reflexos diretos no acúmulo de flavonoides, causando redução de 60% na concentração desses metabólitos.

Figura 15 – Rendimento de flavonoides totais (RF) em calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

Na Figura 16 verificou-se que ocorreu aumento da concentração da prolina com a redução da disponibilidade de água durante as diferentes fases de desenvolvimento estudadas. O estresse hídrico durante o ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva promoveu aumento de 56,7%, 37,9% e 58,7% na concentração de prolina considerando o potencial matricial de -30 a -50 kPa, respectivamente. A diminuição da transpiração em casos de déficit hídrico pode promover o acúmulo de osmorreguladores na célula vegetal. O ajuste osmótico é um mecanismo de tolerância ao estresse hídrico que promove aumento da concentração da prolina, impedindo a perda de água e favorecendo a entrada de água na célula. Amorim et al. (2011) verificaram que a deficiência hídrica além de reduzir a produção, afeta os processos fisiológicos e bioquímicos das plantas. A fotossíntese é reduzida, o que acarreta a redução de fotoassimilados, altera a participação de carboidratos nas folhas e aumenta a concentração de alguns solutos como a prolina.

Relacionando o rendimento de flavonoides (Figura 15) e a concentração de prolina (Figura 16) observou-se que quanto maior a exposição ao estresse hídrico, como ocorreu no ensaio com estresse durante todo o ciclo de desenvolvimento, menor foi o rendimento de flavonoides e maior a concentração de prolina. Embora os flavonoides sejam metabólitos secundários e a síntese desses metabólitos geralmente é favorável ao déficit hídrico, para as condições do experimento o rendimento de flavonoides foi sensível ao déficit hídrico.

De acordo com Alvarenga et al. (2011) a duração do estresse é determinante para a concentração de prolina e metabólitos secundários. Para o alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) concluíram que quando ocorreu aumento da concentração de prolina houve decréscimo da concentração de flavonoides, principalmente em decorrência do período de exposição ao estresse hídrico.

Figura 16 – Concentração de prolina nas folhas frescas de calêndula, considerando as fases de desenvolvimento (ciclo completo, fase vegetativa e fase reprodutiva) e o potencial matricial de água no solo (-10, -15, -30, -40, -50 e -60 kPa)

5 CONCLUSÃO

1. O potencial matricial de água no solo de -10 kPa apresentou os melhores resultados para a variáveis biométricas, destacando-se a maior produção de capítulos florais durante o ensaio de ciclo completo da calêndula.
2. O número e massa de capítulos florais são inversamente proporcional ao rendimento de flavonoides.
3. O manejo de irrigação com estresse hídrico durante a fase reprodutiva é importante para o acúmulo de flavonoides.
4. O potencial matricial de -40 kPa resultou na maior produtividade do uso da água no ciclo completo.

REFERÊNCIAS

AGHAEI, K.; KOMATSU, S. Crop and medicinal plants proteomics in response to salt stress. **Front Plant Science**, Maryland, v. 4, n. 8, p. 4-8, 2013.

AHMADIAN, A.; TAVASSOLI, A.; AMIRI, E. The interaction effect of water stress and manure on yield components, essential oil and chemical compositions of cumin (*Cuminum cyminum*). **African journal of Agricultural Research**, Africa do Sul, v. 6, n. 10, p. 2309- 2315, 2011.

ALEMAN, C.C.; MARQUES, P.A.A.; PACHECO, A.C. Produção de biomassa e capítulo florais da *Calendula officinalis* L. cultivada em viveiro telado, submetida a lâminas de irrigação e diferentes tipos de adubo. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.2, p.3287-3291, 2010.

ALVARENGA, I.C.A.; LOPES, O.D.; PACHECO, F.V.; OLIVEIRA, F.G.; MARTINS, E.R. Fator resposta do alecrim-pimenta a diferentes lâminas de irrigação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 462-468, 2012.

ALVARENGA, I.C.A.; QUEIROZ, G.A.; HONÓRIO, I.C.G.; VALADARES, R.V.; MARTINS, E.R. Prolina livre em alecrim-pimenta sob estresse hídrico antes da colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, p. 539-541, 2011.

AMORIM, A.V.; GOMES-FILHO, E.; BEZERRA, M.A.; PRISCO, J.T.; LACERDA, C.F. Produção e fisiologia de plantas de cajueiro anão precoce sob condições de sequeiro e irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 10, p. 1014-1020, 2011.

ARNOUS, A.H.; SANTOS, A.S.; BEINNER, R.P.C. Plantas medicinais de uso caseiro: conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, Londrina, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2005.

ASSIS, S.V. **Fenologia**. Disponível em: <http://minerva.ufpel.edu.br/~assis/agro/agro_09.doc>. Acesso em: 05 ago. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR FITOTERÁPICO. **Suplemento alimentar e promoção da saúde**. 2007. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br>>. Acesso em: 04 jul. 2013.

AZEVEDO, B.M.; CHAVES, S.W.P.; MEDEIROS, J.F.; AQUINO, B.F.; BEZERRA, F.M.L.; VIANA, T.V.A. Rendimento da pimenteira em função da lâmina de irrigação. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 268-273, 2005.

AZEVEDO, J.A.; SILVA, E.M. **Tensiômetro**: dispositivo prático para controle de irrigação. Planaltina: Embrapa Cerrados. 1999. 9 p.

AZHAR, N.; HUSSAIN, B.; ASHRAF, M.Y.; ABBASI, K.Y. Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain (*Trachyspermum ammi* L.). **Pakistan Journal Botany**, Karachi, v. 43, p. 15-19, 2011.

BANDEIRA, G.R.L.; PINTO, H.C.S.; MAGALHÃES, P.S.; ARAGÃO, C.A.; QUEIROZ, S.O.P.; SOUSA, E.R.; SEIDO, S.L. Manejo de irrigação para o cultivo de alface em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 237-241, 2011.

BATES, L.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water- stress studies. **Plant and Soil**, Crawley, v. 39, p. 205-207, 1973.

BAUER, M.F.A. **Viabilidade técnico-econômica da produção da *Calendula officinalis* L., na Ilha de Santa Catarina, como fonte de matéria-prima para fármacos à base de luteína**. 2010. 80 p. (Monografia para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BENINCASA, M.M.P.; LEITE, I.C. **Fisiologia vegetal**. Jaboticabal: FUNEP, 2004. 169 p.

BERGAMASCHI, H. **Fenologia**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/agrofagrom/disciplinas/502/fenolog.doc>>. Acesso em: 05 ago. 2011.

BETTAIEB, I.; ZAKHAMA, N.; AIDI WANNES, W.; KCHOUK, M.E.; MARZOUK, B. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oil composition. **Scientia Horticulturae**, Oxford, n. 120, p. 271-275, 2009.

BILIBIO, C.; CARVALHO, J.A.; MARTINS, M.; REZENDE, F.C.; FREITAS, E.A.; GOMES, L.A.A. Desenvolvimento vegetativo e produtivo da berinjela submetida a diferentes tensões de água no solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 7, p. 730-735, 2010.

BORGO, J.; XAVIER, C.A.G.; MOURA, D.J.; RICHTER, M.F.; SUYENAGA, E.S. Influência dos processos de secagem sobre o teor de flavonoides e na atividade antioxidante dos extratos de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers, Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 7-12, 2010.

BORTOLO, D.P.G.; MARQUES, P.A.A.; PACHECO, A.C. Teor e rendimento de flavonóides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada com diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 435-441, 2009.

BRAGA, M.B.; CALGARO, M. **Uso da tensiometria no manejo da irrigação**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010, 28p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde**. Brasília, 2006. 92 p.

CAPRA, R.S.; GRATÃO, A.S.; FREITAS, G.B.; LEITE, M.N. Preparados homeopáticos e ambiente de cultivo na produção e rendimento de quercetina em carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 16, n. 3, p. 566-573, 2014.

CARVALHO, J.A.; SANTANA, M.J.; PEREIRA, G.M.; PEREIRA, J.R.D.; QUEIROZ, T.M. Níveis de déficit hídrico em diferentes estádios fenológicos da cultura da berinjela (*Solanum melongena* L.). **Revista Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 320-327, 2004.

CARVALHO, L.M.; CASALI, V.W.D.; SOUSA, M.A.; BARBOSA, L.C.A.; CECOM, P.R. Crescimento, teor de partenólídeo e de prolina em plantas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-BIP crescidas em substrato com diferentes teores de umidade. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 151-157, 2005.

CHAVARRIA, G.; BERGAMASCHI, H.; SILVA, L.C.; SANTOS, H.P.; MANDELLI, F.; GUERRA, C.C.; FLORES, C.A.; TONIETTO, J. Relações hídricas, rendimento e compostos fenólicos de uvas Cabernet Sauvignon em três tipos de solo. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p. 481-487, 2011.

DELATIRE-HERRERA, J.; DELFINO, I.; SALINAS, C.; SILVA, H.; CARDEMIL, L. Irrigation restriction effects on water use efficiency and osmotic adjustment in aloe vera plants (*Aloe barbadensis* Miller). **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 97, p. 1564-1570, 2010.

DOORENBOS, J.; KASSAN, A.H. **Efeito da água no rendimento das culturas**. 2. ed. Campina Grande: UFPB, 2000. 221 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção da Informação, 2013. 412 p.

EKREN, S.; SÖNMEZA, C.; ÖZÇAKAL, E.; KURTTAS, Y.S.; BAYRAMA, E.; GÜRGÜLÜB, H. The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 109, p. 155-161, 2012.

FARIAS, M.F.; SAAD, J.C.C.; VILLAS BÔAS, R.L. Qualidade comercial de crisântemo de vaso em ambiente protegido, cultivar Puritan, irrigado sob diferentes tensões de água no substrato. **Irriga**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 160-167, 2003.

FOGOLARI, H. **Potencial de extratos à base da *Calendula officinalis* L. na indução de resistência e no efeito fungistático sobre o *Botrytis cinerea*, in vitro**. 2010. 55 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2010.

FRAZÃO, J.E.M.; CARVALHO, J.G.; PINHO, P.J.; OLIVEIRA, N.P.; COELHO, V.A.T.; MELO, S.C. Deficiência nutricional em bastão-do-imperador (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 294-299, 2010.

FUMIS, T.F.; PEDRAS, J.F. Variação nos teores de prolina e poliaminas em cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidos a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 449-159, 2002.

GEERTS, S.; RAES, D. Deficit irrigation as an on-farm strategy to maximize crop water productivity in dry areas. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 96, p. 1275- 1284, 2009.

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

GUBIANI, P.I.; REICHERT, J.M.; REINERT, D.J. Interação entre disponibilidade de água e compactação do solo no crescimento e na produção de feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, p. 765-773, 2014.

KUMAR, A.; SINGH, D.P. Use of physiological indices as a screening technique for drought to tolerance in oilseed Brassica species. **Annals of Botany**, London, v. 81, p. 413-420, 1998.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000. 531 p.

LARIBI, B.; BETTAIEB, I.; KOULI, K.; SAHLI, A.; MOUGOU, A.; MARZOUK, A. Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. **Industrial Crop and Products**, Dakota, v. 30, p. 372-379, 2009.

LEAL, L.K.A.M., OLIVEIRA, V.M., ARARUNA, S.M., MIRANDA, M.C.C., OLIVEIRA, F.M.A. Análise de timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 13, p. 9-11, 2003. Suplemento.

LI, W.D.; HOU, J.L.; WANG, W.Q.; TANG, X.M.; LIU, C.L.; XING, D. Effect of water deficit on biomass production and accumulation of secondary metabolites in roots of *Glycyrrhiza uralensis*. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 58, n. 3, p. 538- 542, 2011.

LIBARDI, P.L. Métodos de medida da condutividade hidráulica dos solos. In _____ **Dinâmica do solo**. Piracicaba: EDUSP, 2004. cap. 9, p. 225-253.

LIMA, E.M.C.; CARVALHO, J.A.; REZENDE, F.C.; THEBALDI, M.S.; GATTO, R.F. Rendimento de pimenta cayenne em função de diferentes tensões de água no solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 11, p. 1181- 1187, 2013.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S. Flavonoides: farmacologia de flavonoides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 17, p. 18-22, 2000.

MACHADO NETO, N.B.; CUSTÓDIO, C.C.; GATTI, A.B.; PRIOLLI, M.R.; CARDOSO, V.J.M. Proline: use as indicator of temperature stress in bean seeds. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 4, p. 127-134, 2004.

MAMELI, M.G.; ZUCCA, L.; MAXIA, M.; MANCA, G.; SATTA, M. Effects of different irrigation management on biomass and essential oil production of *Thymus vulgaris* L., *Salvia officinalis* L. and *Rosmarinus officinalis* R., cultivated in the Southern Sardinian climate (Italy). **Acta Horticulturae**, Viña del Mar, n. 889, p. 469-474, 2009. MANTOVANI, E.C. **Avalia**: manual do usuário. Viçosa: UFV, DEA; PNP&D/Café; Embrapa, 2002.

MANTOVANI, E.C.; BERNARDO, S.; PALARETTI, L.F. **Irrigação**: princípios e métodos. UFV, 2009. 355 p.

MARINHO, L.B.; RODRIGUES, J.J.V.; SOARES, J.M.; SANTOS, I.S.; BRANDÃO, E.O.; LIMA FILHO, J.M.P. Potencial de água no solo e na folha da videira “Sugraone” sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 11, p. 1115-1122, 2011.

MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C.; MORETTI, C.L. Desenvolvimento de plantas, produção e qualidade de alho sob condições de deficiência de água no solo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 470-473, 2002.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.A.J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

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

MIRANDA, F.R.; GONDIM, R.S.; OLIVEIRA, V.H. **Irrigação em cajueiro-anão-precoces**. Fortaleza: EMBRAPA, 2013. 30 p. (Documento, 16).

NAIVERTH, J.A.; FARIA, C.M.D. Cultivo de plantas medicinais como alternativa de renda para agricultores familiares do município de Candói – PR. **Revista Eletrônica Lato Sensu**, Irati, v. 2, n. 1, p.1-34, jul. 2007.

NAGUIB, N.Y.M. Organic vs. chemical fertilization of medicinal plants: a concise review of researches. **Advances in Environmental Biology**, Madrid, v. 5, n. 2, p. 394-400, 2011.

PEDRONI, F.; SANCHEZ, M.; SANTOS, F.A.M. Fenologia da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. – Leguminosae, Caesalpinioideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 183-194, 2002.

PEREIRA, J.R.D.; CARVAHO, J.A.; PAIVA, P.D.O.; SILVA, D.J.; SOUZA, A.M.G.; SOUZA, K.J. Crescimento e produção de hastes florais de gladiolo cultivado sob diferentes tensões de água no solo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 965-970, 2009.

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

PRAVUSCHI, P.R.; MARQUES, P.A.A.; RIGOLIN, B.H.M.; SANTOS, A.C.P. Efeito da lâmina de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 687-693, 2010.

PRONATPLUS. **Molécula de quercetina**. Disponível em: <<http://www.pronatplus.com>>. Acesso em: 15 jul. 2011.

QUEIROZ, C.R.A.A. **Cultivo e composição química de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) sob déficit hídrico intermitente no solo**. 144 p. 2012. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.

RADFORD, P.J. Growth analysis formulae: their use and abuse. **Crop Science**, Madison, v. 7, p. 171-175, 1967.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. 285 p.

RIOS, G.F.A.; CARVALHO, L.G.; SILBA, B.M.; REZENDE, F.C.; PEREIRA, G.M. Tensão de água no solo no cultivo de mamoneiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 287-293, 2014.

RUDDOCK, P.S.; CHARLAND, M.; RAMIREZ, S.; LÓPEZ, A.; TOWERS, G.H.N.; ARNASON, J.T.; LIAO, M.; DILLON, J.R. Antimicrobial activity of flavonoids from *Piper lanceaefolium* and other Colombian medicinal plants against antibiotic susceptible and resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. **Sexually Transmitted Diseases**, Atlanta, v. 38, n. 2, p. 82-88, 2011.

SANTOS, G.A.; BRENZAN, M.A.; SERRA, L.Z. Influência do cultivo na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha spicata*. **Sabios: Revista de Ciência e Biologia**, Goiânia, v. 8, n. 3, p. 19-25, 2013.

SANTOS, M.F.; MENDONÇA, M.C.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; DANTAS, I.B.; SILVA-MANN, R.; BLANK, A.F. Esterco bovino e biofertilizante no cultivo de erva-cidreira- verdadeira (*Melissa officinalis* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 355-359, 2009.

SANTOS, S.R.; PERERIRA, G.M. Comportamento da alface tipo americana sob diferentes tensões de água no solo em ambiente protegido. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 569-577, 2004.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; EUZÉBIO, V.L.M.; KODAMA, F.M.; KISSMANN, C. Estresse hídrico e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* L.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 655-662, 2011.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. **Paraná lidera produção de plantas medicinais cultivadas**. Disponível em: <<http://www.seab.pr.gov.br/modules/noticias/article.php>>. Acesso em: 15 jun. 2011.

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, Dakota, v. 42, p. 558-566, 2013.

SCHEFFER-BASSO, S.M., VOSS, M., JACQUES, A.V.A. Nodulação e fixação biológica de nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em vasos de Leonard. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 687-693, 2001.

SHOCK, C.C.; WANG, F.X. Soil water tension, a powerful measurement for productivity and stewardship. **Hortscience**, Alexandria, v. 46, n. 2, p. 178-185, 2011.

SILVA, F.A.S. **ASSISTAT versão 7.7 beta**. Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN, Assistência Estatística. Disponível em:<<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 01 abr. 2014.

SILVA, M.A.A.; AZEVEDO, L.P.; SAAD, J.C.C.; MICHLES, R.N. Efeito de dois sistemas de manejo do solo nas propriedades físico-hídricas, desenvolvimento radicular e produtividade do milho irrigado. **Irriga**, Botucatu, v. 18, n. 3, p. 486-495, 2013.

SILVA, S.R.S.; DEMUNER, A.J.; BARBOSA, L.C.A.; CASALI, V.W.D.; NASCIMENTO, E.A.; PINHEIRO, A.L. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1363-1368, 2002.

SOARES, L.A.A.; BRITO, M.E.B.; ARAÚJO, T.T.; SÁ, F.V.S.; SILVA, E.C.B. Morfologia e qualidade pós-colheita do tomateiro sob estresse hídrico nas fases fenológicas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 8, n. 1, p. 239-246, 2013.

SOARES, L.A.A.; SOUSA, J.R.M.; BRITO, M.E.B.; ANDRADE, E.M.G.; SÁ, F.V.S.; SILVA, E.C.B. Respostas fisiológicas do tomateiro na fase de floração sob estresse hídrico. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 51-55, 2012.

SOUSA, J.A.; MIRANDA, E.M. **Plantas medicinais e fitoterápicos**: alternativas viáveis. 2011. Disponível em: <http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agropecuario/artigo_agropecuario/plantas_medicinais_e_fitoterapicos:_alternativas_viaveis.html?query=plantas+medicinais>. Acesso em: 10 set. 2014.

SOUZA, E.R.; PIONÓRIO, J.A.A.; RIBEIRO, V.G.; QUEIROZ, S.O.P. Produção de videira ‘Superior Seedless’, cultivadas em diferentes tensões de água no solo. **Irriga**, Botucatu, v. 18, n. 2, p. 232-242, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TORMENA, C.A.; SILVA, A.P.; GOLÇALVES, A.C.A.; FOLEGATTI, M.V. Intervalo ótimo de potencial de água no solo: um conceito para avaliação da qualidade física do solo e manejo da água na agricultura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 3, n. 3, p. 286-292, 1999.

UCHIMURA, M.S. **Resposta técnica**. Instituto de Tecnologia do Paraná. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Acesso em: 25 fev. 2008.

ÜNYAYAR, S.; KELES, Y.; UNAL, E. Proline and ABA levels in two sunflower genotypes subjected to water stress. **Bulgarian Journal Plant Physiology**, Sophia, v. 30, p. 24-47, 2004.

VAN GENUCHTEN, M.T. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, p. 892–898, 1980.

VAZ, A.P.A. **Série plantas medicinais e aromáticas**. Embrapa. Disponível em: <<http://www.cpap.embrapa.br>> Acesso em: 25 fev. 2008.

VERLAG, D.A. **Deutsched Arzneibuch**. Stuttgart: Gogi-Verlag GmBH, 1978. 680 p.

ANEXOS

Anexo A

Figura 17 – Curva padrão para quantificação de flavonoides totais

Figura 18 – Curva padrão para quantificação de prolina.