



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**Respostas morfofisiológicas e bioquímicas de *Lippia grata* (Verbenaceae)
frente ao déficit hídrico**

RECIFE

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

LUIZ PALHARES NETO

DISSERTAÇÃO

**Respostas morfofisiológicas e bioquímicas de *Lippia grata* (Verbenaceae)
frente ao déficit hídrico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências, para obtenção do título de mestre.

RECIFE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

P161r Palhares Neto, Luiz.
Respostas morfofisiológicas e bioquímicas de *Lippia grata* (Verbenaceae)
frente ao déficit hídrico / Luiz Palhares Neto. – Recife, 2018.
62 f.: il.

Orientadora: Cláudia Ulisses.
Coorientadora: Terezinha Camara.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa
de Pós-Graduação em Botânica, Recife, BR-PE, 2018.
Inclui referências.

1. Sistema antioxidativo 2. Anatomia foliar 3. Trocas gasosas I. Ulisses, Cláudia,
orient. II. Camara, Terezinha, coorient. III. Título

CDD 580

LUIZ PALHARES NETO

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE *Lippia grata*
(VERBENACEAE) FRENTE AO DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação defendida e aprovada em: ____/____/____

Banca examinadora:

Profa. Dra. Cláudia Ulisses (Orientadora)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Marciel Teixeira de Oliveira (Titular)

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Profa. Dra. Lilia Gomes Willadino (Titular)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Profa. Dra. Ana Virgínia de Lima Leite (Suplente)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Profa. Dra. Flávia Carolina Lins da Silva (Suplente)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

À minha mãe (Ângela), por estar sempre ao meu lado
e me impulsionar a voar mais alto.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, por continuar sendo palco dos melhores momentos da minha vida.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa, que foi tão importante para o desenvolvimento e conclusão do mestrado.

À minha querida e amada “ori-amiga” Cláudia Ulisses, por ser tudo o que eu mais admiro profissionalmente e pessoalmente. Obrigado por me orientar nos mais diversos temas da vida, e por me mostrar que a bondade, humildade e honestidade são cruciais não só para o sucesso na vida, mas também para viver em paz. Obrigado pela oportunidade e por enxergar potencial em mim. Sou muito grato pelos nossos caminhos terem se cruzado.

À Professora Lilia, por ser um exemplo de profissional e pessoa na minha vida. Agradeço por aceitar estar presente no encerramento dessa etapa tão importante pra mim.

À Professora Terezinha, pela oportunidade do ingresso no mestrado, pela orientação e por ser um exemplo de professora. Carregarei sempre comigo os seus ensinamentos.

À Professora Cynthia, por me acompanhar mesmo de “longe”. Obrigado pela paciência, doçura e por compartilhar as *Lippias* comigo.

Ao Professor Marciel, pela disponibilidade, gentileza e excelentes sugestões que impulsionaram esse trabalho.

À Professora Ana Virginia, por me acompanhar desde a graduação, estando presente de forma direta e indireta em todas as etapas importantes da minha vida acadêmica.

À Professora e amiga Flávia, por toda a ajuda e companheirismo. Obrigado por estar sempre ao meu lado me apoiando e me fazendo feliz. Você é muito especial na minha vida.

À minha melhor amiga acadêmica, Linda, por todos os momentos que passamos juntos, por todos os ensinamentos e risadas. Obrigado por trazer leveza para a minha trajetória acadêmica e para minha vida. Obrigado por ser o melhor presente que a “Ciência” me trouxe.

À família LCTV, que compreende os membros atuais (Bruna, Barbara, Pamela, Gabriela, Igor, Nany e Léo) e os que já partiram para iluminar outros ambientes (Rodolfo,

Carlinha, Lili, Martinha, Lalá, Marina, Gemima, Alana e Felipe). Agradeço pelos momentos de leveza e, acima de tudo, pela ajuda nos momentos mais difíceis.

Ao meu amigo peruano Rafael, por ter me ensinado que a coragem é uma virtude primordial para o sucesso pessoal e profissional. Obrigado por ser um exemplo pra mim.

Aos meus amigos da graduação que se tornaram amigos da vida (Marcela, Raphael, Poliana e Ana), obrigado por me apoiarem e me impulsionarem a crescer.

A Jordy, por ser a pessoa que mais me apoiou durante todo o percurso, mesmo quando eu mesmo não acreditava, você acreditava por mim. Obrigado por fazer minha vida feliz.

À Lidi e Nati Ferreira, minhas melhores amigas da vida. Obrigado por serem a família que eu escolhi, as pessoas a que eu peço socorro e colo. Obrigado por compartilharem suas vidas comigo.

À Nati Corte Real, por me ajudar e estar presente em diversos momentos da minha vida pessoal e acadêmica. Obrigado por ser tão companheira e amiga, sempre.

À Marci, por ser essa pessoa iluminada que, por sorte, escolheu ser minha amiga. Obrigado por ser exemplo de superação, garra, bondade, humildade, honestidade e ética. Obrigado pelas risadas frouxas e pelo acolhimento frequente, mesmo nos momentos em que era você que estava precisando ser acolhida.

À minha mãe (Angela) e ao meu irmão (Rafael), por serem responsáveis pelo que sou. Obrigado por me apoiarem e sentirem comigo o misto de emoções de cada etapa da minha vida. Vocês são os grandes motivos disso tudo. Amo vocês, ‘mainha’ e ‘cabeção’.

À minha irmã Ana Karla, por me mostrar que existem laços que dispensam explicações temporais. Obrigado por fazer parte da minha vida, por me presentear com sua família e estar sempre torcendo por mim.

Agradeço a Deus por motivos que não caberiam nessas páginas, porém destaco a quantidade de pessoas boas colocadas no meu caminho. Pessoas já mencionadas acima e outras que me ajudaram direta e indiretamente durante as diversas etapas da minha vida, sendo, portanto, responsáveis por esse trabalho e título.

Finalizo agradecendo “as minhas plantinhas” *Lippias*, responsáveis não só por essa pesquisa, mas por me fazerem um ser humano melhor e mais próximo de Deus. Obrigado por me ensinar que há muito a dizer mesmo em silêncio.

“Lança o barco contra o mar
Venha o vento que houver
E se puder, voa.”

Rubel

RESUMO

No presente estudo, buscou-se investigar as respostas morfofisiológicas e bioquímicas da espécie *Lippia grata* frente à condição de déficit hídrico. Plantas provenientes de estacas foram submetidas a dois regimes hídricos, com e sem suspensão de rega durante 15 dias e posteriormente reidratação por 10 dias. Durante os períodos sob regimes hídricos, foram realizadas análises de crescimento, status hídrico, trocas gasosas, bioquímicas e anatômicas. A condição de déficit hídrico afetou negativamente o crescimento da parte aérea e da área foliar, com reduções aproximadas de 72% e 69,5%, respectivamente, enquanto que o crescimento do sistema radicular foi estimulado pelo estresse (aumento de 205%). A condição de seca ocasionou a redução dos parâmetros fisiológicos (condutância estomática - g_s , transpiração - E , fotossíntese líquida - A e teor relativo de água foliar - TRA), enquanto que a temperatura foliar e a razão da concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) aumentaram. Plantas submetidas ao estresse apresentaram maior eficiência intrínseca do uso da água no 10º dia de suspensão (A/g_s). Os teores de clorofila total, carotenoides e carboidratos solúveis, foram aumentados no 10º e 15º dia de suspensão hídrica. Os níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), proteínas e malonaldeído (MDA) foram elevados em plantas submetidas ao déficit hídrico no 15º dia de suspensão. Plantas sob déficit hídrico apresentaram aumento na atividade de algumas enzimas do sistema antioxidativo (SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase e APX – ascorbato peroxidase) no 10º dia. Foi observado ainda em plantas sob déficit, redução da espessura do mesofilo, menores células epidérmicas, redução dos espaços intercelulares, maior quantidade dos feixes vasculares, maior lignificação das células xilemáticas e modificação morfológica das células corticais. Na reidratação, as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram recuperação em todas as variáveis analisadas. Diante dos resultados, conclui-se que a rápida recuperação dos parâmetros avaliados na espécie estudada pode estar relacionada com a ausência de danos irreversíveis nas estruturas celulares, devido a eficiência do sistema antioxidativo e de processos metabólicos envolvidos com a dissipação do excesso de energia em decorrência do estresse hídrico imposto. Aliado a isso, outras estratégias morfofisiológicas importantes como o aumento no crescimento radicular, aumento na quantidade dos feixes vasculares e redução da área foliar, proporcionaram maior eficiência na absorção de água do solo e na manutenção do conteúdo hídrico celular em plantas de *Lippia grata* submetidas ao déficit hídrico.

Palavras-chaves: Sistema antioxidativo; anatomia foliar; osmorregulação; trocas gasosas; pigmentos; floresta tropical sazonal seca.

ABSTRACT

In the present study, we investigated the morphophysiological and biochemical responses of the species *Lippia grata* Schauer to water deficit. Plants from cuttings were submitted to two water regimes, irrigation (control) and suspended irrigation (stress) for 15 days and were then rehydrated for 10 days. During water regimes, we performed physiological, biometric, biochemical, and anatomical analyzes. The water deficit negatively affected growth of the aerial part of the plant and the leaf area, with reductions of approximately 60% and 50%, respectively. On the contrary, root system growth was stimulated by water deficit (increase of 500%). The drought caused a reduction in the physiological parameters (stomatal conductance - g_s , transpiration - E , net photosynthesis - A and relative leaf water content - RWC), while leaf temperature and internal and external CO_2 concentration ratio (C_i/C_a) increased. Plants subjected to drought had higher intrinsic efficiency of water use on the 10th day of deficit (A/g_s). The levels of total chlorophyll, carotenoids, and soluble carbohydrates increased on the 10th and 15th days of water suspension. The levels of hydrogen peroxide (H_2O_2), proteins, and malondialdehyde (MDA) were high in plants on the 15th day of water deficit. Plants under water deficit showed an increase in the activity of some enzymes of the antioxidative system (SOD - superoxide dismutase, CAT - catalase and APX - ascorbate peroxidase). Plants under water deficit increased SOD activity on the 10th day and CAT on the 10th and 15th day under stress. It was also observed in plants submitted to water deficit, reduction of mesophylic thickness, smaller epidermal cells, reduction of intercellular spaces, more vascular bundles, greater lignification of xylem cells, and morphological modification of cortical cells. During rehydration, the plants submitted to the water deficit recovered in all variables analyzed. We conclude that the rapid recovery of the parameters evaluated for *Lippia grata* are related to the absence of irreversible damage in the cellular structures, due to the efficiency of the antioxidative system, and metabolic processes involved with the dissipation of the excess energy because of the imposed water stress. In addition, other important morphophysiological strategies such as increased root growth, increased vascular bundles, and reduced leaf area improved soil water absorption and maintained the cellular water content in *Lippia grata* plants submitted to drought.

Key words: Antioxidative system; dry tropical seasonal forest; gas exchange; leaf anatomy; osmoregulation; pigments

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO I

Figura 1. Planta de *Lippia grata* Schauer do acervo da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN), localizada no município de Mossoró.....20

Figura 2. Desenho esquemático sobre o status redox celular: (A) Células hidratadas apresentam equilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS) e moléculas antioxidativas que as combatem, acarretando em um equilíbrio redox; (B) Células sob déficit hídrico apresentam um desequilíbrio devido a maior produção de ROS, causando um desequilíbrio redox (estresse oxidativo).24

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II

Figura 1. Déficit de pressão de vapor (DPV) obtido no período do experimento (Fevereiro e Março/2017).....37

Figura 2. Plantas jovens de *Lippia grata* com rega contínua (A e B) e com suspensão temporária de rega (C e D). 15º dia (A e C) e 25º dia (B e D). Barra: 10 cm.....42

Figura 3. A - Condutância estomática (gs); B - Transpiração (E); C - Fotossíntese líquida (A); D - Teor relativo de água na folha (TRA); E – Temperatura (°C) foliar; F - Razão da concentração interna e externa de CO₂ (Ci/Ca); G - Eficiência do uso intrínscio da água (A/g) em plantas de *Lippia grata* submetidas a dois regimes hídricos: com rega (controle) e suspensão total da irrigação (estresse). Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados.44

Figura 4. A - Teores de carboidratos solúveis totais; B - Clorofila total; C - Carotenoides em plantas de *Lippia grata* submetidas a dois regimes hídricos: com rega (controle) e suspensão total da irrigação (estresse). Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados.....45

Figura 5. A - Teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂); B - Malonaldeído (MDA); C - Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD); D - Catalase (CAT); E - Ascorbato

peroxidase (APX); F - Teor de proteínas solúveis em plantas de *Lippia grata* submetidas a dois regimes hídricos: com rega (controle) e suspensão total da irrigação (estresse). Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados47

Figura 6. Cortes transversais do mesofilo de folhas de plantas de *Lippia grata* submetidas a dois regimes hídricos: (A e B) plantas sempre hidratadas; (C e D) Plantas submetidas ao déficit hídrico aos 15 dias de suspensão de rega; (E e F) plantas submetidas ao déficit hídrico após 10 dias de reidratação. Caracteres anatômicos: (1) espessura do mesofilo; (2) células epidérmicas na face adaxial; (3) parênquima paliçádico; (4) parênquima lacunoso; (5) espaços extracelulares. Barra: 50 µm (A, C e E) e 20 µm (B, D e F)..... 49

Figura 7. Cortes transversais da nervura central de folhas de plantas de *Lippia grata* submetidas a dois regimes hídricos: (A e B) plantas sempre hidratadas; (C e D) Plantas submetidas ao déficit hídrico aos 15 dias de suspensão de rega; (E e F) plantas submetidas ao déficit hídrico após 10 dias de reidratação. Caracteres anatômicos: (1) células parenquimáticas; (2) feixe vascular central; (3) feixes vasculares acessórios; (4) espaços extracelulares; (5) epiderme adaxial. Barra: 50 µm (A, C e E) e 20 µm (B, D e F).....50

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO II

Tabela 1. Taxa de crescimento relativo (TCR) da parte área (P.A.) e da raiz de *Lippia grata* no 5º dia (exposição ao déficit hídrico), 15º dia (período máximo de exposição ao déficit hídrico) e 25º dia (reidratação). Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados43

Tabela 2. Área foliar de *Lippia grata* avaliada no dia 0 (zero) (antes da exposição ao déficit hídrico); 15º dia (período máximo de exposição ao déficit hídrico) e 25º dia (período de reidratação). Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados43

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
CAPITULO I	15
1. Introdução Geral	16
2. Revisão de Literatura	18
2.1 Floresta Tropical Sazonal Seca	18
2.2 <i>Lippia grata</i> Schauer	19
2.3 Déficit hídrico	22
3. Referências	26
CAPÍTULO II	33
Respostas fisiológicas e bioquímicas de <i>Lippia grata</i> (Verbenaceae) frente ao déficit hídrico	
Resumo	35
Introdução	36
Material e Métodos	37
Resultados	42
Discussão	51
Conclusões	55
Referências	57

CAPITULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

1. Introdução Geral

A Floresta Tropical Sazonal Seca (FTSS) brasileira, também conhecida como Caatinga, cobre basicamente o semiárido brasileiro e apresenta uma rica biodiversidade vegetal que contribui para economia do país, principalmente nos ramos farmacêuticos e da construção civil (Santos et al., 2008). A utilização indiscriminada dos recursos vegetais pelas indústrias e comunidades locais, compromete a conservação de espécies únicas, ou seja, que só ocorrem nesse tipo de floresta (Nobre, 2011). Segundo o Ministério do Meio Ambiente, estima-se que 46% da área total da Caatinga foi degradada, evidenciando a importância de estudos voltados para conservação de espécies da fauna e flora desse ecossistema. Aliada a essa problemática, o semiárido brasileiro apresenta características climáticas peculiares, tais como reduzida e variável precipitação, elevadas temperaturas e baixas taxas de umidade, que em conjunto, resultam em um acentuado déficit hídrico (Silva et al., 2015).

A espécie *Lippia grata* Schauer, também conhecida como *Lippia gracilis*, pertence à família Verbenaceae e se destaca por apresentar propriedades medicinais devido aos compostos fenólicos presentes em seu óleo essencial armazenado e secretado pelos seus tricomas glandulares (Lima et al. 2013; Melo et al. 2013; Marinho et al., 2011). O óleo essencial extraído de suas folhas apresenta atividade antimicrobiana, antioxidante e antitumoral (Marreto et al., 2008; Cruz et al., 2013; Ferraz et al., 2013). Essa espécie é endêmica da Caatinga, ocorrendo nos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Sergipe, Piauí (Lorenzi e Matos, 2002), no semiárido do Estado de Pernambuco e em pequena parte do Rio Grande do Norte (Marreto et al., 2008).

A água é um dos recursos de maior importância na vida vegetal, e um dos mais limitantes. As plantas, como organismos sésseis, são impossibilitadas de evadir das ameaças ambientais, portanto, desenvolveram estratégias adaptativas de defesa e enfrentamento aos fatores bióticos e abióticos. Esses mecanismos podem ser de ordem morfológica, fisiológica, anatômica e bioquímica (Zargar et al., 2017; Yi et al., 2016; Barcia et al., 2014; Cavatte et al., 2012). Algumas plantas sob condições de déficit hídrico, podem apresentar o aumento do sistema radicular para ampliar a área de absorção de água do solo, bem como uma diminuição da área foliar para reduzir as taxas transpiratórias (Ajithkumar & Panneerselvam, 2014). Associados a esses fatores, as plantas podem elevar a produção de substâncias conhecidas como osmorreguladoras, que são de extrema importância no processo da manutenção da turgescência celular em situações de deficiência hídrica (Cavatte et al., 2012; Dominghetti et

al, 2015). Além disso, a eficiência do sistema antioxidativo enzimático e não enzimático, frente à elevada produção de espécies reativas de oxigênio decorrente de estresse, é um importante mecanismo bioquímico para manutenção da homeostase redox e sobrevivência da planta (Barbosa et al., 2014).

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo compreender os mecanismos morfofisiológicos e bioquímicos adotados por *Lippia grata* Schauer frente ao déficit hídrico, elucidando algumas estratégias de adaptação que permite a sobrevivência em seu habitat natural, oferecendo informações que possam ser utilizadas em programas de melhoramento genético de plantas.

2. Revisão de Literatura

2.1 Floresta Tropical Sazonal Seca Brasileira

A região de Floresta Tropical Sazonal Seca (FTSS) brasileira, também conhecida como Caatinga, ocupa uma área de 844.453 Km², o equivalente a 11% do território nacional, englobando os seguintes Estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e o Norte de Minas Gerais (Ministério do Meio Ambiente, 2014). Essa região apresenta uma ampla diversidade quando comparada com outras regiões áridas do mundo, apresentando diversas espécies únicas, ou seja, não ocorrentes em nenhuma outra parte do planeta (Silva et al., 2015). Apesar da sua importância no cenário social e ambiental, pouco mais de 8% dessa floresta estão protegidos por unidades de conservação federal e apenas 1,4% em unidades de conservação de Proteção Integral (Mittermeier & Scarano, 2013).

Os estudos acerca dos impactos das mudanças climáticas sobre a estabilidade dos biomas no Brasil, mostram mudanças significativas na vegetação do semiárido do Brasil brasileiro. O alto grau de degradação dessas regiões, sinaliza que a Caatinga está entre os ecossistemas mais vulneráveis devido ao cenário de aumento das temperaturas globais e redução da precipitação, o que coloca a região Nordeste do Brasil em alerta, devido ao risco considerado de extinção de espécies da flora e da fauna desse importante bioma (Nobre, 2011).

A biodiversidade vegetal da Floresta Tropical Sazonal Seca brasileira conta com aproximadamente 2.213 espécies de angiospermas distribuídas em 126 famílias, das quais 318 espécies (18 gêneros e 42 famílias) são endêmicas desse ecossistema (Flora do Brasil, 2018; Giulietti et al., 2002). Essa biodiversidade ampara diversas atividades econômicas do país, especialmente nos ramos farmacêutico, cosmético, químico, construção civil e de alimentos. Cerca de 27 milhões de pessoas vivem nessa floresta, a maioria carente de amparo financeiro e dependente dos recursos desse bioma para sobreviver. Apesar da sua importância, a FTSS tem sido desmatada de forma acelerada, principalmente nos últimos anos, chegando a 46% de desmatamento, devido principalmente ao consumo de lenha nativa, explorada de forma ilegal e insustentável, para fins domésticos e indústrias, ao sobrepastoreio e a conversão de áreas para pastagens e agricultura (Ministério do Meio Ambiente, 2014). Estima-se de que 65,57% da vegetação da FTSS apresente propriedades medicinais (Santos et

al., 2008), as quais são utilizadas pelas populações e indústrias de maneira exploratória e não renovável (Silva et al., 2012).

As plantas consideradas medicinais são aquelas que apresentam compostos químicos proveniente do seu metabolismo primário e/ou secundário que desempenha alguma função na profilaxia e/ou cura de doenças. Atualmente, o uso de produtos naturais vem ganhando destaque no tratamento da saúde humana e animal, pois podem apresentar substâncias bioativas contra parasitos, micro-organismos e enfermidades de outra natureza, sem causar prejuízos ao meio ambiente, além de serem menos agressivos à saúde do homem, no que se refere aos resíduos farmacológicos e de agrotóxicos presentes nos alimentos de origem animal e vegetal, respectivamente (Fernandes et al., 2015; Ferraz et al., 2013; Albuquerque et al, 2006).

Considerando o reconhecimento do potencial terapêutico das espécies nativas da FTSS, o interesse crescente da indústria farmacêutica na obtenção de fitoterápicos e a necessidade da realização de pesquisas voltadas a sua conservação, no ano de 2006, o Governo Federal estabeleceu a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que busca ressaltar a importância da pesquisa nesta área, como forma de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e os fitoterápicos por elas produzidos, além de promover o uso sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (Ministério da Saúde, 2006).

2.2 *Lippia grata* Schauer

A família Verbenaceae compreende aproximadamente 2.614 espécies distribuídas em 98 gêneros no mundo, dos quais 49 gêneros e 476 espécies ocorrem no Brasil (Salimena et al., 2015). Na região nordeste estima-se a ocorrência de 37 espécies, se destacando as do gênero *Lippia*. Esse gênero, cujo nome é uma homenagem ao botânico italiano Lippi, é representado por ervas, arbustos e pequenas árvores que são frequentemente aromáticas, em decorrência da presença de óleos essenciais, e estão distribuídas na América Central e do Sul e territórios da África Central (Cruz, 2013; Lorenzi e Matos, 2002). O gênero *Lippia* apresenta aproximadamente 200 espécies, das quais 108 ocorrem no Brasil, sendo 12 delas ocorrentes na região Nordeste (Salimena et al., 2015).

A *Lippia grata* Schauer (Figura 1), pertencente à família Verbenaceae, é conhecida como uma das plantas mais importantes na lista da Central de Medicamentos (CEME) para o Programa de Pesquisa em Plantas Medicinais (PPPM) do Ministério da Saúde (Ferreira et al., 1998). Recentemente essa espécie foi considerada por O’Leray et al. (2012), juntamente com outras três espécies (*Lippia dumetorum* Herzog, *Lippia hickenii* Tronc. e *Lippia laxibracteata* Herzog), como sinônimo de *Lippia grata*.

Trata-se de uma espécie endêmica do Nordeste brasileiro (Gomes et al., 2011; Giulietti et al., 2002), popularmente conhecida como alecrim da chapada e alecrim de tabuleiro. Apresenta porte subarborescente com altura variando de 1,2 a 3,0 metros, muito ramificado, contendo folhas aromáticas, flores de coloração branca (Matos et al., 2004) e frutos contendo sementes com reduzido índice de germinação, sendo encontrada nos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Sergipe, Piauí (Lorenzi e Matos, 2002), no semiárido do Estado de Pernambuco e em pequena parte do Rio Grande do Norte (Marreto et al., 2008).



Figura 1. Planta de *Lippia grata* Schauer do acervo da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN), localizada no município de Mossoró. Fonte: Palhares Neto, 2018.

As folhas de *L. grata* apresentam propriedades químicas e farmacêuticas significativas na atividade antimicrobiana (Fernandes et al., 2015; Albuquerque et al., 2006.), devido aos compostos químicos timol e carvacrol (Moraes et al., 2017; Souza et al., 2017; Trevisan et al., 2016; Bitu et al., 2015; Cruz et al., 2014) presentes no óleo essencial, que são acumulados nos tricomas glandulares (Albuquerque et al., 2006).

O óleo de *L. grata* vem sendo usado topicamente em dermatoses, infecções da garganta, resfriados, tratamento da acne (Matos, 1999), como agente larvicida no controle de espécies como *Aedes aegypti* (Silva et al., 2008), causador da dengue e de *Callosobruchus maculatus* (Marreto et al., 2008; Pereira et al., 2007.), inseto que atinge a família Fabaceae especialmente o feijão (*Phaseolus vulgaris*), provocando perdas consideráveis na produção durante o armazenamento. Outra espécie de inseto onde se observou a atividade inseticida do óleo essencial da *Lippia grata* foi *Diaphania hyalinata*, inseto responsável pela redução produtiva de espécies alimentícias como melão (*Cucumis melo*) e pepino (*Cucumis sativus*) (Melo et al., 2018). Também foi observada a eficácia no controle *in vitro* de larvas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* (carrapato de boi) (Cruz et al., 2013), bem como atividades moluscida e antioxidante (Lima et al., 2008). A ação anticancerígena do óleo essencial de *L. grata* foi observada em ensaios *in vitro* da proliferação e apoptose de células HepG2 (human hepato cellular carcinoma) e em camundongos com células tumorais de Sarcoma 180, evidenciando em ambos ensaios uma atividade antitumoral significativa (Ferraz et al., 2013). Estudos de Ribeiro e colaboradores (2012), também confirmaram a atividade citotóxica do extrato de *L. grata*.

Trabalhos realizados por De Souza et al. (2017) e Cruz et al., (2014) demonstraram que plantas de *Lippia grata* submetidas ao déficit hídrico apresentaram reduzida variação dos constituintes químicos em comparação com plantas hidratadas, demonstrando rusticidade na composição química dos seus óleos essenciais. Porém são escassos trabalhos voltados na identificação dos mecanismos adaptativos à condição de déficit hídrico da referida espécie.

Diante da importância medicinal da *L. grata*, aliada a intensa exploração para fins terapêuticos (Souza et al., 2012), faz-se necessário identificar mecanismos de tolerância a ambiente com baixo índice de precipitação, para elucidar algumas estratégias de adaptação que permite a sobrevivência dessa espécie em seu habitat natural, oferecendo informações que possam ser utilizadas em programas de melhoramento genético de plantas.

2.3 Déficit hídrico

Estresses abióticos desempenham importante papel na determinação da distribuição de diferentes espécies de plantas em distintos tipos de ambientes. Os efeitos resultantes do estresse abiótico em ambientes naturais e agrícolas estão ganhando atenção cada vez maior, devido aos impactos resultantes das mudanças climáticas sobre os padrões de precipitação e temperaturas extremas. Regiões áridas e semiáridas do mundo, como o Nordeste brasileiro, enfrentam problemas com precipitações irregulares (Oliveira et al., 2011). Como estratégias para mecanismo de defesa a estresses, as plantas percebem as tensões do ambiente e regulam seu metabolismo por meio de processos biológicos, para lidar com esses estresses (Campelo et al., 2015). Esses mecanismos incluem respostas morfológicas, fisiológicas, anatômicas e bioquímicas.

A regulação do crescimento no ápice radicular por meio de um sistema sensorial também desempenha um importante papel na resposta adaptativa ao estresse hídrico. O alongamento de raízes secundárias, bem como de pelos radiculares, tem sido descrito como uma resposta adaptativa das plantas em condições de baixo potencial hídrico. Em condições de estresse hídrico moderado é possível verificar o aumento no crescimento da raiz ao contrário da parte aérea, a qual pode apresentar redução significativa do seu crescimento em decorrência da redução na disponibilidade de água (Silva et al., 2017; Aidar et al., 2015; Pezzopane et al., 2015; Ajithkumar & Panneerselvam, 2014).

As folhas também podem apresentar algumas mudanças morfológicas frente ao déficit hídrico, como a redução da área foliar e maior produção de cera cuticular, visando a diminuição da perda de água (Silveira et al., 2016). Além disso, a senescência e abscisão foliar, ocasionado pela influência do ácido abscísico (ABA), é um mecanismo adotado por algumas espécies para sobreviver em períodos mais secos, cuja a disponibilidade de água do solo é baixa, ocasionando uma redução no metabolismo da planta (Planchet et al., 2014).

No que diz respeito aos pigmentos fotossintéticos, a capacidade de manter níveis adequados de clorofila, provavelmente está relacionada à tolerância e eficiência fotossintética de plantas em condições ambientais adversas, onde essas respostas podem estar atreladas à atividade de enzimas envolvidas na biossíntese de clorofila, ou estratégias que reduzem a degradação desses pigmentos, evitando assim, a redução dos níveis de clorofila em condições de estresse (Ashraf e Harris, 2013). Enquanto que os carotenoides, conhecidos como pigmentos acessórios, são importantes na proteção dos aparelhos fotossintéticos contra os

danos oxidativos causados pelo estresse (Wahid, 2007), sendo suas maiores concentrações, em condições de déficit hídrico, um indicador de genótipos tolerantes (Silva et al., 2014).

A taxa fotossintética é reduzida nos períodos secos, devido, dentre os outros fatores, a redução da absorção de CO₂, ocasionado pelo fechamento estomático, e por danos causados nos fotossistemas (Silva et al., 2017; Yi et al., 2016). Plantas consideradas tolerantes apresentam rápida recuperação quando o agente estressor é suprimido (Gorai et al., 2015).

Outro processo metabólico que pode ser influenciado pelo déficit hídrico é a fotorrespiração. A atividade fotorrespiratória envolve a atividade de três organelas: cloroplasto, peroxissomos e mitocôndrias. Esse processo se dá pela atividade da oxigenase da Ribulose - 1,5-bifosfato (Rubisco), no cloroplasto, produzindo 2-fosfoglicolato que é direcionado aos peroxissomos para o início do processo de recuperação do carbono perdido pela atividade oxigenase. Na mitocôndria ocorre a liberação de CO₂ como produto da conversão de duas moléculas de glicina em uma de serina, essa por sua vez, fará o caminho inverso para regenerar o 3-fosfoglicerato que será direcionado ao Ciclo de Calvin no cloroplasto (Talbi et al., 2015; Zhang et al., 2016). Durante esse processo ocorre a oxidação de equivalentes redutores que podem atenuar a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) em condições de estresse abiótico (Lima Neto et al., 2017; Eisenhut et al., 2017). Além disso, nos peroxissomos ocorre a produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que em baixas concentrações atuam como moléculas sinalizadoras (Barbosa et al., 2014; Talbi et al., 2015).

A suspensão no crescimento de plantas submetidas a déficit hídrico está correlacionado à perda da turgescência celular (Dominghetti et al., 2016; Cerqueira et al., 2015; Afzal et al., 2014), sendo o ajuste osmótico de extrema importância para minimizar esse fato, através da maior produção e acúmulo de agentes osmorreguladores (Chen & Murata, 2008; Szabados & Saviouré, 2010). Os agentes osmorreguladores podem ser de ordem inorgânica, se destacando íons de potássio (K⁺) e cloreto (Cl⁻), e/ou orgânica como carboidratos, sendo a sacarose a mais abundante, proveniente da biossíntese ou quebra do amido (Santelia e Lawson, 2016). O alto teor desses compostos diminuem o potencial hídrico das folhas, acarretando uma maior absorção de água, atenuando os efeitos do estresse hídrico (Cavatte et al., 2012).

A geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ânion superóxido (O₂⁻), radical hidroxila (OH⁺) e oxigênio singlete (¹O₂^{*}), ocorre naturalmente durante os processos metabólicos vitais para sobrevivência da planta, sendo

suas concentrações controladas por moléculas antioxidantes, enzimáticas e não-enzimáticas (Karuppanapandian et al., 2012). Em baixas concentrações, as ROS podem atuar como sinalizadores celulares, porém, sob condições ambientais desfavoráveis, pode ocorrer um desequilíbrio na produção e remoção dessas moléculas resultando no acúmulo da mesma, desencadeando um tipo de estresse secundário, denominado estresse oxidativo (Figura 2) (Barbosa et al., 2014). O alto teor de ROS pode causar danos nas estruturas celulares e ocasionar a morte da planta (Gill e Tuteja, 2010). Um importante mecanismo adotado pelas plantas ocorrentes em ambientes áridos é a eficiência do seu aparato de defesa antioxidativo de ordem enzimática (catalase, ascorbato peroxidase, superóxido dismutase, entre outros) e não enzimática (carotenoides, compostos fenólicos, entre outros) que minimizam os efeitos deletérios do acúmulo dessas moléculas.

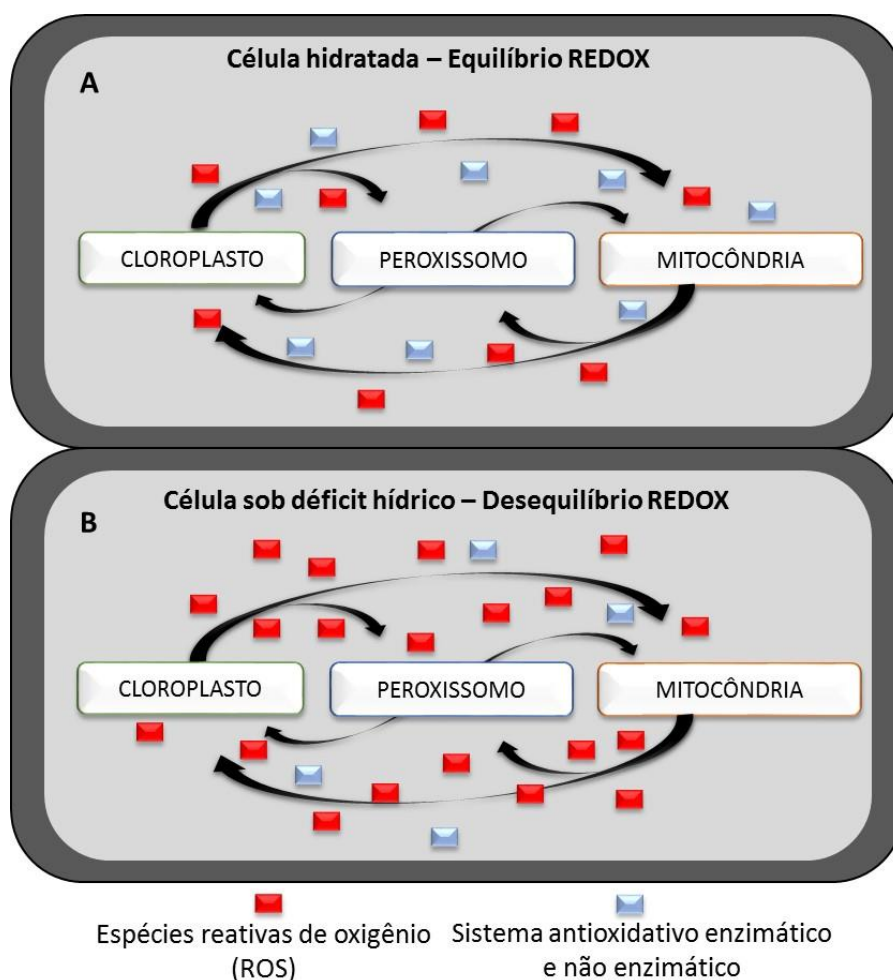


Figura 2. Esquema do status redox celular: (A) Células hidratadas apresentam equilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS) e moléculas antioxidativas que as combatem, acarretando em um equilíbrio redox; (B) Células sob déficit hídrico apresentam um desequilíbrio devido a maior produção de ROS, causando um desequilíbrio redox (estresse oxidativo). Fonte: Palhares Neto, 2018.

As estratégias para assegurar sistemas de conservação e manejo sustentável de espécies do semiárido, exigem o conhecimento de mecanismos morfofisiológicos e bioquímicos desenvolvidos diante de estresses ambientais, como o déficit hídrico. Essas informações irão auxiliar no planejamento de manutenção da biodiversidade do bioma (Albuquerque et. al., 2012).

3. Referências

- AFZAL, A.; GULZAR, I.; SHAHBAZ, M.; ASHRAF, M. Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.)Wilczek]. **Journal of Applied Botany and Food Quality**. V. 87, p. 147 – 156. 2014.
- AIDAR S. T. et al. Características fisiológicas, produção total de raízes e de parte aérea em acessos de *Manihot esculenta* em condições de déficit hídrico. **Revista Brasileira de Geografia Física**. V.8, n. 4. P. 685-696, 2015.
- AJITHKUMAR, I.P.; PANNEERSELVAM, R. ROS scavenging system, osmotic maintenance, pigment and growth status of *Panicum sumatrense* roth. under drought stress. **Cell Biochem. Biophys**. V. 68, p. 587–595. 2014.
- ALBUQUERQUE, C.C. et al. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.4, p.527-35, 2006.
- ALBUQUERQUE, C.C.; CAMARA, T.R.; SANT'ANA, A.E.G.; ULISSES, C.; WILLADINO, L.; MARCELINO JÚNIOR, C. Effects of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer on caulinary shoots of heliconia cultivated *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.14, n.1, p.26-33, 2012.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**. V.51, N.2, pp.163-190, 2013.
- BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, mar, 2014.
- BARCIA, R.A.; PENA, L. B.; ZAWOZNIK, M. S.; BENAVIDES, M. P.; GALLEGO, S. M.; Osmotic adjustment and maintenance of the redox balance in root tissue may be key points to overcome a mild water deficit during the early growth of wheat. **Plant Growth Regul.** V. 74, P.:107–117. 2014.
- BITU, V. C. N. et al. Effect of Collection Time on Composition of Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae) Growing in Northeast Brazil. **Journal of Essential Oil-bearing Plants Jeop.** p. 1-8. 2015.

CAMPELO, D. H.; LACERDA, C. F.; SOUZA, J. A.; CORREIA, D.; BEZERRA, M. E.; ARAÚJO, J. M.; NEVES, A. L. R. Trocas gasosas e eficiência do fotossistema II em plantas adultas de seis espécies florestais em função do suprimento de água no solo. **Revista Árvore**. v. 39, n.5; p. 973-983. 2015.

CAVATTE, P. C. et al. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee: a morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 144, p. 111-122, 2012.

CERQUEIRA, R. C.; COSTA, J. M.; CHAVES, M. M.; RODRIGUES, J. D. Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. V.10, n.2, p.211-217, 2015.

CHEN, T.H.H.; MURATA, N. Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. **Trends in Plant Science**, v.13, p.499–505, 2008.

CRUZ, E. M. O. **Época de colheita, Irrigação, Fitoquímica e Atividades Carrapaticida e Fungicida do Óleo Essencial de Genótipos de *Lippia gracilis* Schauer**. Sergipe: UFSE, 2013 87p. (Tese defendida em Biotecnologia)

CRUZ, E. M. O.; COSTA-JUNIOR, L. M.; PINTO, J. A. O.; FONTES, S. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; JESUS, H. C. R.; SANTOS, D. A.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.. Water Deficit and Seasonality Study on Essential Oil Constituents of *Lippia gracilis* Schauer Germplasm. **The Scientific World Journal**. V.2014, p. 1-9. 2014.

DE SOUZA, A.V.V.; SANTOS, U. S.; CORREA, R. M.; SOUZA, D. D.; OLIVEIRA, F. J. V. Essential Oil Content and Chemical Composition of *Lippia gracilis* Schauer Cultived in the Sub-meddle São Francisco Valley. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. V. 20, N. 4. 2017.

DOMINGHETTI, A. W. et al. Tolerância ao déficit hídrico de Cafeeiros produzidos por estaquia e embriogênese somática. **Coffee Science**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 117 – 126. 2016.

EISENHUT, M., et al. Photorespiration Is Crucial for Dynamic Response of Photosynthetic Metabolism and Stomatal Movement to Altered CO₂ Availability. **Molecular Plant**. V. 10, pp. 47–61. 2017. Doi:10.1016/j.molp.2016.09.011. 2017.

FERNANDES, L.C.B. et al. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathol.** v. 41, n. 2, p. 153-155, 2015.

FERRAZ, R.P.C.; BOMFIM, D.S.; CARVALHO, N.C.; SOARES, M.B.P.; SILVA, T.B. da; MACHADO, W.J.; PRATA, A.P.N.; COSTA, E.V.; MORAES, V.R.S.; NOGUEIRA, P.C.L.; BEZERRA, D.P. Cytotoxic effect of leaf essential oil *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). **Phytomedicine.** V. 20, p.615-621. 2013.

FERREIRA, S.H., BARATA, L.E.S., SALLES, S.L.M., QUEIRÓZ, S.R.R., NETO, N.E.H., CORAZZA, R. & FARIAS, R. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Rio de Janeiro, **Academia Brasileira de Ciências.** 1998.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 11 Jan. 2018

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 48, p. 909 – 930. 2010.

GIULIETTI, A.M., R.M. HARLEY, L.P. QUEIROZ, M.R.V. BARBOSA, A.L. BOCAGE NETA & M.A. FIGUEIREDO. 2002. Plantas Endêmicas da Caatinga. p.103-115 In: **Vegetação e Flora das Caatingas** (SAMPAIO, E.V.S.B., A.M. GIULIETTI, J. VIRGÍNIO & C.F.L. GAMARRA-ROJAS, ed.). APNE / CNIP, Recife, PE. 2002.

KARUPPANAPANDIAN, T. et al. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

LIMA, M.C.L. et al. Composition and biological activities of *Lippia* aff. *Gracilis* essential oil. **Chemistry of Natural Compounds.** V.44, n.2, p.254-256. 2008.

LIMA NETO, M., CUNHA, J.R., FEDERAL, U. Cyclic electron flow, NPQ and photorespiration are crucial for the establishment of young plants of *Ricinus* and *Jatropha curcas* exposed to drought. **Plant Biology.** doi:10.1111/ijlh.12426. 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARINHO, M.J.M.; ALBUQUERQUE, C.C.; MORAIS, M.B.; SOUZA, M.C.G.; SILVA, K.M.B. Estabelecimento de protocolo para micropropagação de *Lippia gracilis* Schauer. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. V. 13, pp. 246-252, 2011.

MARRETO, R. N.; et al. Thermal analyses and gás chromatography coupled mass spectrometry analyses of hidroxipropylmetry analyses of hidroxipropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. **Thermochimica Acta**. v. 475. p.53-58. 2008.

MATOS, F.J.A. et al. Medicinal plants northeast Brazil containing thymol and carvacrol - *Lippia sidoides* Cham. and *L. gracilis* H. B. K (Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.11, p.666-8, 1999.

MATOS, F. J. A. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. 2. ed. Fortaleza: Ed. UFC. P. 445. 2004.

MELO, C. R. et al. Toxicity of essential oils of *Lippia gracilis* chemotypes and their major compounds on *Diaphania hyalinata* and non-target species. **Crop Protection**. V. 104, pp. 47-51. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: MS, 2006, 60p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Caatinga. <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>. Em 09 de abril de 2014. Brasília. 2014.

MITTERMEIER, R.; SCARANO, F. 2013. Ameaças globais à biodiversidade de plantas. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. Livro Vermelho da Flora do Brasil. 1. ed. - Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. p. 20-25.

MORAES, V. R. S.; THOMASI, S. S.; SPRENGER, R. F.; PRADO, V. M. J.; CRUZ, E. M. O.; CASS, Q. B.; FERREIRA, A. G.; BLANK, A. F. Secondary Metabolites from an Infusion of *Lippia gracilis* Schauer Using the LC-DAD-SPE/NMR Hyphenation Technique. **Journal of the Brazilian Chemical**. V.28, n.7. 2017.

NOBRE, P. Mudanças climáticas e desertificação: os desafios para o Estado Brasileiro. **Instituto Nacional do Semiárido (INSA)**. 25-35p.2011.

OLIVEIRA, A.C.L.; ARRIGON-BLANK, M.F.; BLANK, A.F.; BIANCHINI, F.G. Produção de mudas de dois genótipos de alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis* Schauer) em função de fertilizante mineral, calcário, substratos e recipientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.13, n.1, p.35-42. 2011.

O'LEARY, N; DENHAM, S. S.; SALIMENA, F.; MÚLGURA, M. E. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**. V. 170, pp. 97–219. 2012.

PEREIRA, A.C.R.L.; OLIVEIRA, J.V.; JUNIOR, M.G.C.G.; CÂMARA, C.A.G. Atividade inseticidas de óleos essenciais e fixos sobre *Collosobruchus maculatus* (FABR, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) walp). **Ciência e Agrotecnologia**. V.32, n.3, p.717-724. 2007.

PEZZOPANE, C. G. et al. Estresse por deficiência hídrica em genótipos de *Brachiaria brizantha*. **Ciência Rural**. v.45, n.5, p.871-876. 2015.

PLANCHET, E. et al. Abscisic acid-induced nitric oxide and proline accumulation in independent pathways under water-deficit stress during seedling establishment in *Medicago truncatula*. **Journal of Experimental Botany**. doi: 10.1093/jxb/eru088. 2014.

RIBEIRO, S.S., et al., Evaluation of the cytotoxic activity of some Brazilian medicinal plants. **Planta Medica** 78, 1601–1606. 2012.

SALIMENA, F.R.G. et al. Verbenaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB246>>. 2015.

SANTELIA, D.; LAWSON, T. Rethinking Guard Cell Metabolism. **Plant Physiology**. V. 172, pp. 1371–1392, 2016.

SANTOS, J. P.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. Richness and distribution of useful woody plants in the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 72, p. 652 - 663, 2008.

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F.L.; Pigmentos fotossintéticos e índice spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181. 2014.

SILVA. N.G.B.; SOUZA, A.V.V.; SOUZA, D.D.; OLIVEIRA, F.J.V. Tipo de estaca e concentração de ácido indol butírico no enraizamento de alecrim da chapada. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.2, (Suplemento –CD Rom), p.6016-6022. julho. 2012.

SILVA, P. A.; COSME, V. S.; RODRIGUES, K. C.; DETMANN, K. S.; LEÃO, F. M.; CUNHA, R. L.; BUSELLI, R. A. F.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A. Drought tolerance in two oil palm hybrids as related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth. **Acta Physiologiae Plantarum**. P. 29-58. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2354-4>

SILVA, V. N.; SOUTO, L. S.; DUTRA FILHO, J. A.; SOUZA, T. M. A.; BORGES, C. H. A. Deposição de serapilheira em uma área de caatinga preservada no semiárido da Paraíba, Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. V. 10, n.2, p. 21 – 25. 2015.

SILVA, W. J. et al. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**. V. 99, n.8, p. 3251-3255. 2008.

SILVEIRA, P. S.; CUSTÓDIO, J. P. C.; SILVA, F. C. M; NASCENTE, A. C. S.; MONTEIRO, C. L. MATOS, F. S. A ação dos brassinosteróides no crescimento de mudas de pinhão manso sob déficit hídrico. **Agri-Environmental Science**. v. 2, n. 1. 2016.

SOUZA, A.V.V.; SILVA, N.G.B.; SOUZA, D.D.; OLIVEIRA, F.J.V.; BISPO, L. dos P. Propagação vegetativa do alecrim de tabuleiro visando a produção comercial de mudas. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.2, p.5973-5978. 2012.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, v.15, p.89–97, 2010.

TALBI, S.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; HERNÁNDEZ, A.; TERRÓN, L.; FERCHICHI, A.; SANDALIO, L. M.; Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya africana*: Role of antioxidant defences. **Environmental and Experimental Botany**. V. 111, p. 114-126. 2015.

TREVISAN, M. T. S.; MARQUES, R. A.; SILVA, M. G. V.; SCHERER, D.; HAUBNER, R.; ULRICH, C. M.; OWEN, R. W.. Composition of Essential Oils and Ethanol Extracts of the

Leaves of *Lippia* Species: Identification, Quantitation and Antioxidant Capacity. **Records of Natural Products**. V. 10:4, p. 485-496. 2016.

WAHID, A. Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. **Journal of Plant Research**, Faisalabad, v. 120, n. 2, p. 219-228. 2007.

YI, X.-P., et al. Rapid recovery of photosynthetic rate following soil water deficit and re-watering in cotton plants (*Gossypium herbaceum* L.) is related to the stability of the photosystems. **Journal of Plant Physiology**. V. 194, P. 23-34. 2016.

ZARGAR, S. M.; GUPTA, M.; NAZIR, M.; MAHAJAN, R.; MALIK, F. A.; SOFI, N. R.; SHIKARI, A. B.; SALGOTRA, R. K.; Impact of drought on photosynthesis: Molecular perspective. **Plant Gene**. V. 25. 2017.

ZHANG, C., ZHAN, D.X., LUO, H.H., ZHANG, Y.L., ZHANG, W.F. Photorespiration and photoinhibition in the bracts of cotton under water stress. **Photosynthetica** V. 54, p. 12–18. doi:10.1007/s11099-015-0139-9. 2016.

CAPÍTULO II

Respostas morfofisiológicas e bioquímicas de *Lippia grata* (Verbenaceae) frente ao déficit hídrico.

2
3 Article Type:

4 Research paper

5
6 Title:

7 **Morphophysiological and biochemical responses of *Lippia grata* (Verbenaceae) to water**
8 **deficit**

9 Authors:

10 Luiz Palhares Neto¹, Marciana Bizerra de Moraes², Emília Cristina Pereira Arruda³, Cynthia
11 Cavalcanti de Albuquerque², Terezinha Rangel Camara¹, Cláudia Ulisses^{1*}

12 Authors Institution:

13 ¹ Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
14 Recife, PE 52171-900, Brazil

15 ² Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Rio Grande
16 do Norte, Mossoró, RN 59.610-210, Brazil

17 ³ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco,
18 Recife, PE 50670-901, Brazil

19
20 *Corresponding author:

21 Cláudia Ulisses (claulisses@hotmail.com; +55 81 3320 6366)

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34 **Respostas morfofisiológicas e bioquímicas de *Lippia grata* (Verbenaceae) frente ao**
35 **déficit hídrico**

36 **RESUMO**

37 No presente estudo, buscou-se investigar as respostas morfofisiológicas e bioquímicas da espécie
38 *Lippia grata* frente à condição de déficit hídrico. Plantas provenientes de estacas foram submetidas a
39 dois regimes hídricos, com e sem suspensão de rega durante 15 dias e posteriormente reidratação por
40 10 dias. Durante os períodos sob regimes hídricos, foram realizadas análises de crescimento, status
41 hídrico, trocas gasosas, bioquímicas e anatômicas. A condição de déficit hídrico afetou negativamente
42 o crescimento da parte aérea e da área foliar, com reduções aproximadas de 72% e 69,5%,
43 respectivamente, enquanto que o crescimento do sistema radicular foi estimulado pelo estresse
44 (aumento de 205%). A condição de seca ocasionou a redução dos parâmetros fisiológicos
45 (condutância estomática - g_s , transpiração - E , fotossíntese líquida - A e teor relativo de água foliar -
46 TRA), enquanto que a temperatura foliar e a razão da concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a)
47 aumentaram. Plantas submetidas ao estresse apresentaram maior eficiência intrínseca do uso da água
48 no 10º dia de suspensão (A/g_s). Os teores de clorofila total, carotenoides e carboidratos solúveis,
49 foram aumentados no 10º e 15º dia de suspensão hídrica. Os níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2),
50 proteínas e malonaldeído (MDA) foram elevados em plantas submetidas ao déficit hídrico no 15º
51 dia de suspensão. Plantas sob déficit hídrico apresentaram aumento na atividade de algumas enzimas
52 do sistema antioxidativo (SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase e APX – ascorbato
53 peroxidase) no 10º dia. Foi observado ainda em plantas sob déficit, redução da espessura do mesofilo,
54 menores células epidérmicas, redução dos espaços intercelulares, maior quantidade dos feixes
55 vasculares, maior lignificação das células xilemáticas e modificação morfológica das células corticais.
56 Na reidratação, as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram recuperação em todas as
57 variáveis analisadas. Diante dos resultados, conclui-se que a rápida recuperação dos parâmetros
58 avaliados na espécie estudada pode estar relacionada com a ausência de danos irreversíveis nas
59 estruturas celulares, devido a eficiência do sistema antioxidativo e de processos metabólicos
60 envolvidos com a dissipação do excesso de energia em decorrência do estresse hídrico imposto.
61 Aliado a isso, outras estratégias morfofisiológicas importantes como o aumento no crescimento
62 radicular, aumento na quantidade dos feixes vasculares e redução da área foliar, proporcionaram
63 maior eficiência na absorção de água do solo e na manutenção do conteúdo hídrico celular em plantas
64 de *Lippia grata* submetidas ao déficit hídrico.

65 **Palavras-chaves:** Sistema antioxidativo; anatomia foliar; osmorregulação; trocas gasosas; pigmentos;
66 floresta tropical sazonal seca.

67

68 1. Introdução

69 A Floresta Tropical Sazonal Seca (FTSS) brasileira, também conhecida como Caatinga,
70 cobre a maior parte do nordeste brasileiro, apresentando uma rica biodiversidade vegetal,
71 com aproximadamente 2.213 espécies das quais 318 são endêmicas. Possui diversificada
72 importância em diversas atividades econômicas do país, especialmente no ramo farmacêutico
73 (Ministério do Meio Ambiente, 2014). Diversas espécies de plantas medicinais são
74 encontradas na FTSS, chegando a compor 65,57% de sua vegetação total (Santos et al.,
75 2008), dentre essas plantas medicinais, destacam-se as da família Verbenaceae, que
76 compreendem 98 gêneros e mais de 2.614 espécies distribuídas no mundo, dentre as quais
77 277 espécies ocorrem no Brasil e 175 são endêmicas. Espécies pertencentes a essa família,
78 principalmente as do gênero *Lippia*, apresentam notável atividade antimicrobiana, devido à
79 constituição química, que na grande maioria apresenta constituintes fenólicos (Moraes et al.,
80 2017; Souza et al., 2017; Lima et al. 2013; Melo et al. 2013).

81 A espécie *L. grata* Schauer, é endêmica do Nordeste brasileiro (Gomes, 2011; Lorenzi,
82 2008) e suas folhas apresentam um odor forte e agradável, caracterizado pela presença de
83 óleo essencial, armazenados e secretados por tricomas glandulares (Marinho et al., 2011). As
84 propriedades farmacêuticas resultantes do óleo essencial dessa espécie, devem-se à presença
85 dos compostos timol e carvacrol (Trevisan et al., 2016; Bitu et al., 2015), compostos
86 majoritários aos quais se atribui as ações antimicrobiana, antioxidante e de atividade
87 antitumoral (Cruz et al., 2013; Ferraz et al., 2013; Marreto et al., 2008).

88 A utilização dos recursos naturais de forma indiscriminada, pelas indústrias e
89 população local, ameaça a preservação de diversas espécies endêmicas da FTSS (Silva et al.,
90 2015). Em 2014, o Ministério do Meio Ambiente estimou que 46% da área total da FTSS
91 brasileira tenha sido desmatada. Aliada a essa problemática, a localização desse ecossistema
92 se dá em um domínio de climas semiáridos e caracteriza-se pela irregularidade e baixa taxa
93 de precipitação pluvial, associada à elevada demanda evaporativa, o que limita a
94 produtividade das plantas (Silva et al., 2015). Neste aspecto, mecanismos adaptativos de
95 ordem morfológica, fisiológica, anatômica e bioquímica foram desenvolvidos pelas plantas
96 para tolerar fatores abióticos adversos.

97 A deficiência hídrica promove uma condição estressante que provoca alterações
98 metabólicas nas plantas, gerando diferentes respostas, tais como: aumento do sistema
99 radicular, proporcionando a maior eficiência na absorção de água em períodos secos

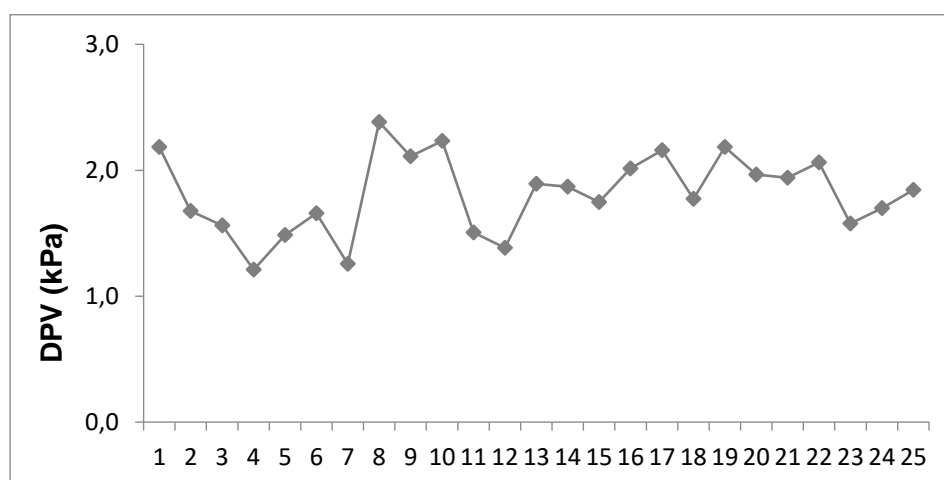
100 (Ajithkumar & Panneerselvam, 2014); mudanças na dinâmica de abertura e fechamento dos
101 estômatos, ocasionando redução das taxas transpiratórias e fotossintéticas (Yi et al., 2016;
102 Cerqueira et al., 2015); produção e acúmulo de compostos osmorreguladores, como os
103 carboidratos solúveis, importantes no processo da manutenção da turgescência celular,
104 devido a redução do potencial hídrico da célula (Dominghetti et al, 2015; Cavatte et al.,
105 2012). Além disso, algumas respostas anatômicas, tais como a redução da espessura do
106 mesofilo e aumento no crescimento nos feixes vasculares das folhas são observados em
107 plantas submetidas a condições de déficit hídrico (Silva et al., 2017). Ademais, a eficiência
108 do sistema antioxidativo enzimático, frente à elevada produção de espécies reativas de
109 oxigênio decorrente de estresses abióticos, é um importante mecanismo bioquímico para
110 manutenção da homeostase redox e sobrevivência da planta (Barbosa et al., 2014).

111 Frente ao exposto, objetivou-se nesse trabalho compreender os mecanismos
112 morfofisiológicos e bioquímicos adotados por *L. grata* frente à irregularidade hídrica, bem
113 como suas estratégias de adaptação que permite a sobrevivência em seu habitat natural, de
114 forma que possibilite informações que possam ser utilizadas em programas de melhoramento
115 genético de plantas.

116 2. Materiais e métodos

117 2.1 Local do experimento

118 O experimento foi realizado em casa-de-vegetação do Departamento de Química, na
119 área de Química Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco, nos meses de
120 fevereiro e março de 2017. Durante o período do experimento o déficit de pressão de vapor
121 (DPV) (fig. 1) foi calculado baseado nos dados de temperatura e umidade do ar coletados.
122



124 Fig. 1. Déficit de pressão de vapor (DPV) obtido no período do experimento (Fevereiro e Março/2017).

125 2.2 Material vegetal

126 Inicialmente 100 estacas lenhosas retiradas da região mediana de plantas adultas de *L.*
127 *grata*, provenientes do Município de Mossoró, pertencente ao Estado do Rio Grande do
128 Norte, medindo aproximadamente 25 cm, tiveram suas bases imersas em água durante 24
129 horas, e posteriormente foram transferidas para uma solução de ácido indol-3-butírico (IBA)
130 na concentração de 1,5 mg L⁻¹, onde permaneceram durante 10 minutos. Após esse
131 tratamento, as estacas foram plantadas em sacos de polietileno com capacidade para 15 litros
132 contendo uma mistura de areia lavada e esterco de caprino curtido, na proporção de 2:1,
133 respectivamente. Dois meses após o plantio das estacas, as plantas foram submetidas a dois
134 diferentes tratamentos hídricos: com irrigação (80% da capacidade de pote/saco) e suspensão
135 temporária da rega, durante 15 dias. Após esse período, as plantas foram reidratadas durante
136 10 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, perfazendo 2 regimes
137 hídricos (com irrigação e suspensão total de rega), contendo 50 repetições por tratamento.
138 Durante o experimento foram realizadas análises de crescimento, status hídrico, trocas
139 gasosas, bioquímicas e anatômicas.

140

141 2.3 Avaliações Biométricas

142 A produção de biomassa seca da parte aérea e da raiz foi medida com o auxílio da
143 balança analítica. A secagem foi realizada em estufa de aeração forçada a 65°C. Para
144 obtenção da taxa de crescimento relativo (TCR) do sistema radicular e da parte aérea foi
145 utilizada a formula abaixo:

$$146 \quad TCR = \frac{\log W_2 - \log W_1}{d_2 - d_1}$$

147 Onde W_2 e W_1 são os pesos das plantas nos dois períodos analisados: (d_2) e o dia 0
148 (d_1), respectivamente.

149 Para determinação da área foliar (AF) foram coletadas folhas jovens totalmente
150 expandidas no primeiro dia (dia 0 - zero), ao 15º e 25º dia do experimento e posteriormente
151 foram digitalizadas para mensuração através do software ImageJ.

152 2.4 Análises Fisiológicas

153 Para analisar o teor relativo da água (TRA) discos foliares foram coletados a cada 5
154 dias durante os 25 dias do experimento e pesados para obtenção do peso fresco (Pf), em
155 seguida foram hidratados em placas de Petri com papel de filtro embebido por cerca de 24

156 horas e após esse período foi obtido o peso túrgido (Pt), depois disso os discos foram secos
157 em estufa para obtenção do peso seco (Ps). O TRA foi obtido através da fórmula:

$$158 \quad TRA = \frac{Pf - Ps}{Pt - Ps} \times 100$$

159

160 Os parâmetros de trocas gasosas (Condutância estomática - g_s , transpiração - E e
161 fotossíntese líquida - A , Temperatura foliar - $^{\circ}C$, razão de concentração interna e externa de
162 CO_2 - C_i/C_a , eficiência do uso da água - A/E e eficiência intrínseca do uso da água - A/g_s)
163 foram realizados entre a cada 5 dias no período das 9h às 10h em folhas completamente
164 expandidas do terceiro ramo, através de um analisador de gás a infravermelho (IRGA -
165 *Infrared Gas Analyzer*) modelo 6400 (Li-COR, Lincoln, NE, USA).

166 2.5 Análises Bioquímicas

167 2.5.1 Teores de pigmentos e carboidratos solúveis totais

168 O teor de clorofila total (a e b) e carotenoides foram determinados segundo Bezerra
169 Neto e Barreto (2011) com modificações. Aproximadamente 0,2 g de amostra de folhas
170 foram triturados em presença de acetona (80%). Os extratos foram filtrados, usando uma tela
171 de náilon fina, para balão volumétrico de 25 mL. Uma alíquota de 10mL do filtrado foi
172 centrifugado por 10 minutos a 2.000g. Em seguida as leituras foram realizadas em
173 espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 645 nm e 663 nm para as clorofilas b e a ,
174 respectivamente. A leitura para quantificação de carotenoides foi realizada a 470 nm. Foram
175 calculados os teores de clorofila a e b e carotenoides na amostra vegetal através de equações
176 e os resultados foram expressos em $g.kg^{-1}$ massa fresca.

177 A determinação analítica de carboidratos solúveis foi realizada pelo método da
178 antrona, conforme descrito Yemm e Willis (1954). Foram utilizados 0,250g de amostra
179 vegetal para o preparo do extrato utilizando 20 mL de etanol a 80%. O material permaneceu
180 sob agitação por 30 minutos e em seguida foi filtrado em tela de náilon de malha fina. O
181 volume do filtrado foi completado para 50 mL utilizando água destilada. Em tubos de ensaio
182 foram pipetados 200 μ L do extrato que foram mantidos em banho de gelo. Posteriormente
183 foram adicionados 2 mL do reagente específico (antrona), homogeneizados e novamente
184 imersos em banho de gelo. Posteriormente os tubos foram transferidos para banho-maria
185 regulado a 100 $^{\circ}C$ onde permaneceram por 10 minutos para o desenvolvimento da cor.

186 Novamente os tubos foram transferidos para banho de gelo e a leitura foi realizada em
187 espectrofotômetro a 620 nm. Os resultados foram expressos em g.kg^{-1} massa fresca.

188

189 2.5.2 Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e determinação de peroxidação 190 lipídica (MDA)

191 O teor de H_2O_2 foi determinado de acordo com o método de Loreto e Velikava (2001). As
192 amostras frescas foram maceradas com ácido tricloroacético (TCA) 0,1%, na relação de 1
193 g/10 mL (w:v) e posteriormente centrifugadas a 10.000g por 5 min, a 4°C. Do sobrenadante,
194 retiraram-se 200 μL ao qual foram adicionados 200 μL de tampão fosfato de potássio 100
195 mM (pH 7,5) e 800 μL de solução 1 M de iodeto de potássio. As amostras permaneceram em
196 gelo e no escuro, durante uma hora. Após este período, as amostras foram retiradas do gelo e
197 mantidas em temperatura ambiente para estabilização da reação, e em seguida, foi realizada a
198 leitura em espectrofotômetro a 390 nm. A leitura foi realizada a 390 nm em
199 espectrofotômetro e os resultados expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

200 A peroxidação lipídica foi determinada de acordo com Heath e Packer (1968), com
201 modificações. A reação foi determinada através da produção de MDA, um metabólito reativo
202 ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). Amostras biológicas foram maceradas em TCA 0,1% na
203 proporção de 1 g/10 de tampão, juntamente com 20% de PVPP (polivinilpolipirrolidona). O
204 homogeneizado foi centrifugado a 10.000g durante 5 min a 4°C e em seguida recolhido
205 250 μL do sobrenadante e ejetados em tubos criogênicos contendo 1 mL de solução de ácido
206 tiobarbitúrico (0,5%) e ácido tricloroacético (20%). A mistura foi mantida em banho-maria a
207 95°C durante 30 min e em seguida, passou por rápido resfriamento por 10 min. Antes da
208 leitura em espectrofotômetro, as amostras foram centrifugadas por mais 10 min a 10.000g. As
209 leituras foram realizadas a 535 e 600 nm e os resultados foram expressos em nmol g^{-1} MF.

210

211 2.5.3 Análise de enzimas antioxidativas

212 Amostras congeladas foram maceradas e homogeneizadas com tampão fosfato de
213 potássio 100 mM (pH 7,5), 1 mM de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), 3 mM de DL-
214 ditiotreitól e 20% de PVPP sob temperatura de - 4°C na relação de 1 g/3 mL (w:v) (Azevedo
215 et al., 1998). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000g durante 30 min e o sobrenadante

216 separado em alíquotas e armazenado a -20°C até a determinação das atividades enzimáticas.
217 A concentração das proteínas totais foi determinada segundo o método de Bradford (1976).

218 A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada conforme proposto por
219 Gianolitis e Reis (1977), com modificações. Por esse método, é determinada a inibição da
220 redução do NBT (nitro blue tetrazolium) pelo extrato enzimático, evitando assim a formação
221 do cromóforo formazana. A solução de reação (3 mL) foi constituída de 85 mM de tampão
222 fosfato (pH 7,8), 75 μM de NBT, 5 μM riboflavina, 13 mM de metionina, 0,1 mM EDTA e
223 50 μl de extrato enzimático. A solução foi adicionada em tubos de vidro e irradiada com luz
224 branca (lâmpada fluorescente de 15 W) por 5 min. Após esse período de exposição, a solução
225 foi analisada por espectrofotômetro a 560 nm. Uma unidade foi definida como a quantidade
226 de enzima que inibe em 50% a formação de formazana por grama de proteína, com resultados
227 expressos em U/mg de proteína. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm.

228 A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi executada conforme descrito por
229 Nakano e Asada (1981). O meio de reação composto por 650 μL de tampão fosfato de
230 potássio 80 mM, pH 7,5, 100 μL de ascorbato 5 mM, 100 μL de EDTA 1 M, 100 μL de H_2O_2
231 1 mM e 50 μL do extrato protéico. A atividade da APX foi determinada pelo monitoramento
232 da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a 30°C , durante 60 segundos, em
233 espectrofotômetro. A atividade foi calculada a partir do coeficiente de extinção molar para o
234 ascorbato ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade específica foi dada em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

235 A atividade da CAT foi determinada segundo Havir e Mchale (1987) com
236 modificações, conforme Azevedo et al. (1998). Em solução contendo 1 mL de tampão fosfato
237 de potássio 100 mM (pH 7,5) e 25 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 1 mM.
238 Primariamente foi adicionado 25 μL do extrato proteico, onde a atividade enzimática foi
239 determinada seguindo a decomposição do H_2O_2 por 60 segundos, através das alterações a 240
240 nm, sob temperatura de 25°C , em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em
241 $\mu\text{mol/mg}$ de proteínas/min, considerando que uma unidade de catalase decompõe 1 μmol de
242 H_2O_2 por mg de proteína em 1 minuto a pH 7,5.

243 *2.6 Análises anatômicas*

244 Para avaliação anatômica do mesofilo e da nervura central, lâminas da região mediana
245 da folha foram confeccionadas a partir de material vegetal fixado em solução de FAA 70
246 (Sass, 1951). As amostras foram desidratadas em uma série etílica (Johansen, 1940),
247 infiltradas e incluídas em parafina e seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo,

248 cujas secções obtidas com 8 μ m foram coradas com safranina e azul de Alcian (Bukatsch,
249 1972). Os cortes foram analisados em microscópico óptico.

250

251 2.7 Análise estatística

252 Os dados quantitativos do experimento foram submetidos ao teste T ao nível de 5% de
253 probabilidade pelo Programa R.

254 3. Resultados

255 3.1 Avaliações Biométricas

256 Plantas sob suspensão hídrica apresentaram maior crescimento relativo (TCR) do
257 sistema radicular tendo um aumento de aproximadamente 205% na sua biomassa (fig. 2C e
258 tabela 1), enquanto que o TCR da parte aérea foi afetado negativamente entre o 5 $^{\circ}$ e 15 $^{\circ}$ dia
259 de suspensão hídrica, com redução de aproximadamente 72%. No período de reidratação foi
260 observado a recuperação, através do aumento na produção de biomassa da parte aérea (fig. 2D
261 e tabela 1). Plantas sempre irrigadas apresentaram um crescimento contínuo e proporcional
262 da parte aérea e raiz (fig. 3A e 3B; tabela 1). Outra variável afetada pela escassez hídrica foi a
263 área foliar, em que plantas sob condição de estresse, apresentaram redução da área foliar (\approx
264 69,52%), mas no período de reidratação apresentaram rápida recuperação.



265

266 **Fig. 2.** Plantas jovens de *Lippia grata* com rega contínua (A e B) e com suspensão temporária de rega (C e D).
267 15 $^{\circ}$ dia (A e C) e 25 $^{\circ}$ dia (B e D). Barra: 10 cm.

268

269 **Tabela 1.** Taxa de crescimento relativo (TCR) da parte área (P.A.) e da raiz de *Lippia grata* Schauer no 5° dia
 270 (exposição ao déficit hídrico), 15° dia (período máximo de exposição ao déficit hídrico) e 25° dia (reidratação).
 271 Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos
 272 nos diferentes tempos avaliados segundo o teste t.

Período	TCR P.A. (g.g ⁻¹ dia ⁻¹)		TCR RAIZ (g.g ⁻¹ dia ⁻¹)	
	Controle	Estresse	Controle	Estresse
0 - 5°	0,045 a	0,048 a	0,035 b	0,059 a
5° - 15°	0,074 a	0,020 b	0,099 b	0,302 a
15° - 25°	0,135 a	0,077 b	0,176 a	0,037 b

273

274

275 **Tabela 2.** Área foliar de *Lippia grata* Schauer avaliada no dia 0 (zero) (antes da exposição ao déficit hídrico);
 276 15° dia (período máximo de exposição ao déficit hídrico) e 25° dia (período de reidratação). Os valores
 277 representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes
 278 tempos avaliados segundo o teste t.

Dia(s)	ÁREA FOLIAR (cm ²)	
	Controle	Estresse
0	23,64 a	22,81 a
15°	35,54 a	10,83 b
25 °	21,34 a	21,92 a

279

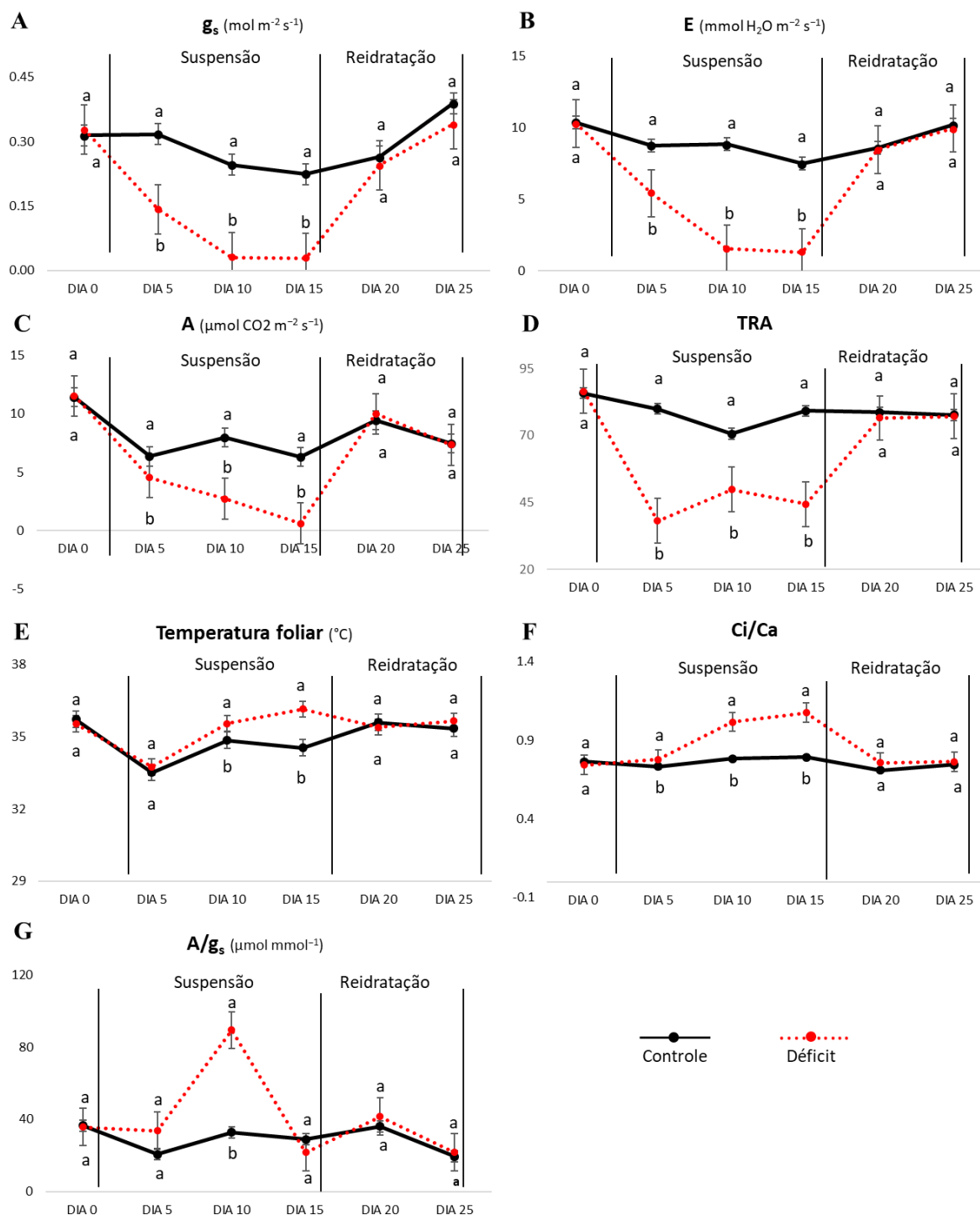
280

281 3.2 Avaliações Fisiológicas

282 A condição de déficit hídrico resultou na redução da condutância estomática (g_s), com
 283 consequentemente declínio na taxa de transpiração (E), fotossíntese líquida (A) e teor relativo
 284 de água na folha (TRA) (fig. 3A, B, C e D). A temperatura foliar e a razão de concentração
 285 interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) foi aumentada em plantas sob déficit hídrico no 10° e 15°
 286 dia de suspensão hídrica (fig 3E e F). A eficiência do uso intrínseco da água (A/g_s) aumentou
 287 em plantas estressadas no 10° dia de suspensão hídrica, reduzindo, posteriormente, até o 15°
 288 dia (fig 3G). Apesar do estresse hídrico imposto durante 15 dias ter proporcionado a murcha

289 das folhas (Fig. 2C), foi observado a recuperação da turgescência em algumas horas (\approx 12
 290 horas) após a reidratação. No geral, durante o período de reidratação os parâmetros avaliados
 291 retornaram ao nível do controle.

292



293
 294

295 **Fig. 3.** A - Condutância estomática (g_s); B - Transpiração (E); C - Fotossíntese líquida (A); D - Teor relativo de
 296 água na folha (TRA); E - Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) foliar; F - Razão da concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a);
 297 G - Eficiência do uso intrínseco da água (A/g_s) em plantas de *Lippia grata* Schauer submetidas a dois regimes

298 hídricos: com rega (controle) e suspensão total da irrigação (estresse). Os valores representam a média de três
 299 repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados segundo o
 300 teste t.

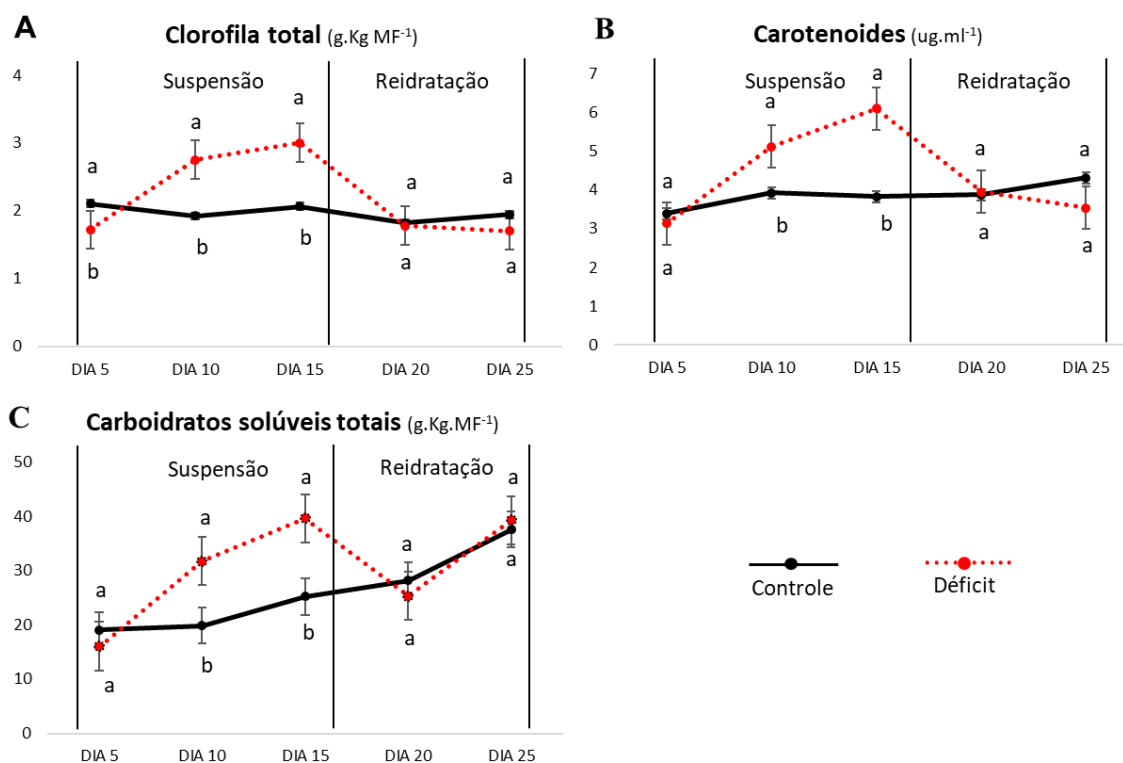
301

302 3.3 Avaliações Bioquímicas

303 3.3.1 Teores de pigmentos e carboidratos solúveis totais

304 O teor dos pigmentos: clorofilas totais e carotenoides, foi maior em plantas
 305 submetidas ao déficit hídrico no 10º (\approx 43,2% e 30,5%, respectivamente) e 15º dia (\approx 44,32%
 306 e 59,6%, respectivamente) e, posteriormente, foi reduzida ao nível de plantas controle na
 307 reidratação (fig. 4 A e B). Resultados semelhantes foram observados para o teor de
 308 carboidratos solúveis totais, com aumento de aproximadamente 59,9% no 10º dia e 57,07%
 309 no 15º (fig. 4 C).

310



312 **Fig. 4.** A - Teores de carboidratos solúveis totais; B - Clorofila total; C - Carotenoides em plantas de *Lippia*
 313 *grata* Schauer submetidas a dois regimes hídricos: com rega (controle) e suspensão total da irrigação (estresse).
 314 Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam diferenças entre os tratamentos hídricos
 315 nos diferentes tempos avaliados segundo o teste t.

316

317

318 3.3.2 Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e determinação de peroxidação
319 lipídica (MDA)

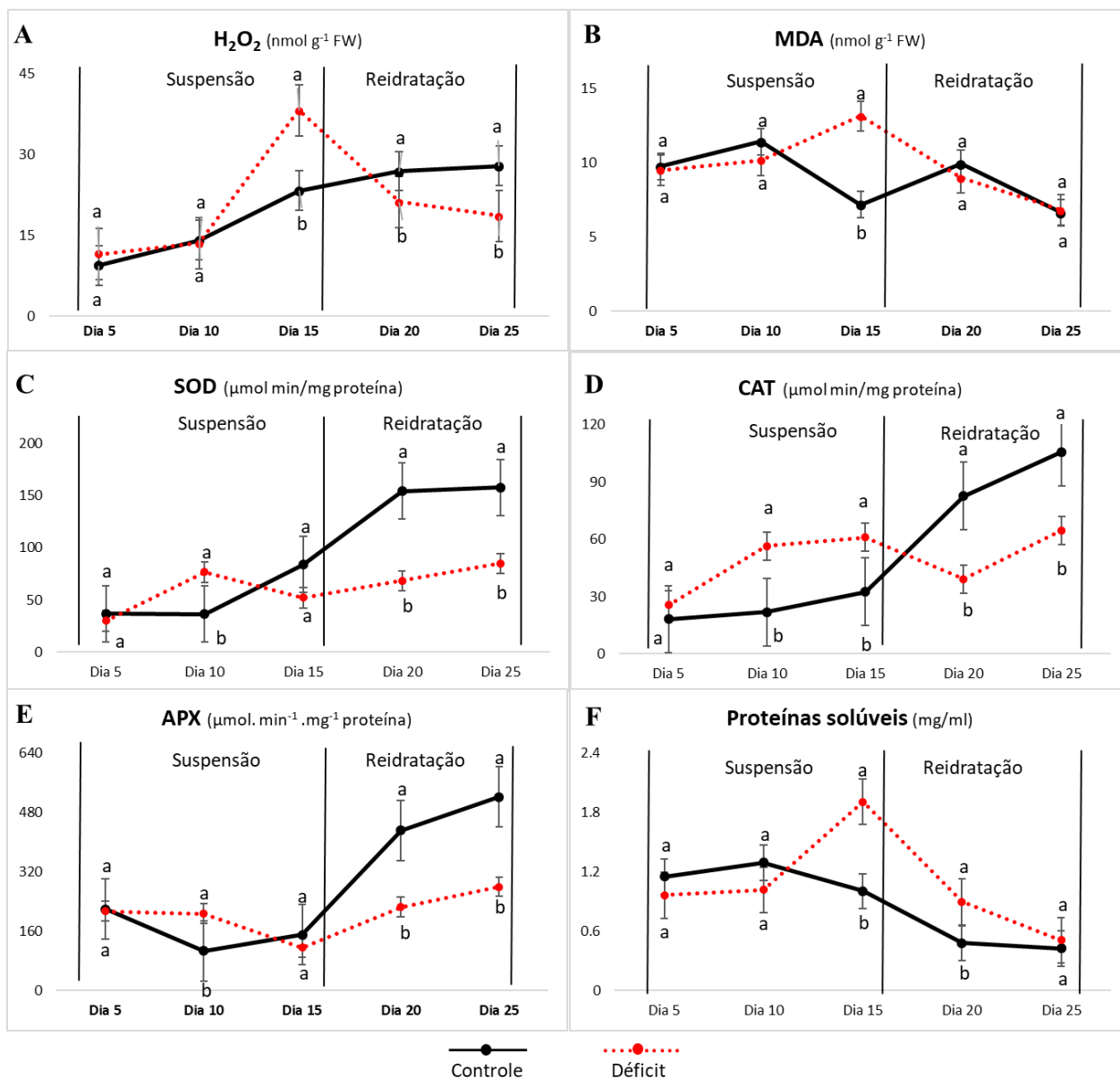
320 A produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MDA) foram
321 acentuadas em plantas submetidas ao déficit hídrico aos 15 dias de suspensão de rega, com
322 aumento de aproximadamente 64,2% e 83,1%, respectivamente (fig. 5 A e B), enquanto que
323 as plantas irrigadas apresentaram um crescimento linear gradativo de H_2O_2 a partir do 10º dia
324 do experimento. Os teores de H_2O_2 e MDA foram atenuados no período de reidratação em
325 plantas submetidas ao déficit hídrico (fig. 5A e 5B).

326 3.3.3 Análise de enzimas antioxidativas

327 O sistema enzimático antioxidante, representado pela atividade da superóxido
328 dismutase (SOD), da ascorbato peroxidase (APX) e da catalase (CAT), apresentou diferenças
329 significativas nas respostas em função do tempo de exposição ao déficit hídrico (fig. C, D e
330 E). Nas plantas analisadas no 10º dia de estresse, foram observados incrementos
331 significativos na atividade da SOD (\simeq 110%). Para a catalase (CAT) esse incremento no
332 combate às ROS foi observado no 10º e 15º dia de suspensão hídrica (\simeq 156,9% e 87,3%,
333 respectivamente). Já a atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi aumentada no 10º do
334 déficit hídrico (\simeq 92,8%). Em contrapartida, as plantas controle apresentaram o aumento da
335 atividade do sistema antioxidativo enzimático no 20º e 25º dia do experimento (fig. 5C, 5D e
336 5E).

337 O teor de proteínas solúveis foi aumentado em plantas submetidas ao déficit hídrico
338 no máximo período de restrição hídrica (\simeq 118%), posteriormente atenuado no período de
339 reidratação, enquanto que plantas controle tiveram uma redução gradativa de proteínas a
340 partir do 10º dia (fig. 5F).

341



342

343 **Fig. 5.** A - Teores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2); B - Malonaldeído (MDA); C - Atividade das enzimas
 344 superóxido dismutase (SOD); D - Catalase (CAT); E - Ascorbato peroxidase (APX); F - Teor de proteínas
 345 solúveis em plantas de *Lippia grata* Schauer submetidas a dois regimes hídricos: com rega (controle) e
 346 suspensão total da irrigação (estresse). Os valores representam a média de três repetições. As letras indicam
 347 diferenças entre os tratamentos hídricos nos diferentes tempos avaliados segundo teste t.

348

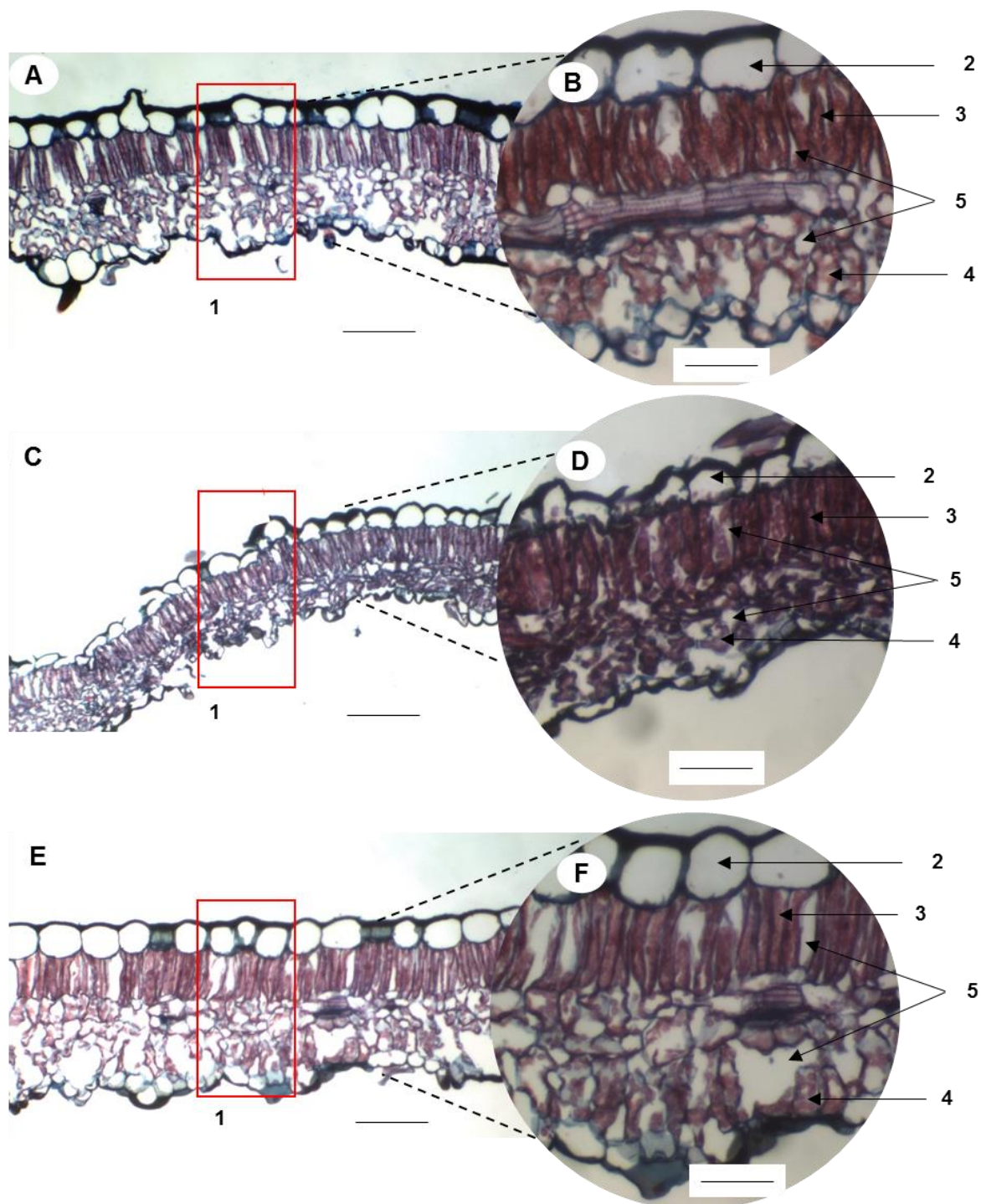
349 3.4 Avaliações anatômicas

350 As folhas em condições de déficit hídrico apresentaram células epidérmicas menores
 351 (fig. 6 D2), redução da espessura do mesofilo (fig. 6 C1) e menores espaços entre as células
 352 parenquimáticas do mesofilo (fig. 6 D5) em comparação com folhas hidratadas (fig. B2, A1 e
 353 B5, respectivamente). Não foram observadas diferenças morfológicas nas células do mesofilo
 354 das folhas avaliadas, sendo ambas do tipo dorsiventral, apresentando células do parênquima
 355 paliçádico na região superior e do lacunoso na região inferior (fig. 6 B3/4 e D3/4).

356 Plantas submetidas ao estresse hídrico apresentaram maior investimento na
357 quantidade dos feixes vasculares centrais e acessórios (fig. 7 C2 e C3, respectivamente),
358 sendo observada uma maior lignificação do tecido xilemático, em comparação com folhas
359 hidratadas (fig. 7 A2 e A3, respectivamente). As células do parênquima cortical de folhas
360 hidratadas apresentaram morfologia arredondada e maiores espaços extracelulares (fig. 7 A1
361 e B4, respectivamente) em comparação com folhas de plantas submetidas ao regime hídrico,
362 as quais apresentaram células parenquimáticas adensadas, com morfologia alterada (fig. 7 C1
363 e D4). Observou-se ainda que a epiderme da face abaxial da nervura central das folhas
364 estressadas apresentou aspecto sinuoso (fig. 7 C5).

365 Após 10 dias da reidratação, as células do mesofilo e da nervura central das plantas
366 submetidas ao estresse, recuperaram suas características anatômicas, assemelhando-se às
367 plantas sempre hidratadas (fig. 6 E/F e 7E/F).

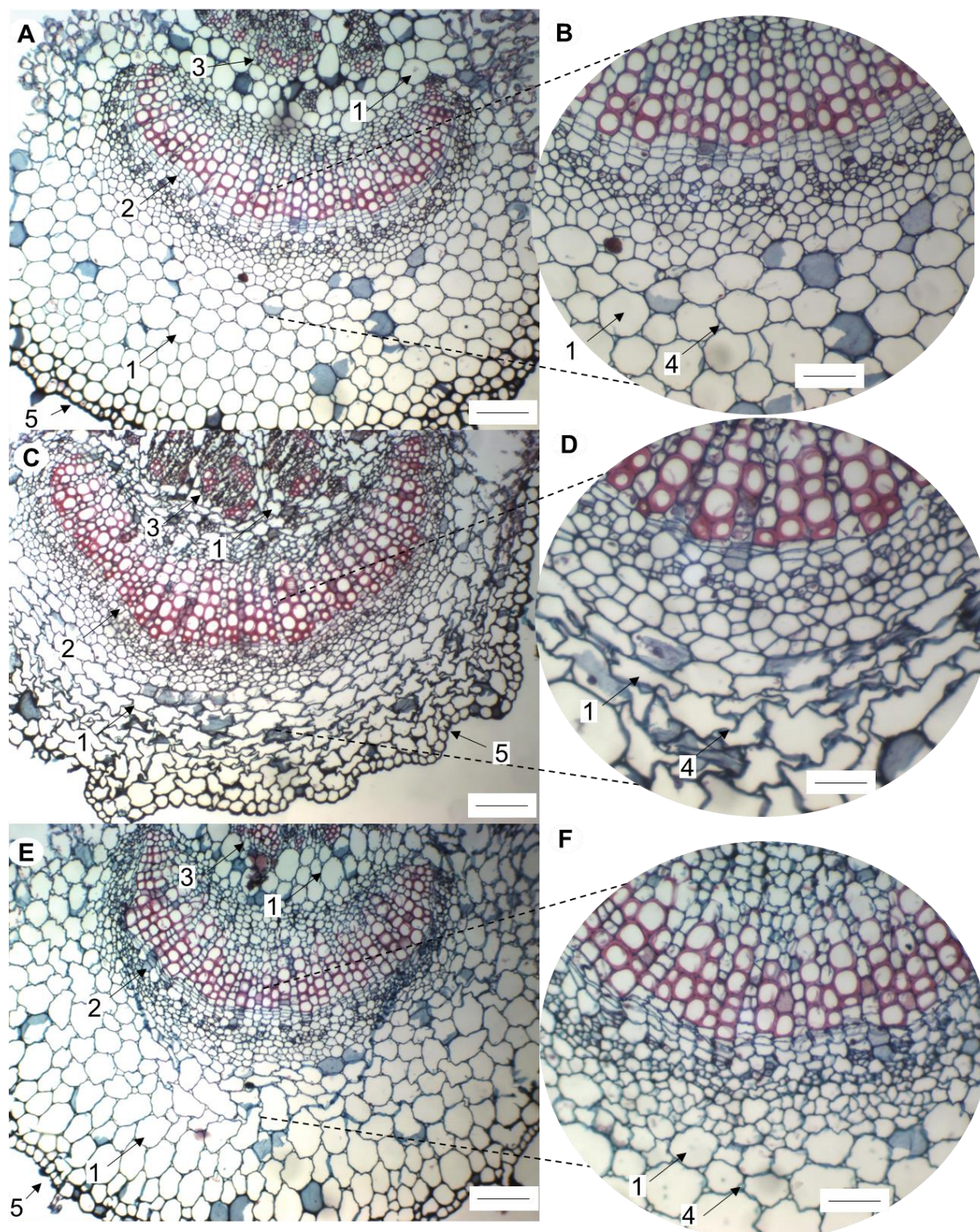
368



369

370 **Fig. 6.** Cortes transversais do mesofilo de folhas de plantas de *Lippia grata* Schauer submetidas a dois regimes
 371 hídricos: (A e B) plantas sempre hidratadas; (C e D) Plantas submetidas ao déficit hídrico aos 15 dias de
 372 suspensão de rega; (E e F) plantas submetidas ao déficit hídrico após 10 dias de reidratação. Caracteres
 373 anatômicos: (1) espessura do mesofilo; (2) células epidérmicas na face adaxial; (3) parênquima paliçádico; (4)
 374 parênquima lacunoso; (5) espaços extracelulares. Barra: 50μm (A, C e E) e 20 μm (B, D e F).

375



376
377

378 **Fig. 7.** Cortes transversais da nervura central de folhas de plantas de *Lippia grata* Schauer submetidas a dois
379 regimes hídricos: (A e B) plantas sempre hidratadas; (C e D) Plantas submetidas ao déficit hídrico aos 15 dias de
380 suspensão de rega; (E e F) plantas submetidas ao déficit hídrico após 10 dias de reidratação. Caracteres
381 anatômicos: (1) células parenquimáticas; (2) feixe vascular central; (3) feixes vasculares acessórios; (4) espaços
382 extracelulares; (5) epiderme adaxial. Barra: 50 µm (A, C e E) e 20 µm (B, D e F).

383

4. Discussão

384
385 A escassez hídrica é um dos fatores de maior impacto que limita o crescimento e
386 desenvolvimento de diversas espécies de plantas, acarretando de imediato a perda da
387 turgescência celular (Dominghetti et al., 2016; Cerqueira et al., 2015; Afzal et al., 2014).
388 Nessas condições, as plantas tenderam a direcionar seus recursos para mecanismos voltados à
389 sua sobrevivência, como o maior desenvolvimento das raízes e a redução da área foliar,
390 importantes estratégias para aumentar a área de absorção de água no solo e reduzir a perda de
391 água por transpiração, respectivamente, retardando o processo de desidratação celular (Silva-
392 Pinheiro et al., 2016; Aranda et al., 2015; Ajithkumar & Panneerselvam, 2014). A redução da
393 área foliar, pode ainda ter influenciado a fotossíntese, limitando a produção de biomassa,
394 devido à queda na fixação de CO₂ e na interceptação da luz, respectivamente (Silveira et al.,
395 2016).

396 A ausência de danos causados pelo estresse hídrico no sistema radicular de plantas
397 submetidas ao estresse, associado ao baixo potencial hídrico foliar ocasionado pela produção
398 e acúmulo de osmorreguladores, como carboidratos solúveis (fig. 4C), podem ter
399 influenciado na rápida recuperação da turgescência na *Lippia grata*. A recuperação da
400 turgescência proporciona o restabelecimento dos processos fisiológicos, que por sua vez
401 influenciam positivamente na recuperação do crescimento, como observado na TCR da parte
402 aérea das plantas submetidas ao déficit hídrico no período de reidratação, ao 25º dia (tabela
403 1). Moléculas osmorreguladoras são responsáveis pela dinâmica da abertura e fechamento
404 dos estômatos, devido à redução do potencial hídrico celular (Anjum et al., 2017). Dentre
405 essas moléculas destacam-se os íons inorgânicos, potássio (K⁺) e cloreto (Cl⁻), além de
406 moléculas orgânicas como carboidratos, sendo a sacarose a mais abundante (Santelia e
407 Lawson, 2016).

408 Nas plantas, o açúcar é utilizado no metabolismo relacionado ao crescimento,
409 significando fornecimento de energia mediante o processo de oxidação biológica, bem como
410 esqueleto carbônico. Em condições de estresse hídrico, a elevação do teor de carboidratos
411 pode refletir um acúmulo de osmorreguladores para minimizar os efeitos de estresse,
412 promovendo a redução do potencial hídrico celular, retardando a desidratação celular e
413 atenuando os efeitos nocivos do estresse hídrico (Roxana et al., 2014). Esses compostos
414 podem ter sido acumulados devido ao aumento na sua biossíntese ou pela degradação de
415 moléculas maiores, como amido (Santelia e Lawson, 2016). Resultados semelhantes quanto

416 ao aumento no teor de carboidratos foi observado por Dianat et al. (2016) em *Lippia*
417 *citriodora* em condição de estresse hídrico.

418 A redução das trocas gasosas é bem documentada quando se trata de déficit hídrico
419 (Silva et al., 2017; Yi et al., 2016; Cerqueira et al., 2015; Gorai et al., 2015; Tatagiba et al.,
420 2015; Anjum et al., 2011; Wang et al., 2010). O déficit hídrico no solo induz o aumento na
421 síntese do ácido abscísico (ABA) ocasionando o fechamento estomático, que resulta na
422 redução da taxa transpiratória, reduzindo assim, a perda de água. Por outro lado, o
423 fechamento estomático limita o fluxo de entrada de CO₂ no mesofilo, o que influencia
424 negativamente a fotossíntese (Silveira et al., 2016; Savchenko et al., 2014). O aumento da
425 concentração interna de CO₂ em plantas em condições de déficit hídrico (fig. 3 F) pode ter
426 ocorrido devido às alterações morfológicas nas células do mesofilo, como observado na
427 redução dos espaços intercelulares nas células do parênquima paliçádico e lacunoso (fig. 6
428 D), que reduzem a circulação e o uso desse gás na fotossíntese. Além disso, o aumento da
429 atividade fotorrespiratória e da respiração celular também podem contribuir para esse
430 resultado. A redução da transpiração pode acarretar a diminuição do resfriamento foliar e no
431 aumento da temperatura foliar (Pinto et al., 2014), esse último atrelado ao aumento de *Ci/Ca*,
432 incremento nos teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e aumento da atividade da catalase
433 em plantas submetidas ao déficit hídrico (fig. 5A e D, respectivamente) pode indicar a
434 atividade fotorrespiratória (Eisenhut et al., 2017; Voss et al., 2013).

435 Por muito tempo a fotorrespiração foi considerada um processo deletério no
436 metabolismo vegetal, porém vários estudos veem demonstrando sua importância na
437 dissipação do excesso de energia em plantas submetidas ao déficit hídrico (Lima Neto et al.,
438 2017; Eisenhut et al., 2017; Zhang et al., 2016). Esse processo promove a utilização de
439 equivalentes redutores e, conseqüentemente, liberação de moléculas oxidadas, atenuando,
440 assim, a produção excedente de ROS (Eisenhut et al., 2017; Voss et al., 2013). Outro
441 mecanismo fotoprotetor é a ação de moléculas antioxidativas de ordem não enzimática, como
442 os carotenoides, que além de desempenharem funções importantes no processo fotossintético,
443 atuam também no controle da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Barbosa et
444 al., 2014). Esses pigmentos dissipam o excesso energia luminosa em forma de calor, evitando
445 a formação de moléculas instáveis, como o oxigênio singlete (¹O₂), atenuando os danos
446 deletérios nos cloroplastos (Tian et al., 2016; Das and Roychoudhury, 2014). Além disso, a
447 síntese do ácido abscísico (ABA) tem como precursor um carotenoide intermediário, sendo
448 em condições de seca severa, esses pigmentos podem ser convertidos nesse fitoregulador (Du

449 et al., 2013), que desencadeará o processo de abscisão das folhas, que constitui uma
450 importante estratégia de plantas características de ambientes áridos e semiáridos (Sabino et
451 al., 2016).

452 O aumento na produção e acúmulo de carotenoides, aliado aos indícios da ativação da
453 fotorrespiração, podem ter auxiliado na conservação estrutural e funcional dos fotossistemas,
454 proporcionando uma recuperação rápida das taxas fotossintéticas (Yi et al., 2016),
455 evidenciando ausência de danos no aparato fotoquímico da *Lippia grata*. Após a reidratação,
456 a rápida recuperação das taxas fotossintéticas de *Ephedra alata* sub sp. Alenda (espécie
457 xerófito) foi considerada uma importante estratégia de sobrevivência em ambientes áridos
458 (Gorai et al., 2015).

459 A eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) observada em plantas em condições de
460 déficit hídrico no 10º dia de suspensão de rega demonstra a eficiência fotossintética dessas
461 plantas em condições de reduzida condutância estomática causada pelo déficit hídrico
462 imposto. Esse resultado também pode estar relacionado com o aumento do teor de clorofilas
463 totais e carotenoides apresentado por essas plantas, pois a capacidade de aumentar a síntese
464 desses pigmentos influencia positivamente na manutenção da atividade fotossintética, sendo
465 considerada uma variável importante na determinação de genótipos tolerantes em condições
466 de estresse moderado (Lakra et al., 2015; Shahbazi, 2015; Sankar et al., 2013).

467 A atividade coordenada das enzimas SOD, CAT e APX em plantas sob condições de
468 restrição hídrica no 10º dia, assegurou a eliminação efetiva de moléculas oxidativas evitando
469 a indução de alterações oxidativas em diversas moléculas biológicas (Shi et al, 2015). A SOD
470 atua na dismutação do radical superóxido ($\cdot O_2^-$) gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que,
471 por sua vez, serve de substrato para as enzimas CAT e APX (Barbosa et al., 2014). Essa
472 sincronia enzimática é comprovada através dos níveis controlados de H_2O_2 e MDA (figura
473 5A e B). O incremento no teor do malondialdeído (MDA), produto da peroxidação de ácidos
474 graxos polinsaturados de biomembranas, é um importante biomarcador de estresse oxidativo
475 (Anjum et al., 2011).

476 O acúmulo consistente no teor de MDA, foi detectado em tecidos de plantas sob
477 déficit hídrico no máximo período de restrição hídrica (15º dia) e foi acompanhado de
478 elevações significativas de H_2O_2 . No entanto, houve ausência de incremento da atividade da
479 SOD nesse período, o que sugere que o aumento no teor de H_2O_2 não é proveniente da
480 atividade dessa enzima, podendo ser produto de outros processos metabólicos, como a

481 fotorrespiração, beta-oxidação dos ácidos graxos e ação de enzimas peroxidases presentes na
482 parede celular (Barbosa et al., 2014). Esse quadro também sugere a formação de outras
483 moléculas oxidantes responsáveis pela peroxidação lipídica, como o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$),
484 logo, apesar do H_2O_2 não participar diretamente da peroxidação lipídica, sua reação com íons
485 ferrosos (Fe^{2+}) acarretam na formação do $\cdot\text{OH}$, responsável, juntamente com o oxigênio
486 singleto ($^1\text{O}_2$), pela degradação dos lipídeos de membrana (Sewelam et al, 2016; Gil e Tuteja,
487 2010). Os Fe^{2+} são produtos da redução do Fe^{3+} pelo $\cdot\text{O}_2^-$, sendo, portanto, a atuação da SOD
488 um importante mecanismo que previne a formação de $\cdot\text{OH}$ (Gil e Tuteja, 2010).

489 Apesar desse quadro observado no período de máximo estresse, não houve danos
490 irreversíveis a nível celular, pois no período da reidratação ocorreu uma rápida recuperação
491 da turgescência e dos demais parâmetros avaliados, demonstrando a eficiência das plantas na
492 prevenção de danos maiores nas estruturas celulares. O elevado teor de proteínas observado
493 em plantas submetidas à condição de déficit hídrico no máximo período de restrição hídrica
494 sugere a capacidade dessas plantas de reprogramação e biossíntese de proteínas responsáveis
495 pela regulação mais efetiva nos mecanismos sensores que desencadeiam organização e
496 sincronia da maquinaria metabólica, garantindo assim um eficiente desempenho frente à
497 adversidade imposta pelo estresse hídrico.

498 Quanto às avaliações anatômicas, as modificações morfológicas observadas nas
499 células epidérmicas e do parênquima cortical de folhas estressadas, bem como a redução da
500 espessura do mesofilo e dos espaços intercelulares (fig. 6 e 7) estão relacionadas com a
501 redução do conteúdo hídrico celular. A perda de água nas células ocasiona o encolhimento do
502 protoplasto e o afrouxamento das paredes celulares, proporcionando a modificação da
503 morfologia celular. O processo descrito também é aplicável para o crescimento foliar que
504 também é afetado pela redução da disponibilidade hídrica, conforme observado em plantas
505 submetidas ao estresse no presente estudo (tabela 2).

506 As características acima descritas são similares àquelas observadas em espécies
507 ocorrentes em regiões áridas e semiáridas, que apresentam caracteres morfológicos, também
508 denominado xeromórficos, baseado em dois tipos de estratégias frente ao déficit hídrico: a
509 primeira está relacionada com estruturas que proporcionam a redução das taxas de
510 transpiração e fotossíntese, enquanto que a segunda estratégia visa aprimorar esses dois
511 processos (Fahn and Cutler, 1992). Dentro desse contexto, a redução dos espaços entre as
512 células parenquimáticas do mesofilo (fig. 6 D) pode ser considerada uma alternativa para

513 reduzir a transpiração e garantir uma maior eficiência do uso da água (Silva et al., 2017;
514 Chartzoulakis et al., 2002).

515 Outro caracter xeromórfico que está relacionado com a maior sobrevivência de
516 espécies vegetais em ambientes secos é o maior investimento na quantidade dos feixes
517 vasculares (Aou-ouad et al., 2017; Torres-Ruiz et al., 2017). Esse resultado, observado em
518 plantas estressadas no presente estudo (fig. 7 C), pode estar relacionado com o aumento na
519 eficiência da condução de água, além da redução da ocorrência de cavitação e formação de
520 embolia (Silva et al., 2017; Pinto et al., 2012; Ewers et al., 2007). Resultado semelhante foi
521 observado por Silva et al. (2017) em *Styrax ferrugineus*, onde os autores atribuíram a maior
522 ocorrência de vasos com a sobrevivência dessa espécie em períodos de seca.

523 A ausência de células de suporte nas folhas como esclereides ou fibras, pode
524 ocasionar o colapso dos tecidos foliares em decorrência da desidratação das células. Esse
525 processo pode ser atenuado pela maior lignificação das células do xilema, observada em
526 folhas desidratadas (fig. 7 C). As células do xilema dos feixes vasculares centrais e acessórios
527 (fig. 7C) atuam como colunas estruturais evitando o adensamento das células
528 parenquimáticas e, conseqüentemente, o colapso das células da folha em condições de déficit
529 hídrico.

530 A recuperação de turgescência das células do mesófilo e da nervura central de folhas
531 estressadas no período de reidratação (fig. 6 E/F e 7 E/F), associada a recuperação dos
532 parâmetros fisiológicos e bioquímicos avaliados demonstram a tolerância de *Lippia grata*
533 frente ao déficit hídrico imposto. De forma geral, partes das respostas foram reguladas na
534 seleção de estratégias em que a taxa de fotossíntese, respiração celular e a taxa de
535 crescimento foram ajustadas, concomitante com a síntese de proteínas, ativação de algumas
536 moléculas antioxidativas enzimáticas e não enzimáticas, ajuste osmótico, através do acúmulo
537 de carboidratos solúveis, e eficiência na absorção e translocação da água, evidenciado pelo
538 maior crescimento do sistema radicular e maior número de feixes vasculares.

539 **5. Conclusões**

540 O aumento na produção de raízes, maior quantidade e lignificação dos feixes
541 vasculares e a redução da área foliar, atrelada ao incremento nos teores de moléculas
542 osmorreguladoras, como carboidratos solúveis, demonstram ser importantes estratégias na
543 dinâmica de absorção de água do solo e na manutenção do conteúdo hídrico celular em
544 plantas de *Lippia grata* submetidas ao déficit hídrico moderado.

545 Processos metabólicos relacionados com a dissipação do excesso de energia, como a
546 ação dos carotenoides, aliado a eficiência do sistema antioxidativo enzimático, proporcionam
547 a conservação das estruturas celulares, acarretando na rápida recuperação da turgescência
548 celular no período de reidratação e, posteriormente, recuperação dos processos fisiológicos e
549 de crescimento, sendo essas, importantes estratégias de sobrevivência adotadas por *Lippia*
550 *grata* frente ao déficit hídrico imposto.

551

552 **Agradecimentos**

553 Agradecemos a Universidade Federal Rural de Pernambuco, em particular a equipe do
554 Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) pela ajuda direta e indireta na realização
555 desse trabalho. Agradecemos, também, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico
556 e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de estudos do
557 primeiro autor.

558

559

560

561

562

563

564

565

566

567

568

569

570

571

572 **Referências**

- 573 Afzal, A.; Gulzar, I.; Shahbaz, M.; Ashraf, M., 2014. Water deficit-induced regulation of
574 growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and
575 antioxidative defense mechanism in mungbean [*Vigna radiata* (L.)Wilczek]. J. Appl. Bot.
576 Food Qual. 87, 147 – 156.
- 577 Ajithkumar, I.P., Panneerselvam, R., 2014. ROS scavenging system, osmotic maintenance,
578 pigment and growth status of *Panicum sumatrense* roth. under drought stress. Cell Biochem.
579 Biophys. 68, 587–595.
- 580 Anjum, S. A.; Xiel, X.; Wangl, L.; Saleem, F.; Manl, C.; Leil, W., 2011. Morphological,
581 physiological and biochemical responses of plants to drought stress. Afr. J. Agric. Res. 6,
582 2026-2032. Doi: 10.5897/AJAR10.027
- 583 Aou-ouad, H.E., López, R., Venturas, M., Martorell, S., Medrano, H., Gulías, J., 2017. Low
584 resistance to cavitation and xylem anatomy partly explain the decrease in the endemic
585 *Rhamnus ludovici-salvatoris*. Flora. 229, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.01.005>
- 586 Aranda, I. , Cano, F. J., Gascó, A., Cochard, H., Nardini, A., Mancha, J. A, López, R.;;
587 Sánchez-Gómez, D., 2015. Variation in photosynthetic performance and hydraulic architecture
588 across European beech (*Fagus sylvatica* L.) populations supports the case for local adaptation
589 to water stress. Tree Physiol. 35, 34-46. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu101>
- 590 Azevedo, R.A., Alas, R.M., Smith, R.J., Lea, P.J., 1998. Response of antioxidant enzymes to
591 transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of
592 wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. Physiol. Plant. 280–292.
593 Doi:10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x
- 594 Barbosa, M.R., Silva, M.M.A., Willadino, L., Ulisses, C., Camara, T.R., 2014. Geração e
595 desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. enzimática de espécies
596 reativas de oxigênio em plantas. Ciência Rural. 44, 453-460.
- 597 Bezerra Neto, E., Barreto, L.B., 2011. Análises químicas e bioquímicas em plantas. Editora
598 Universitária da UFRPE, 267p.
- 599 Bitu, V.C.N., Costa, J. G. M, Rodrigues, F. F. G., Colares, A. V., Coutinho, H. D. M., Botelho,
600 M. A., 2015. Effect of Collection Time on Composition of Essential Oil of *Lippia gracilis*

- 601 Schauer (Verbenaceae) Growing in Northeast Brazil. J. Essent. Oil Bear. Pl. Jeop. 647-653.
602 <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935043>
- 603 Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram
604 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-
605 254.
- 606 Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. Microkosmos 61:
607 255.
- 608 Cavatte, P.C., Oliveira, A. A. G., Morais, L. E., Martins, S. C. V., Sanglard, L.M.V.P.,
609 DaMatta, F. M., 2012. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee: a
610 morphophysiological analysis. Physiol. Plant. 144, 111-122. Doi: 10.1111/j.1399-
611 3054.2011.01525.x
- 612 Cerqueira, R.C., Costa, J.M., Chaves, M.M., Rodrigues, J.D., 2015. Fisiologia e metabolismo
613 foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. Agrária
614 – Rev. Bras. Ciênc. Agrá. 10, 211-217.
- 615 Chartzoulakis, K., Patakas, G., Kofidis, G., Bosabalidis, A., Nastou, A. (2002). Water stress
616 affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. Sci.
617 Hortic., 95, pp. 39-50. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00016-X)
- 618 Cruz, E. M. O., Pinto, J. A. O., Fontes, S. S., Arrigoni-Blanck, M. F., Bacci, L., De Jesus, H.
619 C. R., Santos, D. A., Alves, P. B., Blank, A. F., 2014. Water Deficit and Seasonality Study on
620 Essential Oil Constituents of *Lippia gracilis* Schauer Germplasm. Sci. World J. 2014, 1-9.
621 <http://dx.doi.org/10.1155/2014/314626>
- 622 Das, K., Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of
623 antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Front. Environ. Sci. 2,
624 1–13. Doi:10.3389/fenvs.2014.00053
- 625 Dianat, M., Saharkhiz, M. J., Tavassolian, I. 2016. Salicylic acid mitigates drought stress in
626 *Lippia citriodora* L.: Effects on biochemical traits and essential oil yield. Bioc. Agri.
627 Biotechnol. 8, 286-293. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.10.010>

- 628 Dominghetti, A. W., Souza, A. J. J., Silveira, H. R. O., Sant'Ana, J. A. V., Souza, K. R. D.,
629 Guimarães, R. J., Lacerda, J. R., 2016. Tolerância ao déficit hídrico de Cafeeiros produzidos
630 pos estaquia e embriogênese somática. *Coffee Science*. 11, 117 – 126.
- 631 Du, H. , Wu, N., Chang, Y., Li, X., Xiao, J., Xiong, L., 2013. Carotenoid deficiency impairs
632 ABA and IAA biosynthesis and differentially affects drought and cold tolerance in rice. *Plant*
633 *Mol. Biol.* 83, 475–488.
- 634 Eisenhut, M., Bräutigam, A., Timm, S., Florian, A., Tohge, T., Fernie, A. R., Bauwe, H.,
635 Weber, A. P. M., 2017. Photorespiration Is Crucial for Dynamic Response of Photosynthetic
636 Metabolism and Stomatal Movement to Altered CO₂ Availability. *Molecular Plant*. 10, 47–61.
637 Doi:10.1016/j.molp.2016.09.011. 2017.
- 638 Fahn, A.; Cutler, D. A., 1992. *Xerophytes*, 1^o ed. Gebruder Borntraeger, Berlin.
- 639 Ferraz, R.P.C., Bomfim, D. S., Carvalho, N. C., Soares, M. B. P., Silva, T. B., Machado, W. J.
640 Prata, A. P. N., Costa, E. V., Moraes, V. R. S., Nogueira, P. C. L., Bezerr, D. P., 2013.
641 Cytotoxic effect of leaf essential oil *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). *Phytomedicine*.
642 20, 615-621. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.01.015>
- 643 Ghotbi-Ravandi, A. A., Shahbazi, M, Shariati, M., Mulo, P., 2015. Effects of Mild and Severe
644 Drought Stress on Photosynthetic Efficiency in Tolerant and Susceptible Barley (*Hordeum*
645 *vulgare* L.) Genotypes. *J. Agro. Crop Sci.* 200, 403-415. Doi:10.1111/jac.12062. 2015.
- 646 Giannopolitis, C. N.; Ries, S. K. 1977. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants.
647 *Plant Physiol.* 59, 309 - 314.
- 648 Gill, S. S.; Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic
649 stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909 – 930.
650 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- 651 Gomes, S. V. F., Nogueira, P. C. L., Moraes, V. R. S., 2011. Aspectos químicos e biológicos
652 do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eclét. Quim. J.* 36, 64-77.
- 653 Gorai, M.; Laajili, W.; Santiago, L. S.; Neffati, M. Rapid recovery of photosynthesis and water
654 relations following soil drying and re-watering is related to the adaptation of desert shrub
655 *Ephedra alata* subsp. *alenda* (Ephedraceae) to arid environments. *Environ. Exp. Bot.* 109,
656 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.08.011>

- 657 Havir E A, Mchale N A., 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple
658 forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiol.* 84, 450–455. Doi:10.1104/pp.84.2.450
- 659 Heath, R. L.; Packer L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. Kinetics and
660 stoichiometry of fatty acid peroxidation. – *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 189-198.
- 661 Johansen D.A., 1940. *Plant micro technique*. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc.
- 662 Lakra, N., Nutan, K.K., Das, P., Anwar, K., Singla-Pareek, S.L., Pareek, A., 2015. A nuclear-
663 localized histone-gene binding protein from rice (OsHBP1b) functions in salinity and drought.
664 *Plant Physiol.* 176, 36–46. Doi:10.1016/j.jplph.2014.11.005.
- 665 Lima G. P., Souza, T. M., Freire, G. P., Farias, D. F., Cunha, A. P., Ricardo, N. M. P. S.,
666 Morais, S. M., Carvalho, A. F. U., 2013. Further insecticidal activities of essential oils from
667 *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *Parasitol Res.* 112, 1953–1958.
- 668 Lima Neto, M., Cunha, J.R., Federal, U., 2017. Cyclic electron flow, NPQ and
669 photorespiration are crucial for the establishment of young plants of *Ricinus* and *Jatropha*
670 *curcas* exposed to drought. *Plant Biol.* Doi:10.1111/ijlh.12426. 2017.
- 671 Lorenzi, H.; Matos, F.J.A., 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova
672 Odessa: Instituto Plantarum.
- 673 Loreto, F.; Velikova, V. 2001. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic
674 apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of
675 cellular membranes. *Plant Physiol.* 127, 1781-1787.
- 676 Marinho, M.J.M.; Albuquerque, C.C.; Morais, M.B.; Souza, M.C.G.; Silva, K.M.B., 2011.
677 Estabelecimento de protocolo para micropropagação de *Lippia gracilis* Schauer. *Rev. Bras.*
678 *Plant. Med.* 13, 246-252.
- 679 Marreto, R. N.; Almeida, E. E. C. V., Alves, P. B., Niculau, E. S., Nunes, R. S., Matos, C. R.
680 S., Araújo, A. A. S., 2008. Thermal analyses and gás chromatography coupled mass
681 spectrometry analyses of hidroxipropylmetry analyses of hidroxipropyl- β -cyclodextrin
682 inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. *Thermochimica Acta.* 475, 53-58.
683 <https://doi.org/10.1016/j.tca.2008.06.015>
- 684 Melo J. O. 2013. Antidermatophytic and antileishmanial activities of essential oils from *Lippia*
685 *gracilis* Schauer genotypes. *Acta Trop.* 128, 110–115.

- 686 Ministério do Meio Ambiente. Caatinga, 2014. <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>.
- 687 Moraes, V. R. S., Thomasi, S. S., Sprenger, R. F., Prado, V. M. J., Cruz, E. M. O., Cass, Q. B.,
688 Ferreira, A. G., Blank, A. F., 2017. Secondary Metabolites from an Infusion of *Lippia gracilis*
689 Schauer Using the LC-DAD-SPE/NMR Hyphenation Technique. J. Braz. Chem. 28, 1335-
690 1340. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20160299>
- 691 Nakano, Y.; Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific
692 peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22, 867-880.
- 693 Pinto, C.D.M., José, F., Fernandes, A., 2014. Relações hídricas, trocas gasosas em amendoim,
694 gergelim e mamona submetidos a ciclos de deficiência hídrica. Agropecuária Técnica. 35, 31-
695 40.
- 696 Pratt, R. B.; Jacobsen, A. L.; Ewers, F. W.; Davis, S. D., 2007. Relationships among xylem
697 transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rhamnaceae species of the
698 California chaparral. New Phytologist. 174, 787-798. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02061.x
- 699 Roxana, E., Vignolo, F., Vos, D., 2014. Model Elevated CO₂ mitigates drought and
700 temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. Plant Science.
701 doi:10.1016/j.plantsci.2014.11.001. 2014.
- 702 Sabino, F. G. S., Cunha, M. C. L., Santana, G. M., 2016. Estrutura da vegetação em dois
703 fragmentos de caatinga antropizada na Paraíba. Floresta e Ambiente. ISSN 2179 - 8087
704 (online).
- 705 Santelia, D., Lawson, T., 2016. Rethinking Guard Cell Metabolism. Plant physiol. 172, 371-
706 1392. Doi:10.1104/pp.16.00767. 2016.
- 707 Santos, J. P.; Araújo, E. L.; Albuquerque, U. P., 2008. Richness and distribution of useful
708 woody plants in the semi-arid region of northeastern Brazil. J. Arid Environ. 72, 652 - 663.
709 <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2007.08.004>
- 710 Sass J.E., 1951. Botanical microtechnique. 2 ed. Ames, the Iowa State College Press.
- 711 Savchenko, T., Kolla, V.A., Wang C., Hicks, Z. N. D. R., Phadungchob, B., Chehab, W. E.,
712 Brandizzi, F., Froehlich, J., Dehesh, K., 2014. Functional Convergence of Oxylinin and
713 Abscisic Acid Pathways Controls Stomatal Closure in Response to Drought. Plant Physiol.
714 164, 1151-1160. <https://doi.org/10.1104/pp.113.234310>

- 715 Sewelam, N., Kazan, K., Schenk, P. M., 2016. Global Plant Stress Signaling: Reactive Oxygen
716 Species at the Cross-Road. *Front Plant Sci.* 7, 1-21. Doi: 10.3389/fpls.2016.00187
- 717 Silva, C.M.S., Harakava, R., Sonsin-Oliveira, J., Marcati, C. R., Machado, S. R., Ribeiro, R.
718 V., Habermann, G., 2017. Physiological and structural traits of the congeneric species *Styrax*
719 *ferrugineus* and *S. pohlii* occurring in contrasting environments. *Flora.* 235, 51–58.
720 <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.01.014>
- 721 Silva, P. A., Cosme, V. S., Rodrigues, K. C. B., Detmann, K. S. C., Leão, F. M., Cunha, R. L.,
722 Buselli, R. A. F., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., 2017. Drought tolerance in two oil palm
723 hybrids as related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth. *Acta Physiol.*
724 *Plant.* 39-58. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2354-4>
- 725 Silva, V. N., Souto, L. S., Dutra Filho, J. A., Souza, T. M. A.; Borges, C. H. A., 2015.
726 Deposição de serapilheira em uma área de caatinga preservada no semiárido da Paraíba, Brasil.
727 *Revista Verde.* 10, 21 – 25.
- 728 Silva-Pinheiro, J., Lins, L., Souza, F. C., Silva, C. E. M., Moura, F. B. P., Endres, L., Justino,
729 G. C., 2016. Drought-stress tolerance in three semi-arid species used to recover logged áreas.
730 *Braz. J. Bot.* 39, 1031–1038.
- 731 Silveira, P. S., Custódio, J. P. C., Silva, F. C. M., Nascente, A. C. S., Monteiro, C. L., Matos,
732 F. S., 2016. A ação dos brassinosteróides no crescimento de mudas de pinhão manso sob
733 déficit hídrico. *Agri-Environmental Science.* 2, 52-61.
- 734 Shi, K., Li, X., Zhang, H., Zhang, G., Liu, Y., Zhou, Y., Xia, X., Chen, Z., Yu, J., 2015. Guard
735 cell hydrogen peroxide and nitric oxide mediate elevated CO₂ induced stomatal movement in
736 tomato. *New Phytol.*, 208, 342 – 353. Doi: 10.1111/nph.13621
- 737 Souza, A.V.V., Santos, U. S., Correa, R. M., Souza, D. D., Oliveira, F. J. V., 2017. Essential
738 Oil Content and Chemical Composition of *Lippia gracilis* Schauer Cultived in the Sub-meddle
739 São Francisco Valley. *J. Essent. Oil Bear. Pl.* 20, 983-994.
740 <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1377117>
- 741 Tatagiba, S. D., Pezzopane, J. E. M.; Reis, E. F., 2015. Fotossíntese em *Eucalyptus* sob
742 diferentes condições edafoclimáticas. *Eng. Agri.* 23, 336-345.
- 743 Tian, L., Xu, P., Chukhutsina, V. U., Holzwarth, A. R., Croce, R., 2016. Zeaxanthin-
744 dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant

- 745 *Arabidopsis thaliana*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 114, 4828-4832. Doi:
746 10.1073/pnas.1621051114
- 747 Torres-Ruiz, J. M.; Cochard, H.; Fonseca, E.; Badel, E.; Gazarini, L.; Vaz, M., 2017.
748 Differences in functional and xylem anatomical features allow *Cistus* species to co-occur and
749 cope differently with drought in the Mediterranean region. Tree Physiol. 37, 755–766.
750 <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx013>
- 751 Trevisan, M. T. S., Marques, R. A., Silva, M. G. V., Scherer, D., Haubner, R., Ulrich, C. M.,
752 Owen, R. W., 2016. Composition of Essential Oils and Ethanol Extracts of the Leaves of
753 *Lippia* Species: Identification, Quantitation and Antioxidant Capacity. Rec. Nat. Prod. 10, 485-
754 496.
- 755 Vieira, L.S., Sousa, R.S.; Lemos, J.R., 2015. Plantas medicinais conhecidas por especialistas
756 locais de uma comunidade rural maranhense. Rev. Bras. Plant. Med. 17, 1061-1068.
- 757 Voss, I., Sunil, B., Scheibe, R., Raghavendra, A.S., 2013. Emerging concept for the role of
758 photorespiration as an important part of abiotic stress response. Plant Biology. 15, 713–722.
759 Doi:10.1111/j.1438-8677.2012.00710.x.
- 760 Wang, G.P., Hui, Z., Li, F., Zhao, M.R., Zhang, J.; Wang, W., 2010. Improvement of heat and
761 drought photosynthetic tolerance in wheat by overaccumulation of glycinebetaine. Plant
762 Biotechnol. 4, 213–222.
- 763 Yemm, E. W., Willis, A. J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extract by anthrone.
764 Biochem. J. 57, 508-514.
- 765 Yi, X., Zhang, Y., Yao, H., Luo, H., Gou, L., Chow, W. S., Zhang, W., 2016. Rapid recovery
766 of photosynthetic rate following soil water deficit and re-watering in cotton plants (*Gossypium*
767 *herbaceum* L.) is related to the stability of the photosystems. J. Plant Physiol. 194, 23-34.
768 <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.01.016>
- 769 Zhang, C., Zhan, D.X., Luo, H.H., Zhang, Y.L., Zhang, W.F., 2016. Photorespiration and
770 photoinhibition in the bracts of cotton under water stress. Photosynthetica 54, 12–18.
771 Doi:10.1007/s11099-015-0139-9. 2016.