



UFRPE

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**EFEITOS DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H_2O_2) NA MORFOLOGIA
E BIOQUÍMICA DE PLANTAS DE *Lippia grata* SCHAUER
SUBMETIDAS A RESTRIÇÕES HÍDRICAS**

JOSIAS ALEXANDRE DA SILVA FILHO

RECIFE

2022

JOSIAS ALEXANDRE DA SILVA FILHO

**EFEITOS DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H₂O₂) NA MORFOLOGIA E BIOQUÍMICA
DE PLANTAS DE *Lippia grata* SCHAUER SUBMETIDAS A RESTRIÇÕES HÍDRICAS**

Monografia apresentada ao Curso de
Licenciatura em Ciências
Biológicas/UFRPE como requisito
parcial para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Cláudia Ulisses de
Carvalho Silva

RECIFE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S586e Filho, Josias Alexandre da Silva
Efeitos do peróxido de hidrogênio na morfologia e bioquímica de plantas de Lippia Grata Schauer submetidas à restrições hídricas / Josias Alexandre da Silva Filho. - 2022.
35 f.
- Orientadora: Claudia Ulisses de Carvalho Silva.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2022.
1. Verbenaceae. 2. Planta medicinal. 3. Elicitor. 4. Déficit hídrico. I. Silva, Claudia Ulisses de Carvalho, orient. II. Título

JOSIAS ALEXANDRE DA SILVA FILHO

**EFEITOS DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H₂O₂) NA BIOMETRIA E
BIOQUÍMICA DE PLANTAS DE *Lippia grata* SCHAUER SUBMETIDAS A
RESTRIÇÕES HÍDRICAS**

Comissão Avaliadora:

Prof^a Dr^a Cláudia Ulisses de Carvalho Silva
UFRPE
Orientadora

M.a. Larisse Bianca Soares Pereira – UFRPE
Titular

Dr^a Lindomar Maria de Souza – CETENE
Titular

M.a. Francismery Barros da Silva – UFRPE
Suplente

RECIFE
2022

AGRADECIMENTOS

À minha mãe pelo amor, carinho e dedicação e por sempre estar do meu lado em todos os momentos bons ou ruins, por sempre estar me esperando chegar tarde da faculdade, pois não conseguia dormir antes disso. Além de sempre confiar no meu potencial e proporcionar todos os meios para que hoje eu pudesse estar aqui. Não tenho palavras para expressar o quanto sou grato por ter você em minha vida.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco por ser quase uma mãe e ser esse local tão tranquilo de estudar e poder ser você mesmo.

À minha orientadora Cláudia Ulisses que sempre foi muito fofinha comigo me ajudando a enxergar todos os excessos, além de sempre estar do meu lado me guiando a ser uma pessoa e profissional melhor. Se hoje eu consegui escrever essa monografia foi graças a todo conhecimento que adquiri com você e todos do laboratório.

Ao meu amor Thiago Ericles por me amar tanto e sempre estar do meu lado nos momentos mais difíceis da minha vida. Não tenho palavras para expressar o quanto amo você e sou grato por todos os momentos que vivemos.

Ao meu filhote Marlon que toda vez que eu chegava da Universidade ele estava lá me esperando para falar comigo e por sempre me fazer feliz.

À minha amiga Gabi que aguentou todos os meus surtos e sempre esteve do meu torcendo pela minha felicidade e pelo meu sucesso, além de sempre apoiar minhas decisões.

Ao meu amigo Giovanni por todos os momentos felizes que vivemos e por sempre me aconselhar a ser uma pessoa melhor.

Ao Neto que graças à suas aulas perfeitas de fisiologia vegetal eu me apaixonei pela área. Sou muito grato por ele ter me escolhido como filho científico e por ele sempre me motivar e acreditar no meu potencial.

À Linda que sempre foi tão calma e paciente para me ensinar e sempre me mostrando como agir com sabedoria em todos os momentos. Além de proporcionar momentos tão divertidos que nunca esquecerei.

Aos meus amigos do laboratório LAB-PANTA e LFC-PLANTA, Léo, Well, Larisse, Nicole, Layla, Pamela, Natália, Marcus, Fran e Flávia pelo companheirismo e amizade que desenvolvemos em nossa rotina de trabalho.

Aos meus amigos Marcos e Nany que foram muitos mais que amigos durante esse processo de estágio/graduação, sempre me auxiliaram e me deram suporte emocional. Palavra nenhuma no mundo vai descrever o quanto sou grato por ter vocês em minha vida.

À minha amiga Adriane por ser essa pessoa tão maravilhosa, sempre me dar apoio e confiar no meu potencial, além de ser minha dupla durante toda a graduação e aturar todos os meus surtos. Sou grato demais por ser seu amigo.

Ao meu amigo Lucas Emanuel por toda sinceridade dita e pela ajuda em todos os trabalhos durante a graduação.

À minha amiga Maria que me ajudou a ser uma pessoa mais empática e me ensinou a ser mais preocupado com questões de acessibilidade, além de ter muita paciência para me ensinar libras.

À minha amiga Júlia Carvalho que foi uma das minhas primeiras amizades verdadeiras quando entrei na universidade, me ajudando em todos os quesitos da minha vida. Te amo demais!

Ao meu amigo Midon que é o portador do melhor abraço de toda UFRPE e por ser sempre tão gentil comigo.

Ao meu amigo Lucas Moraes por acreditar no meu potencial e por ser tão gentil e fofo em momentos que eu estava precisando.

À toda equipe do NACES que tem me ajudado a ser uma pessoa melhor, em especial a Cibelli que é uma mulher incrível e maravilhosa.

Aos meus amigos do grupo casa do julgamento por todo incentivo recebido e por serem mais que uma inspiração para mim.

As minhas professoras de inglês Amanda e Cecília que durante a pandemia conseguiram deixar minha vida muito mais alegre com suas aulas fantásticas e serem muito mais que professoras, amigas!

Ao meu amigo Victor Moura pelo companheirismo e amizade que desenvolvemos dentro e fora da universidade. Sou muito grato por todos os momentos felizes que vivemos e ainda iremos viver.

À minha professora de biologia da conservação Carol Borges, que dava uma aula simplesmente fantástica e me fez aguentar a volta ao presencial, além de fazer uma prova totalmente didática que nunca irei esquecer.

Ao professor Geraldo por todos os ensinamentos e ser uma pessoa tão fantástica que sempre poderei contar. Nunca irei esquecer a dinâmica da prova de zoologia dos vertebrados.

Ao grupo H₂O meninas sereias, pois sem elas eu não teria começado a estudar na UFRPE, além disso Esther e Ary me ajudaram com toda a questão de autoaceitação para que eu pudesse enxergar orgulho em mim mesmo.

À minha professora de prática de biologia Jacqueline que me fez gostar de uma cadeira de prática no final do curso e acendeu o meu desejo de ser professor, serei eternamente grato por isso.

Dedico esse trabalho a minha família e a todos os meus amigos que contribuíram para que um dia eu pudesse estar aqui, sem eles eu não seria capaz.

“Quando estiver com problemas, ria!!” (Saulo, One Piece)

RESUMO

Lippia grata pertence à família Verbenaceae, é nativa do Brasil encontrada nos domínios fitogeográficos do Cerrado e Caatinga, Mata atlântica e Amazônia. Popularmente é conhecida como alecrim-da-chapada e alecrim-do-mato que é amplamente utilizada como medicinal, devido ao óleo essencial presente em seus tricomas foliares, que possuem bioativos com propriedades antisséptica, antimicrobiana, antifúngica e antibacteriana. Por estar inserida em ambientes de clima semiárido, a água se torna o principal fator limitante para a espécie, e por isso estratégias de mitigação dos efeitos nocivos do déficit hídrico têm sido utilizadas, como por exemplo, a aplicação de moléculas de sinalização (elicitores), como o peróxido de hidrogênio, a fim de auxiliar as plantas em condições de intensificação da seca estresses. Levando em consideração a importância da *L. grata* e seus óleos essenciais, visto que o déficit hídrico pode afetar o seu desenvolvimento, o objetivo do seguinte estudo foi avaliar a influência do peróxido de hidrogênio quanto aos parâmetros biométricos e bioquímicos em *L. grata* submetidas à restrição hídrica. Para isso as folhas das plantas de *L. grata* foram pulverizadas com H₂O₂ nas concentrações 0µM (controle), 0,675µM L⁻¹ e 1,35µM L⁻¹ e em seguida submetidas em três regimes de rega: 25%, 50% e 75% da capacidade de vaso, durante 60 dias. Onde foram mensurados parâmetros biométricos e alguns osmorreguladores. A restrição hídrica aliada a maior concentração de peróxido de hidrogênio (1,35µM L⁻¹) afetou negativamente o crescimento e desenvolvimento das plantas de *L. grata*, sendo expressos nos parâmetros biométricos (comprometimento do crescimento e produção de ramos), massa seca da parte aérea e aumento nos níveis de prolina.

Palavras chaves: Verbenaceae; Planta medicinal; Elicitor; Déficit hídrico.

ABSTRACT

Lippia grata belongs to the Verbenaceae family, is native to Brazil found in the phytogeographic domains of the Cerrado and Caatinga, Atlantic Forest and Amazon. It is popularly known as alecrim-da-chapada and alecrim-do-mato, which is widely used as a medicinal product, due to the essential oil present in its leaf trichomes, which have bioactives with antiseptic, antimicrobial, antifungal and antibacterial properties. Because it is located in semi-arid environments, water becomes the main limiting factor for the species, and therefore strategies to mitigate the harmful effects of water deficit have been used, such as the application of signaling molecules (elicitors), such as hydrogen peroxide, in order to assist plants in conditions of intensified drought stresses. Taking into account the importance of *L. grata* and its essential oils, since water deficit can affect its development, the objective of the following study was to evaluate the influence of hydrogen peroxide on the biometric and biochemical parameters in *L. grata* subjected to restriction water. For this, the leaves of *L. grata* plants were sprayed with H₂O₂ at concentrations of 0 μ M (control), 0.675 μ M L⁻¹ and 1.35 μ M L⁻¹ and then subjected to three irrigation regimes: 25%, 50% and 75% of vessel capacity for 60 days. Where biometric parameters and some osmoregulators were measured. The water restriction allied to the higher concentration of hydrogen peroxide (1.35 μ M L⁻¹) negatively affected the growth and development of *L. grata* plants, being expressed in the biometric parameters (impairment of growth and production of branches), dry mass of shoots and increase in proline levels.

Keywords: Verbenaceae; Medicinal plant; Elicitor; Water deficit.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Avaliações biométricas em plantas de *L. grata* pulverizadas com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 0,675µM e 1,35µM, além do controle (0µM) submetidas a diferentes restrições hídricas (75%, 50% e 25% da capacidade de vaso) aos 60 dias de cultivo. 22

Tabela 2- Massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca radicular (MFR), massa seca radicular (MSR) e comprimento da maior raiz (CMR) em plantas de *L. grata* pulverizadas com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (0µM, 0,675µM e 1,35µM) submetidas a diferentes regimes hídricos (75%, 50% e 25%) da capacidade de vaso aos 60 dias de cultivo. 23

Tabela 3- Teores de osmorreguladores: carboidratos, proteínas solúveis solúveis totais prolina livre em plantas de *L. grata* pulverizadas com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (0µM, 0,675µM e 1,35µM) e submetidas a diferentes regimes hídricos (75%, 50%, 25% da capacidade de vaso) aos 60 dias de cultivo. 24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1	Espécie estudada	15
2.2	Efeito do déficit hídrico nas plantas	16
2.3	Peróxido de hidrogênio como elicitor em plantas	18
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
	Delineamento e montagem do experimento.....	21
	Capacidade de vaso e condições do solo	22
	Análises biométricas.....	22
	Análises bioquímicas	23
	Carboidratos solúveis totais	23
	Prolina livre.....	23
	Proteínas solúveis totais.....	24
	Análises estatísticas.....	24
4	RESULTADOS.....	25
5	DISCUSSÃO	27
6	CONCLUSÃO.....	29
7	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO GERAL

A *Lippia grata* Schauer é uma planta que no Brasil é geralmente encontrada nos biomas Caatinga, Mata atlântica e Amazonia e Cerrado, sendo sua distribuição nos estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Ceará, Maranhão, Paraíba, Sergipe, Piauí, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins e Pernambuco. (FLORA DO BRASIL)

É popularmente conhecida como alecrim-do-mato, da chapada, de tabuleiro ou de vaqueiro, sendo muito utilizada como planta medicinal por comunidades para o tratamento de infecções cutâneas, feridas, gripe, tosse, sinusite, bronquite, congestão nasal e dores de cabeça, devido a presença do óleo essencial que é rico em timol e carvacrol, que são compostos (bioativos que conferem a atividade antisséptica e antibacteriana) (SANTOS *et al.* 2016; SOUZA, *et al.* 2018).

A água é um fator limitante para a maioria das plantas, pois em condições de déficit hídrico, as funções essenciais para sua sobrevivência são afetadas negativamente, como a fotossíntese, regulação térmica, transporte e absorção de nutrientes. Além disso, a redução da disponibilidade hídrica provoca perda da turgidez celular, reduzindo o processo de divisão e expansão celular, restrição na absorção de CO₂, diminuição na taxa fotossintética, produção e acúmulo de substâncias osmorreguladoras (PATRIOTA, 2019). Sendo assim, como resposta ao déficit hídrico, as plantas podem apresentar alterações fisiológicas e bioquímicas e os efeitos serão dependentes da espécie da planta, do grau de intensidade e o tempo de duração da seca (CAMPOS, *et al.* 2021).

Para mitigar os efeitos nocivos do déficit hídrico, visto que é uma ameaça à cultura de plantas em todo mundo, estratégias como a aplicação exógena de moléculas sinalizadoras como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), como elicitores, têm sido utilizadas (REFERÊNCIA de autores que utilizaram elicitores com essa finalidade). Segundo Smith (1996), elicitores são moléculas que podem ser bióticas ou abióticas e são capazes de estimular respostas de defesa nas plantas.

Um dos exemplos de moléculas utilizadas como elicitores é o peróxido de hidrogênio, é uma espécie reativa de oxigênio de pequeno porte e de longa duração, podendo se difundir com facilidade das membranas para os compartimentos celulares, servindo como molécula de sinalização do estresse. Além disso, facilita diversas funções no metabolismo vegetal, como a fotossíntese, atividade estomática, sistema

antioxidante e aclimação por estresse, por isso vem sendo utilizado como elicitador (Iqbal, et al. 2018).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio nas respostas biométricas e bioquímicas em plantas de *Lippia grata* submetidas a diferentes condições de disponibilidade hídrica.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Espécie estudada

A família Verbenaceae J.St.-Hil apresenta cerca de 1.200 espécies e 34 gêneros, possui concentração na região neotropical (América Central, incluindo a parte sul do México e da península da Baixa Califórnia, o sul da Flórida, todas as ilhas do Caribe e a América do Sul), apresenta poucos representantes na África, Oceania e Europa. O Brasil é um importante centro de diversidade para a família, apresentando 15 gêneros e cerca de 290 espécies, sendo 180 endêmicas. (CARDOSO; O'LEARY; SALIMENA, 2018).

A família possui hábitos diversos, como arbóreo e herbáceo, porém é mais comum que as espécies sejam arbustivas e raramente lianas. O maior gênero dentro da família é *Lippia* L., exibindo aproximadamente 200 espécies e no Brasil já foram identificadas aproximadamente 120 espécies no bioma Cerrado e Caatinga, onde são mais encontradas (SALIMENA *et al.* 2020).

A *Lippia grata* é popularmente conhecida como alecrim-do-mato, da chapada, de tabuleiro ou de vaqueiro. A *L. grata* apresenta distribuição nos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Sergipe, Piauí, Rio Grande do Norte e Pernambuco. Apresenta porte arbustivo e pode alcançar até 2 metros de altura, apresenta caule quebradiço e ramificado desde a base, folhas simples com borda serrilhada e flores brancas, tubulares, dispostas em inflorescência do tipo espiga, sua polinização é geralmente realizada por abelhas e borboletas. Suas folhas são aromáticas devido a presença de tricomas glandulares e seus frutos possuem sementes com baixo índice de germinação (DE SOUZA *et al.* 2018).

Economicamente a espécie apresenta potencial ornamental, sendo muito utilizada em maciços como cercas vivas ou podem ser cultivadas em vasos, devido a

beleza dos arbustos quando estão na época de floração, além do cheiro característico de suas folhas. (CARDOSO; O'LEARY; SALIMENA, 2018).

As folhas da *L.grata* exibem óleos essenciais devido a seus tricomas, por conta disso são muito utilizadas como planta medicinal, principalmente para o tratamento de doenças como a gripe e lavagem de ferimentos, devido ao efeito cicatrizante, antimicrobiano e antisséptico. (SOUZA *et al.* 2018)

Os principais compostos do óleo essencial dessa planta é o timol e o carvacrol (responsáveis pela atividade antibacteriana), eles podem ser utilizados como fungicida e bactericida contra diversos microrganismos de importância humana e animal como *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Candida albicans*, *Bacillus cereus* e *Escherichia* spp., além disso, é possível também fazer a aplicação contra pragas na agricultura que causam doenças em plantas, como *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. musae* e *C. fruticola*. (SOUZA, 2021).

Entretanto, embora os principais compostos do óleo essencial da *L. grata* seja o timol e o carvacrol, esses não os únicos encontrados, além desses são encontrados eranial, linalol, p-cimeno, carvona, neral, limoneno, β -cariofileno, óxido de cariofileno, mirceno e γ -terpineno (SOUZA *et al.* 2018). A presença desses metabólitos nos óleos essenciais de *L. grata* faz com que ela seja uma importante espécie para a produção e comercialização de óleos essenciais, sendo uma alternativa de renda para comunidades locais do semiárido nordestino (SIQUEIRA-LIMA *et al.* 2019).

Muitos recursos naturais têm sido utilizados de forma indiscriminada pelas indústrias e populações, devido ao seu potencial medicinal, porém acomete consequências negativas para a conservação da espécie, ameaçando sua sobrevivência em seu habitat natural, uma vez que os efeitos das ações antropogênicas na *Lippia* aumentaram consideravelmente nos últimos tempos, tornando muito alto o risco de extinção para algumas espécies endêmicas (ZÁRATE-SALAZAR *et al.* 2020).

2.2 Efeito do déficit hídrico nas plantas

A água é um importante recurso para as plantas se desenvolverem, pois está envolvida na maioria dos processos fisiológicos, entre eles o processo fotoquímico da fotossíntese, no transporte e absorção de nutrientes, manutenção do turgor e regulação da temperatura. Além disso, a água compreende cerca de 90-95% da biomassa vegetal verde, sendo um importante recurso que constitui a planta,

mantendo assim o funcionamento dos tecidos e células. A água também é um fator limitante de desenvolvimento, pois sem ela as plantas não conseguem completar seus processos fisiológicos para se manter no ambiente (CAMPOS *et al.* 2021).

O estresse em plantas no geral é definido como qualquer condição ambiental desfavorável para o desenvolvimento do organismo (Levitt, 1980). O estresse pode ser causado por fatores abióticos como escassez hídrica, excesso de sais no solo e/ou na água (salinidade), temperaturas extremas e bióticos como pragas e doenças causadas por micro-organismos (LEVITT, 1980)

Dentre os estresses abióticos, a déficit hídrico é o estresse mais comum entre plantas de áreas secas como a Caatinga, que ocorre quando a disponibilidade de água não é suficiente para a expressão do seu potencial fisiológico (BIANCHI *et al.* 2016). Com a exposição prolongada a esse estresse as plantas apresentam dificuldades para a absorção de água, porque a disponibilidade hídrica do solo diminui (BIANCHI *et al.* 2016).

São diversos os efeitos ocasionados pelo déficit hídrico em plantas, como mudanças morfofisiológicas e bioquímicas, sendo os efeitos dependente do grau de intensidade do estresse, do tempo de duração e a espécie da planta (CAMPOS *et al.* 2021).

. Além disso, o déficit hídrico pode afetar todos os estádios de desenvolvimento da planta, desde a germinação até as plantas completamente desenvolvidas (Campos *et al.* 2021).

As primeiras respostas visíveis em plantas submetidas ao déficit hídrico é a limitação do crescimento, visto que com o conteúdo de água reduzido, as células irão entrar em plasmólise, reduzindo assim a sua turgidez (BIANCHI *et al.* 2016).

Além disso, o crescimento é afetado devido o fechamento dos estômatos como tentativa de evitar a perda de água por transpiração, entretanto como consequência do fechamento estomático as trocas gasosas também são reduzidas, sendo assim a fotossíntese é comprometida, afetando o crescimento e desenvolvimento da planta que está sob condição de déficit hídrico (PATRIOTA, 2019).

Vale ressaltar que o fechamento estomático acontece devido a presença do hormônio vegetal ácido abscísico (ABA). Há um aumento deste hormônio em plantas que estão sob condições hídricas reduzidas, além de estimular o fechamento dos

estômatos, é responsável por regular a expressão de vários genes, com o objetivo de adaptar as plantas a condições estressantes (PATRIOTA, 2019).

O sistema radicular também é um importante fator que auxilia a planta em condições de déficit hídrico, porque através dele as plantas absorvem água e os nutrientes necessários para sua sobrevivência. Algumas plantas possuem a capacidade de desenvolver o seu sistema radicular em condições de déficit hídrico, com o objetivo de absorver a água de solos mais profundos, entretanto a dinâmica de crescimento da raiz, irá depender da espécie (ROSADO *et al.* 2018).

O crescimento de raízes menores também é considerado uma estratégia de adaptação ao déficit hídrico, visto que pode aumentar a superfície de absorção da água (ROSADO *et al.* 2018).

Além disso, o acúmulo de osmorreguladores como carboidratos, prolina, proteínas solúveis e aminoácidos é outra estratégia que permite a sobrevivência das plantas em período de seca. Com auxílio dessas moléculas as plantas conseguem realizar o ajuste osmótico, tornando seu potencial hídrico maior que o do solo, como tentativa de absorver mais água (SANTOS-JUNIOR *et al.* 2020).

Os solutos podem ser acumulados em vacúolos ou no citosol das células vegetais para manter o equilíbrio do potencial hídrico e não causam efeitos negativos as membranas e enzimas (BARROS, 2017). Além da função reguladora os osmólitos podem proteger as biomembranas e macromoléculas das plantas dos efeitos maléficos dos subprodutos tóxicos gerados em condições de déficit hídrico, pois são compatíveis com o metabolismo celular e podem se concentrar em diferentes partes da planta, podendo apresentar diferentes funções (SANTOS-JUNIOR *et al.* 2020).

2.3 Peróxido de hidrogênio como elicitor em plantas

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pode ser encontrado nos tecidos vegetais e por ser uma espécie reativa de oxigênio de pequeno porte e devido suas propriedades eletroquímicas pode se movimentar com facilidade através das membranas para outros compartimentos celulares por meio das aquaporinas, atuando como moléculas sinalizadoras do estresse e por conta dessas características pode atuar como facilitador de diversos processos vegetais como a fotossíntese, atividade estomática, sistema antioxidante e aclimação por estresse (IQBAL, *et al.* 2018; SILVA *et al.* 2019).

Em condições ambientais normais o H_2O_2 produzido nos diferentes órgãos vegetais auxilia em diversos processos fisiológicos durante os estádios de desenvolvimento das plantas, como ativação de enzimas chave durante a germinação de sementes; aceleração do crescimento de raízes primárias e laterais (ISHIBASHI *et al.* 2017; KHEDIA; AGARWAL & AGARWAL 2019).

O peróxido de hidrogênio foi documentado como elicitador em diversas condições ambientais desfavoráveis para o desenvolvimento das plantas, como: salinidade, déficit hídrico, elevadas e baixas temperaturas, e alagamento, em diferentes culturas de plantas importantes para o consumo humano, como maracujá (*Passiflora edulis*), caju (*Anacardium occidentale*), tomate (*Solanum lycopersicum*), soja (*Glycine max*), arroz (*Oryza sativa*), algodão (*Gossypium L.*) e milho (*Zea mays*) (SOUZA, *et al.* 2019; SILVA *et al.* 2019; PIRES *et al.* 2015; OLIVEIRA 2019; SARWA *et al.* 2017; SOHAG *et al.* 2020; SARWAR *et al.* 2017).

As avaliações são realizadas através do monitoramento dos parâmetros de crescimento da planta, peroxidação lipídica, níveis de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, eficiência fotossintética e pigmentos fotossintéticos (SOUZA, *et al.* 2019; SILVA *et al.* 2019; PIRES *et al.* 2015; OLIVEIRA 2019; SARWA *et al.* 2017; SOHAG *et al.* 2020; SARWAR *et al.* 2017).

Entretanto, vale ressaltar que nem todas as concentrações de H_2O_2 podem estimular efeitos da mesma forma, podendo até não desencadear nenhum efeito nas plantas. As concentrações utilizadas com o objetivo de preparar plantas para estresses futuros foram relatadas entre a faixa de 0,05 mM a 400 mM de H_2O_2 (KHAN, YUSUF & FARIDUDDIN 2018). Os resultados também dependem do método de aplicação, da duração da exposição ao H_2O_2 e das características morfológicas únicas e características fisiológicas de cada espécie (QURESHI *et al.* 2022).

Por exemplo, plantas de *Abelmoschus esculentus* (quiabeiro) que foram submetidas ao estresse salino, quando associada a aplicação foliar de 25 μ M de H_2O_2 apresentaram uma redução na produção e na eficiência de uso de água. Em contraste, baixas concentrações como 7 a 8 μ mol^{L-1} de H_2O_2 aplicadas em plantas de milho do híbrido 4051, submetidas ao estresse salino, que apresentaram um maior crescimento (Lopes 2021; da Silva *et al.* 2016; Lacerda 2015).

Na espécie *Chenopodium quinoa* Willd que estava sob a condição de déficit hídrico, o pré-tratamento com 80mM de H_2O_2 foi suficiente para apresentar uma melhoria nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos que contribuíram para a

tolerância ao déficit hídrico. Sendo expressos no maior índice de crescimento, melhores atributos de emergência com maior status hídrico foliar, aumento da atividade de troca gasosa através de melhor regulação de ABA, maior acúmulo de prolina e teor de açúcar solúveis (IQBAL, *et al.* 2018).

Plântulas de milho (*Zea Mays L.*) onde as sementes foram tratadas com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (20, 40, 60, 80, 100, 120, e 140 mM), e posteriormente foram submetidas ao déficit hídrico, apresentaram tolerância ao estresse hídrico. Nesse caso a concentração de 140mM mitigou os efeitos negativos do déficit hídrico em termos de maior massa fresca e seca da parte aérea, maior teor de pigmento fotossintético e melhor absorção de nutrientes. (ASHRAF *et al.* 2015).

Em plantas de soja, o tratamento com aplicação foliar de 1mM foi suficiente para auxiliar as plantas que estavam sob condições de déficit hídrico (suspensão total de rega por 8 dias), melhorando o teor relativo de água, taxa fotossintética líquida, condutância estomática e prolina (RAHMAN *et al.* 2021).

Resultados semelhantes foram encontrados em plantas de pepino cultivadas sob três regimes de rega: sem limitação de rega (80% da capacidade de vaso), déficit moderado (60%) e déficit severo (45%) por uma semana. A aplicação foliar de 1,5mM de H₂O₂ foi capaz de aumentar a biomassa, o teor relativo de água e o teor de clorofila da folha, além de elevar a taxa fotossintética líquida, principalmente nas plantas que estavam sob déficit hídrico moderado. Assim como os teores de açúcar solúvel e prolina aumentaram. (SUN *et al.* 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e montagem do experimento

O experimento foi realizado na casa de vegetação pertencente ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foram cultivadas estacas lenhosas de *L. grata* medindo aproximadamente 20cm, provenientes do banco de germoplasma do Departamento de Biologia – Sede da UFRPE.

O substrato escolhido para o plantio foi areia lavada e as plantas foram inseridas em vasos de polietileno com capacidade de 10 litros, na qual cada vaso possuía dez estacas. Logo após o plantio, as plantas foram cobertas com sacos plásticos transparentes, com o objetivo de diminuir a transpiração foliar e manter umidade das plantas, aumentando as chances de pega e desenvolvimento de novas folhas.

As estacas foram mantidas nessa condição por 35 dias, quando as raízes se formaram. Logo em seguida foi realizado o transplante e as mudas foram plantadas em vasos novos de polietileno com capacidade de 5 litros, contendo como substrato areia lavada e esterco de caprino curtido, nas proporções 2:1, respectivamente, permanecendo nessas condições por mais 60 dias.

Durante esse período as plantas receberam aplicação de 100ml da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) com 100% da força iônica, a cada 15 dias (totalizando 4 aplicações por planta). Aos 60 dias, as plantas foram separadas em três diferentes tratamentos de acordo com a concentração do peróxido de hidrogênio: 0 (controle) 0,675 e 1,35 μ M L⁻¹, o qual foi aplicado uma única vez via pulverização da parte aérea, até o ponto de gotejamento.

O peróxido de hidrogênio nas respectivas concentrações (0,675 e 1,35 μ M L⁻¹) foi diluído em água destilada, acrescida de 0,025% de tween 20, a solução para o grupo controle (0 μ l L⁻¹) era composta apenas de água destilada e 0,025% de tween 20.

Após 15 dias da aplicação do H₂O₂, os grupos foram separados de acordo com o regime de rega: 25%, 50% e 75% da capacidade de vaso e esses tratamentos foram associados aos tratamentos com peróxido de hidrogênio 0, 0,675 e 1,35 μ M L⁻¹, realizando um esquema fatorial de 3x3, referindo as 3 concentrações de peróxido de

hidrogênio e 3 níveis de disponibilidade hídrica, contendo 12 repetições por tratamento, totalizando 108 unidades amostrais em um delineamento inteiramente casualizado.

e

Capacidade de vaso e condições do solo

O substrato de três vasos foi seco em estufa a 102°C, posteriormente o inserido nos vasos e pesado para determinar o peso do substrato seco (SS), em seguida foi hidratado até o ponto de drenagem, os vasos com o substrato úmido foram pesados para determinar o peso do substrato túrgido (ST). A capacidade de retenção de água (CR) pelo substrato foi medida subtraindo o valor de ST por SS. A quantidade de água (A) atribuída para cada regime hídrico (RH) foi estimada de acordo com a equação: $A = CR \times RH / 100\%$.

Os regimes hídricos foram mantidos com o auxílio de um sensor de umidade de solo portátil modelo Hydrosense II, e a disponibilidade de água no solo de cada vaso foi medida individualmente e diariamente para a manutenção dos regimes hídricos estabelecidos nos tratamentos, por um período de 60 dias.

Análises biométricas

As avaliações biométricas foram realizadas a cada 20 dias durante 60 dias. Foram utilizadas quatro repetições para as análises biométricas. As medidas de número de folhas, número de ramos e crescimento das plantas foram feitas a partir de seis repetições e foram coletados antes de serem administrados os tratamentos de rega (dia zero) e aos 60 dias do experimento.

Para o comprimento da maior raiz (cm), o sistema radicular foi coletado no término do experimento, lavado, enxugado com papel toalha e realizado a medida usando uma trena, bem como a altura das plantas (cm), onde a altura da parte aérea foi medida a partir do solo até a inserção da folha mais jovem expandida.

A biomassa fresca radicular foi obtida a partir de três repetições para cada tratamento, após serem coletados foram pesados separadamente utilizando uma balança analítica. A parte aérea e radicular de três repetições por tratamento foram coletadas separadamente e foram secas dentro de sacos de papel em estufa de

aeração forçada a 65°C durante 40 horas, posteriormente foram pesadas em balança analítica para determinar a produção de biomassa seca da parte aérea e radicular.

Análises bioquímicas

A coleta para as avaliações bioquímicas, foi realizada ao final do experimento (60 dias). Foram escolhidas as melhores folhas da *Lippia Grata* de cada tratamento e o material vegetal foi coletado e macerado em nitrogênio líquido.

Carboidratos solúveis totais

Para o teor de carboidratos solúveis totais utilizou-se 0,2 g de folhas frescas de 4 repetições, que foram maceradas em etanol a 80%. O extrato foi filtrado em tela de náilon para balão volumétrico de 25 mL, e em seguida armazenado em refrigerador (10°C) até o momento das análises. A determinação do teor de carboidratos solúveis totais foi realizada de acordo com o proposto por Yemm e Willis (1954), com adaptações de Bezerra Neto e Barreto (2011). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 620nm e o teor de carboidratos solúveis totais foi expresso em mg. g⁻¹MF.

Prolina livre

A determinação do teor de prolina foi feita baseada em metodologia descrita por Bates (1973). Com auxílio de uma balança analítica, pesou-se 0,5 mg de quatro repetições, o material vegetal foi macerado em almofariz com 10 mL de ácido sulfossalicílico. A solução homogeneizada foi submetida à filtragem para a eliminação parcial dos interferentes. Para a reação, foram usados tubos de ensaio, nos quais foram adicionados 2mL do filtrado, que reagiram com 2 mL de ninidrina ácida e 2mL de ácido acético glacial, deixando a mistura em banho-maria a 100 °C por uma hora. Logo em seguida, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo por 10 minutos para cessar a reação. Foram então adicionados 2 mL de tolueno à mistura, seguida de agitação branda por 20 segundos. Logo após, formou-se uma mistura bifásica, foi retirado o sobrenadante para a quantificação dos níveis de prolina livre sob comprimento de ondas de 520 nm e o teor de prolina livre foi expresso em µmol de prolina/g⁻¹/MF.

Proteínas solúveis totais

O teor de proteínas solúveis foi extraído do terceiro par de folhas, da parte apical a basal, ou seja, terço médio da planta, perfazendo três repetições. Foram macerados 0,2g do material vegetal em nitrogênio líquido e adicionados aproximadamente 0,01g de polivinilpolipirrolidona (pvpp). Em seguida, homogeneizou-se em 2mL de tampão de extração (pH 7,0), contendo fosfato de potássio, 1,4 – ditioneitol e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Posteriormente o macerado foi centrifugado a 10.000 g a 4 °C, por 20 minutos e o sobrenadante foi utilizado para as análises. O teor de proteínas solúveis totais foi obtido segundo o método proposto por Bradford (1976). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 595nm e os resultados foram expressos em mg.mL⁻¹.

Análises estatísticas

Os dados quantitativos do experimento foram submetidos à ANOVA e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para determinar a variação estatística entre os tratamentos, utilizando o software R através da aplicação Yupana:inti.

4 RESULTADOS

Após 60 dias de tratamento as plantas controle (75% da capacidade de vaso e 0 μ M de H₂O₂) apresentaram uma maior taxa de crescimento da parte aérea e produção de ramos comparando com o tratamento de capacidade de vaso de 25% (TABELA 1). O tratamento hídrico de 50% da capacidade de vaso teve a produção de ramos comprometida independentemente da quantidade de peróxido de hidrogênio aplicada. As plantas que foram submetidas a capacidade de vaso de 25% tiveram a produção de ramos e crescimento comprometidas em todas as concentrações de peróxido de hidrogênio aplicada (0; 0,675 e 1,35 μ M L⁻¹).

O número de folhas não teve resultado significativo em nenhum dos tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1- Avaliações biométricas em plantas de *L. grata* pulverizadas com peróxido de hidrogênio nas concentrações de 0,675e 1,35 μ M L⁻¹, além do controle (0 μ M L⁻¹) submetidas a diferentes restrições hídricas (75%, 50% e 25% da capacidade de vaso) aos 60 dias de cultivo.

Tratamento hídrico	H ₂ O ₂ (μ M L ⁻¹)	Crescimento (cm)	Produção de folhas (Nº)	Produção de ramos (Nº)
75%	0	23,67 \pm 5,01 a	153,33 \pm 84,15 a	9,33 \pm 4,50 a
	0,675	17,33 \pm 5,24 ab	185,83 \pm 68,60 a	7,00 \pm 3,63 ab
	1,35	15,00 \pm 8,74 ab	138,83 \pm 80,58 a	4,33 \pm 2,34 ab
50%	0	19,33 \pm 4,27 ab	117,67 \pm 68,48 a	2,33 \pm 1,86 b
	0,675	19,00 \pm 8,22 ab	159,67 \pm 72,68 a	3,17 \pm 1,60 b
	1,35	17,33 \pm 5,32 ab	180,5 \pm 97,02 a	3,17 \pm 2,71 b
25%	0	9,83 \pm 6,82 b	89,83 \pm 35,09 a	2,17 \pm 2,40 b
	0,675	7,67 \pm 4,63 b	89,50 \pm 59,00 a	3,17 \pm 1,94 b
	1,35	9,00 \pm 7,97 b	74,83 \pm 50,12 a	2,80 \pm 4,26 b

Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas segundo o teste de Tukey (P < 0,05) dentro de cada tratamento hídrico e níveis de peróxido de hidrogênio, seguido do desvio padrão.

As plantas de *L. grata* não apresentaram diferenças significativas no tratamento de restrição hídrica de 75% da capacidade de vaso, para massa seca e fresca da parte aérea, massa seca radicular e crescimento da maior raiz independentemente da concentração de peróxido de hidrogênio aplicada (TABELA2). A massa seca da raiz (MSR), massa fresca radicular (MFR) e comprimento da maior raiz (CMR) não apresentaram alterações significativas em nenhum dos tratamentos.

Entretanto, o tratamento de restrição hídrica de (50%) da capacidade de vaso associada a 1,35 μ M L⁻¹ e os tratamentos com regime hídrico de 25% associados ao

H₂O₂ (1,35 e 0,675 μM L⁻¹) obtiveram os menores conteúdos de massa seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 2).

Tabela 2- Massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca radicular (MFR), massa seca radicular (MSR) e comprimento da maior raiz (CMR) em plantas de *L. grata* pulverizadas com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (0, 0,675 e 1,35 μM L⁻¹) submetidas a diferentes regimes hídricos (75%, 50% e 25%) da capacidade de vaso aos 60 dias de cultivo.

Tratamento hídrico	H ₂ O ₂ (μM L ⁻¹)	MSPA	MFR	MSR	CMR
75%	0	16,55 ± 6,98 ab	10,41 ± 3,60 a	3,45 ± 0,39 a	30,67 ± 1,53 a
	0,675	23,06 ± 4,23 ab	17,51 ± 1,35 a	4,33 ± 0,63 a	29,33 ± 1,53 a
	1,35	19,06 ± 4,16 ab	16,87 ± 6,46 a	5,97 ± 2,38 a	29,33 ± 4,16 a
50%	0	24,46 ± 4,68 ab	29,27 ± 16,05 a	6,26 ± 0,99 a	35,00 ± 1,73 a
	0,675	28,77 ± 1,80 a	20,76 ± 4,42 a	3,82 ± 0,97 a	30,00 ± 6,24 a
	1,35	14,17 ± 2,44 b	15,68 ± 1,51 a	4,17 ± 0,13 a	26,00 ± 1,73 a
25%	0	15,69 ± 1,35 ab	21,78 ± 5,59 a	8,05 ± 1,63 a	34,00 ± 1,00 a
	0,675	11,04 ± 2,31 b	18,95 ± 0,96 a	3,08 ± 1,67 a	31,33 ± 5,03 a
	1,35	12,19 ± 2,06 b	23,96 ± 5,00 a	7,99 ± 2,06 a	32,33 ± 1,15 a

Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas segundo o teste de Tukey (P < 0,05) dentro de cada tratamento hídrico e níveis de peróxido de hidrogênio, seguido do desvio padrão.

Em relação as moléculas osmorreguladoras, os teores de carboidratos e proteínas solúveis não apresentaram mudanças significativas em nenhum dos tratamentos. Já o teor de prolina foi mais alto no tratamento com (25%) da capacidade de vaso e na concentração de 1,35 μM L⁻¹ de H₂O₂. (Tabela 3).

Tabela 3- Teores de carboidratos solúveis totais, prolina livre e proteínas solúveis totais em plantas de *L. grata* pulverizadas com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (0, 0,675 e 1,35 μM L⁻¹) submetidas a diferentes regimes hídricos (75%, 50%, 25% da capacidade de vaso) aos 60 dias de cultivo.

Tratamento hídrico	H ₂ O ₂ (μM)	Carboidratos mg. g ⁻¹ MF	Prolina μmol/g ⁻¹ MF	Proteínas mg.mL ⁻¹
75%	0	168,67 ± 41,18 a	3,57 ± 0,21 b	1,56 ± 0,16 a
	0,675	161,48 ± 27,96 a	7,65 ± 1,14 ab	1,89 ± 0,64 a
	1,35	183,27 ± 17,47 a	4,07 ± 1,02 b	2,17 ± 0,48 a
50%	0	183,30 ± 5,05 a	6,05 ± 0,37 ab	1,84 ± 0,42 a
	0,675	132,11 ± 43,39 a	7,78 ± 1,05 ab	2,43 ± 0,62 a
	1,35	150,52 ± 16,79 a	4,99 ± 1,15 b	1,28 ± 0,31 a
25%	0	168,62 ± 16,03 a	12,14 ± 1,41 ab	2,39 ± 0,97 a
	0,675	160,73 ± 16,83 a	6,59 ± 2,53 ab	2,07 ± 0,33 a
	1,35	165,81 ± 22,88 a	14,61 ± 4,97 a	2,56 ± 1,39 a

Letras diferentes representam diferenças estatísticas significativas segundo o teste de Tukey (P < 0,05) dentro de cada tratamento hídrico e níveis de peróxido de hidrogênio, seguido do desvio padrão.

5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que os parâmetros morfológicos da *Lippia grata*, como o crescimento e produção de ramos foram afetados negativamente após 60 dias de suspensão hídrica. O crescimento das plantas é um dos primeiros parâmetros afetado pela deficiência hídrica, porque devido à ausência da água, os processos de expansão e divisão celular são interrompidos proporcionando uma limitação na taxa de crescimento (JÚNIOR URBANO, et al. 2021).

O déficit hídrico impacta negativamente o crescimento e a produtividade das plantas, pois sem água os processos fisiológicos e bioquímicos são afetados e por essa razão não conseguem completar todos os seus estádios de desenvolvimento (DE MORAES CAMPOS, et al. 2021).

Além disso, em condições de déficit hídrico há um aumento da síntese de ácido abscísico (ABA) que induz o fechamento estomático, como tentativa de reduzir a perda de água por transpiração, porém a captação de CO₂ também é reduzida, resultando na diminuição das taxas fotossintéticas e por consequência o crescimento da planta é comprometido (PADILHA, et al. 2016; SAVCHENKO et al. 2014; SILVEIRA et al. 2016).

A redução no crescimento, produção de ramos e folhas em plantas submetidas a deficiência hídrica também foi relatada por MAIA-JÚNIOR, et al. (2018), MORALES, et al. (2015) e SILVA, et al. (2015).

As plantas de *L. grata* que foram submetidas ao regime hídrico de 50% (1,35μM L⁻¹ de H₂O₂) e 25% (0,675 e 1,35μM L⁻¹ de H₂O₂) apresentaram uma redução em relação a massa seca da parte aérea. A folha é um dos principais órgãos que ocorre a atividade fotossintética, produzindo e acumulando nutrientes e compostos orgânicos que posteriormente são translocados para os outros órgãos da planta.

Logo, alterações na expansão foliar causam uma limitação nos processos fotossintéticos, sendo assim o acúmulo de biomassa também é prejudicado, resultando em perdas da produtividade (VITAL, et al. 2021). Além disso, o acúmulo do peróxido de hidrogênio pode afetar o desenvolvimento das plantas dependendo da concentração aplicada, em baixas concentrações serve como molécula sinalizadora na planta, entretanto em quantidades elevadas pode causar danos oxidativos nas

células vegetais (DAT et al. 2000; BAILLY et al. 2008; AMOOAGHAIE e TABATABAIE 2017).

Oliveira (2019) relatou que com o aumento da concentração do peróxido de hidrogênio (0, 10, 50, 100 e 200mM) o crescimento e a massa seca da raiz das plântulas de *Glycine max* L. foram reduzidas. Portanto, o tratamento com peróxido de hidrogênio aliado ao déficit hídrico pode ter afetado a massa seca da parte aérea das plantas de *L. grata*, limitando seu crescimento, correlacionando com o resultado biométrico desse estudo (Tabela 1).

Quanto ao peso seco e fresco, e comprimento da maior raiz, não houve diferenças significativas ($P < 0,05$) nas plantas de *L. grata* tratadas com peróxido de hidrogênio e submetidas às diferentes condições de rega durante o período avaliado. Em condições de déficit hídrico, a produção de biomassa aérea tende a ser mais afetada do que o sistema radicular, isso ocorre comumente em algumas espécies de plantas que apresentam maior adaptação à escassez hídrica buscando reduzir a transpiração que ocorre pela parte aérea para economizar água e aumentando o sistema radicular em busca de água (CASER et al. 2018; CASER et al., 2019; PALHARES NETO et al. 2020; SOUZA et al. 2020).

Quanto ao nível de osmorreguladores das plantas de *L. grata* os teores de carboidratos e proteínas solúveis totais não apresentaram mudanças significativas. Porém, os níveis de prolina foram maiores nas plantas que estavam no tratamento hídrico de 25% da capacidade de vaso associado a $1,35\mu\text{M L}^{-1}$ de H_2O_2 .

O acúmulo de solutos com a função osmorreguladora é uma estratégia de sobrevivência ao déficit hídrico, porque essas moléculas proporcionam uma redução no potencial osmótico celular, garantindo a absorção de água e a pressão da turgescência celular, mantendo assim processos fisiológicos essenciais para a sobrevivência da planta (COSTA et. al 2015). No entanto, a quantidade e o tipo do soluto que será armazenado irão depender da espécie vegetal e do tempo de duração do déficit hídrico (OZTURK et al. 2021).

Em *L. grata* o acúmulo de prolina pode auxiliar no um ajuste osmótico sob baixa disponibilidade hídrica. Resultados semelhantes em relação ao aumento do teor de Prolina foram observados por Meira et al (2019) para *Lippia origanoides* em condições de estresse hídrico.

6 CONCLUSÃO

Sendo assim, é possível observar que a restrição hídrica, o crescimento e desenvolvimento das plantas de *Lippia grata*, sendo expressos nos parâmetros biométricos (comprometimento do crescimento, produção de ramos e a massa seca da parte aérea) e aumentando o teor de prolina, como forma de escape ao estresse.

7 REFERÊNCIAS

- Amooaghaie R, Tabatabaie F (2017) Osmopriming-induced salt tolerance during seed germination of alfalfa most likely mediates through H₂O₂ signaling and upregulation of heme oxygenase. *Protoplasma* 254:1791-1803. doi:org/10.1007/s00709-016-1069-5
- Ashraf, Muhammad Arslan et al. Hydrogen peroxide modulates antioxidant system and nutrient relation in maize (*Zea mays* L.) under water-deficit conditions. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 61, n. 4, p. 507-523, 2015.
- Bailly C, El-Maarouf-Bouteau H, Corbineau F (2008) From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. *Comptes rendus biologiques* 331:806-814. doi:org/10.1016/j.crv.2008.07.022
- Barros, Cibelle Vanúcia Santana Dantas. "Resposta antioxidativa e ajustamento osmótico de *Helianthus Annuus* L. Submetido ao déficit hídrico e salinidade." (2017).
- BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- Bezerra Neto, E.; Barreto, L. P. Análises químicas e bioquímicas em plantas. Editora Universitária da UFRPE, 267p. 2011.
- Bianchi, Leandro, Gabriel Henrique Germino, and Marcelo de Almeida Silva. "Adaptação das plantas ao déficit hídrico." *Acta iguazu* 5.4 (2016): 15-32.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254.
- Cardoso, P. H., O'Leary, N., & Salimena, F. R. G. (2018). Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Verbenaceae. **Rodriguésia**, 69(3), 1397-1403.
- Carvalho, Victoria, and Antônio Azeredo Coutinho Neto. "Espécies reativas de oxigênio em plantas." *Laboratório de Ensino de Botânica*.(2016): 161.

Caser, M., Chitarra, W., D'Angiolillo, F., Perrone, I., Demasi, S., Lovisolo, C., ... & Scariot, V. (2019). Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. **Industrial crops and products**, 129, 85-96.

Caser, M., D'Angiolillo, F., Chitarra, W., Lovisolo, C., Ruffoni, B., Pistelli, L., ... & Scariot, V. (2018). Ecophysiological and phytochemical responses of *Salvia sinaloensis* Fern. to drought stress. **Plant Growth Regulation**, 84(2), 383-394.

Silva, A. A. R., Lima, G. S., Azevedo, C. A. V., Veloso, L. L. D. S. A., & Capitulino, J. D. (2018). Peróxido de hidrogênio como atenuante do estresse salino na formação de mudas de maracujá.

Silva, E. M., Lacerda, F. H. D., Medeiros, A. S., Souza, L. P., & Pereira, F. H. F. (2016). Métodos de aplicação de diferentes concentrações de H₂O₂ em milho sob estresse salino. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, 11(3), 1-7.

Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, Van MM, INZÉ D, Van-Breusegem F (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cellular and Molecular Life Sciences** CMLS 57:779-795. doi.org/10.1007/s000180050041.

Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 14 out. 2022

Campos, A. J. M.; Santos, S. M.; Nacarath, I. R. F. F.. Estresse hídrico em plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, 2021.

Souza, L. P., Nobre, R. Gomes, Fatima, R. T., Alves Pimenta, T., Lima Diniz, G., & Lima Barbosa, J. (2019). Morfofisiologia e qualidade de porta-enxerto de cajueiro sob peróxido de hidrogênio e estresse salino. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada-RBAI**, 13(3).

Silva, J.S., et al. "Parâmetros morfológicos e fisiológicos de *Brachiaria brizantha* submetida ao déficit hídrico. **Acta Iguazu** 7.5: 71-81.

Souza, A. V. "Extração de óleo essencial de alecrim-do-mato (*Lippia grata* Schauer-Verbenaceae). *Embrapa Semiárido-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)* (2021).

Souza, A. V.; KILL, LHP. Como produzir mudas de alecrim-do-mato (*Lippia grata* Schauer Verbenaceae). Embrapa Semiárido-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2018.

Diao, Q., Song, Y., Shi, D., & Qi, H. (2017). Interaction of polyamines, abscisic acid, nitric oxide, and hydrogen peroxide under chilling stress in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings. **Frontiers in Plant Science**, 8, 203.

Santos-Junior, J. L.; Oliveira, M F. C. and Silva, E. C.. "Acúmulo de solutos orgânicos em mudas de *Ceiba glaziovii* (Kutze) Kum. em resposta à seca intermitente. **Scientia Plena**. 16.1 (2020).

Hasanuzzaman, M. et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 681, 2020.

Heath, R. L.; Packer L., (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. – **Arch. Biochem. Biophys.** 125, 189-198.

Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. Circular. **California agricultural experiment station**, 347(2nd edit).

Iqbal, H., et al. "Hydrogen peroxide application improves quinoa performance by affecting physiological and biochemical mechanisms under water-deficit conditions." **Journal of Agronomy and Crop Science**, 204.6 (2018): 541-553.

Ishibashi Y, Aoki N, Kasa S, Sakamoto M, Kai K, Tomokiyo R, Watabe G, Yuasa T, Iwaya-Inoue M (2017) The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontier in plant science** 8:275. doi:org/10.3389/fpls.2017.00275

Júnior, S. A. U.; de Oliveira-Neto, S. S. Respostas morfológicas de cultivares de alface sob deficiência hídrica.

Khan, T. A., Yusuf, M., & Fariduddin, Q. (2018). Hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism: Signalling and its effect under abiotic stress. **Photosynthetica**, 56(4), 1237-1248.

Khedra, J., Agarwal, P., & Agarwal, P. K. (2019). Deciphering hydrogen peroxide-induced signalling towards stress tolerance in plants. **Biotech**, 9(11), 1-13.

Lacerda, F. H.D. et al. Peróxido de hidrogênio como amenizador da suscetibilidade do milho verde ao estresse salino. 2015.

Levitt, J. Responses of Plant to Environmental Stresses. New York: **Academic Press**.1980. 667p.

Lopes, I. A. P.. "Aplicação exógena de peróxido de hidrogênio como atenuante ao estresse salino em quiabeiro." (2021).

Maia-Júnior, S.O., et al. "Morphological and physiological responses of cultivars sugarcane under drought stress in the second cycle of cultivation. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**.12.3 (2018): 2661-2672.

Meira, M. R., Ernane Ronie Martins, and Ivan Caldeira Almeida Alvarenga. "Prolina livre e flavonoides totais de Lippia origanoides submetidos a níveis de saturação por base e estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 14.2 (2019): 1-9.

Morales, R. G. F., et al. "Caracterização do tomateiro submetido ao déficit hídrico.**Scientia Agraria** 16.1 (2015): 9-17.

Oliveira, R. D. (2019). Pré-tratamento com peróxido de hidrogênio em sementes de soja induz tolerância ao estresse por déficit hídrico.

Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A., & Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. **Physiologia Plantarum**, 172(2), 1321-1335.

Padilha, N. D. S.; Silva, C. J. D.; Pereira, S. B.; Silva, J. A. N. D.; Heid, D. M.; Bottega, S. P.;Scalon, S. D. P. Q. (2016). Crescimento inicial do pinhão-mansão submetido a diferentes regimes hídricos em latossolo vermelho distrófico.**Ciência Florestal**, 26, 513-521.

Palhares Neto, L., de Souza, L. M., de Moraes, M. B., Arruda, E., de Figueiredo, R. C. B. Q., de Albuquerque, C. C., & Ulisses, C. (2020). Morphophysiological and Biochemical

Responses of *Lippia grata* Schauer (Verbenaceae) to Water Deficit. **Journal of Plant Growth Regulation**, 39(1).

Patriota, M.A.. *Distúrbios fisiológicos associados à sensibilidade ao estresse hídrico em plantas de arroz*. BS thesis. Brasil, 2019.

Pires, M. F., Castro, E. M. D., Magalhães, P. C., Neta, I. C. S.; Monteiro, A. G. D. P. (2015). Etileno e peróxido de hidrogênio na formação de aerênquima em milho tolerante a alagamento intermitente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 50, 779-787.

Qureshi, M. K., Gawroński, P., Munir, S., Jindal, S., & Kerchev, P. (2022). Hydrogen peroxide-induced stress acclimation in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 79(2), 1-16.

Rahman, M. A. et al. Physiological and proteomic analyses reveal the protective roles of exogenous hydrogen peroxide in alleviating drought stress in soybean plants. **Plant Biotechnology Reports**, v. 15, n. 6, p. 805-818, 2021.

Rosado, C. C. G., et al. "Genes candidatos e mecanismos fisiológicos relacionados ao estresse hídrico em plantas. **Tópicos Especiais em Genética e Melhoramento II** (2018): 115.

Santos, I.G. A., et al. "Amebicidal activity of the essential oils of *Lippia* spp. (Verbenaceae) against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. **Parasitology research** 115.2 (2016): 535-540.

Sarwar, M., Saleem, M. F., Najeeb, U., Shakeel, A., Ali, S., & Bilal, M. F. (2017). Hydrogen peroxide reduces heat-induced yield losses in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by protecting cellular membrane damage. **Journal of Agronomy and Crop Science**, 203(5), 429-441.

Savchenko T, Kolla VA, Wang C, Hicks ZNDR, Phadungchob B, Chehab WE, Brandizzi F, Froehlich J, Dehesh K (2014) A convergência funcional das vias de oxilipina e ácido abscísico controla o fechamento estomático em resposta à seca. **Plant Physiology** 164:1151-1160.

Silva, P.C. C., et al. "Avaliação de métodos de aplicação de H₂O₂ para aclimação de plantas de girassol à salinidade." **Water Resources and Irrigation Management-WRIM** 8.1-3 (2019): 1-4.

Silveira, P.S.; Custódio, J.P.C.; Silva, F.C.M.; Nascente, A.C.S.; Monteiro CL, Matos FS (2016) A ação dos brassinosteróides no crescimento de mudas de pinhão manso sob déficit hídrico. **Ciência Agroambiental** 2:52–61

Siqueira-Lima, P. S., Passos, F. R., Lucchese, A. M., Menezes, I. R., Coutinho, H. D., Lima, A. A., ... & Quintans-Júnior, L. J. (2019). Central nervous system and analgesic profiles of *Lippia* genus. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 125-135.

Smith, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. *The New Phytologist* 132:1-45. 1996.

Sohag, A. A. M., Tahjib-UI-Arif, M., Brestic, M., Afrin, S., Sakil, M. A., Hossain, M. T., ... & Hossain, M. A. (2020). Exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide attenuate drought stress in rice. **Plant, Soil and Environment**, 66(1), 7-13.

Souza, L. M., Barbosa, M. R., Morais, M. B., Neto, L. P., Ulisses, C., & Camara, T. R. (2020). Biochemical and morphophysiological strategies of *Myracrodruon urundeuva* plants under water deficit. **Biologia plantarum**, 64, 20-31.

Sun, Y., Wang, H., Liu, S., & Peng, X. (2016). Exogenous application of hydrogen peroxide alleviates drought stress in cucumber seedlings. **South African Journal of Botany**, 106, 23-28.

Vital, R. G., et al. "Alterações morfológicas em cultivares de soja submetidas ao déficit hídrico."

Yemm, E. W.; Willis, A. J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extract by anthrone. **Biochemical Journal**. 57, 508-514.

Zárate-Salazar, Jhonatan Rafael et al. Light-emitting diodes and gas exchange facilitation minimize hyperhydricity in *Lippia grata*: Physiological, biochemical and morpho-anatomical aspects. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 164-171, 2020.