

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS - PPGCN
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Lippia gracilis* SUBMETIDA A DIFERENTES REGIMES
HÍDRICOS**

MESTRANDA: AUCIÉLIA PATRÍCIA DA SILVEIRA SILVA
ORIENTADORA: PROF.^a DR.^aCYNTHIA CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE
LINHA DE PESQUISA: TECNOLOGIA AMBIENTAL

MOSSORÓ-RN

2018

AUCIÉLIA PATRÍCIA DA SILVEIRA SILVA

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Lippia gracilis* SUBMETIDA A DIFERENTES REGIMES
HÍDRICOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Naturais. Área de concentração: Recursos Naturais

Orientadora: Prof.a. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque.

**MOSSORÓ – RN
2018**

AUCIÉLIA PATRÍCIA DA SILVEIRA SILVA

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Lippia gracilis* SUBMETIDA A DIFERENTES REGIMES
HÍDRICOS**

Aprovada em: ___/___/___
BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

Prof^ª. Dra Marciana Bizerra de Moraes

Prof^ª. Dra Claudia Ulisses de Carvalho Silva

**MOSSORÓ-RN
2018**

Catálogo da Publicação na Fonte.
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

S587 Silveira Silva, Auciélia Patricia da
i INFLUÊNCIA DE FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Lippia gracilis*
SUBMETIDA A DIFERENTES REGIMES
HÍDRICOS. / Auciélia Patricia da Silveira Silva. - Mossoró,
2018.
54p.

Orientador(a): Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de
Albuquerque.
Dissertação (Mestrado em Programa
de PósGraduação em Ciências Naturais).
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

1. déficit hídrico. 2. colonização micorrizica. 3.
osmorreguladores. 4. *Gigaspora albida*. 5. *Glomus*
etunicatum.. I. Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de. II.
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. III.
Título.

**Dedico aos meus pais, Maria Auxiliadora da
Silveira Silva e Hélio Vieira da Silva, e a meu filho
João Gabriel por todo carinho, apoio e incentivo.**

AGRADECIMENTOS

À Deus e ao Nosso Senhor Jesus Cristo, pela minha vida, pela benção sempre dada, proporcionando força para enfrentar todos os obstáculos encontrados e por permitir que eu seja a pessoa que sou hoje.

Aos meus pais, pelos ensinamentos, amor, apoio e compreensão; o meu eterno agradecimento. Especialmente a minha amada Mãe, sem a qual eu nunca teria conseguido. Obrigada por tudo!

Ao meu filho por entender minha ausência física, pois em pensamento ele sempre esteve presente.

A Eciran, minha mãe de coração, que sempre me acolheu e cuidou de mim como uma filha, não tenho palavras para agradecer.

A minha amiga irmã Edla, pela amizade, companheirismo e apoio nos momentos difíceis.

A Marília, amiga de agradável convívio e grande auxílio nessa etapa da minha vida.

À Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque pela orientação, amizade e confiança.

Ao prof. Dr. Iron Macêdo Dantas, Prof^a. Dra Marciana Bizerra de Moraes e Prof^a. Dra Francisca Marta Machado Casado de Araújo pelas valiosas sugestões neste trabalho.

Aos amigos de laboratório sem os quais não teria conseguido executar muitas etapas desse trabalho. Meu enorme agradecimento aos incansáveis companheiros de horas e horas de laboratório: Marcos, Fábio, Aline, Carol, Clara, Marília, Isabelle, Marcelo, Laís, Débora, Izabel, Daniele, Clever, Mhaira, Josiani, Ellen, Victor e Neto.

Aos colegas da turma do mestrado pelos momentos vividos.

Ao mestrado em Ciências Naturais e a Universidade do Estado do Rio Grande do Norte pelo importante papel desempenhado na construção do conhecimento e pela grandiosa oportunidade de qualificar-me.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1**- Biomassa seca da parte aérea de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....36
- Figura 2** - Biomassa seca da raiz de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....37
- Figura 3** – Relação raiz/parte aérea em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....38
- Figura 4** – Parte aérea em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....39
- Figura 5** – Teor relativo de água de folha em *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....40
- Figura 6** – teores de clorofila a, b e carotenóides em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....42
- Figura 7**– teores de prolina em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....43
- Figura 8**– teores de carboidratos solúveis totais nas folhas em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....45
- Figura 9**– teores de carboidratos solúveis totais nas raízes em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....45
- Figura 10** – Taxa de colonização micorrízica em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs).....47

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO GERAL.....	9
1.1 OBJETIVOS.....	11
1.1.1 Geral.....	11
1.1.2 Específico.....	11
1.2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	11
1.2.1 O USO DE PLANTAS MEDICINAIS.....	11
1.2.2 <i>Lippia gracilis</i>	12
1.2.3 DEFICIÊNCIA HÍDRICA E MECANISMO DE TOLERÂNCIA DAS PLANTAS..	13
1.2.4 FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E DESENVOLVIMENTO VEGETAL	16
REFERÊNCIAS	17

CAPITULO 2 - INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE *Lippia gracilis* SUBMETIDA A DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS

RESUMO.....	26
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAL E MÉTODOS.....	32
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS.....	48

RESUMO GERAL

As plantas associadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) apresentam uma melhor absorção de nutrientes e água, e em função disso têm sido estudada pela capacidade de contribuir positivamente no desenvolvimento e recuperação de plantas submetidas ao estresse hídrico. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de espécies de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de *Lippia gracilis* submetida a diferentes regimes hídricos. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, sendo os FMAs *Glomus etunicatum* e *Gigaspora albida* individualmente misturados ao substrato (solo natural + areia lavada) esterilizado por meio de autoclavagem, onde as estacas foram plantadas. Com 40 dias, as mudas já micorrizadas foram submetidos a 4 regimes hídricos: 100%, 75%, 50% e 25% da capacidade de vaso, durante 30 dias. Para fins de comparação, foram avaliados os mesmos regimes hídricos sem micorrizas. Após os 15 dias e 30 dias de tratamento, o desenvolvimento e a tolerância das plantas foram determinados através da quantificação das seguintes variáveis: biomassa seca de parte aérea e raiz; relação raiz/ parte aérea; teor relativo de água da folha (TRA); área foliar; carboidratos solúveis totais; prolina; carotenóides totais, clorofila a, b e taxa de colonização micorrizica. O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com cada bloco contendo todos os tratamentos (4 regimes hídricos x 2 tratamentos com micorrizas e 1 sem micorriza, totalizando 12 tratamentos), inteiramente casualizado. Os dados foram analisados estatisticamente por análise de variância, e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico Assisat@ versão 7.7. O regime hídrico de 75% da capacidade de vaso proporcionou um bom desenvolvimento para o crescimento das plantas de *L. gracilis* associadas com fungos micorrízicos arbusculares. A *Lippia gracilis* conseguiu manter-se hidratada independente de estar associado ou não com os FMAs. A produção de prolina nos 15 primeiros dias da implantação dos regimes nos grupos inoculadas com FMAs foi maior nos tratamentos de menor capacidade de vaso, no entanto, no segundo tempo o grupo controle demonstrou maior produção deste osmorregulador. Os níveis de carboidratos solúveis totais diminuíram com o tempo de exposição ao déficit hídrico. Os fungos micorrízicos arbusculares proporcionaram maior produção de biomassa da parte aérea e área foliar até nos regimes de menor disponibilidade hídrica. Os FMAs promoveram também o incremento dos pigmentos fotossintetizantes, com a espécie *G. albida* realçando a clorofila a enquanto que a *G. etunicatum*

destacou-se na produção da clorofila b. O déficit hídrico prolongado reduziu a colonização micorrízica e o incremento das demais variáveis.

Palavras-chaves: déficit hídrico, colonização micorrízica, osmorreguladores, *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum*.

INFLUENCE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN THE DEVELOPMENT OF *Lippia gracilis* SUBMITTED TO DIFFERENT WATER REGIMES

ABSTRACT

The plants associated with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) present a better absorption of nutrients and water, and as a result they have been studied for their ability to contribute positively to the development and recovery of plants subjected to hydric stress. The present work had the objective of evaluating the influence of arbuscular mycorrhizal fungi species on the development of *Lippia gracilis* submitted to different water regimes. The experiment was carried out under greenhouse conditions, with AMFs *Glomus etunicatum* and *Gigaspora albida* being individually mixed with the substrate (natural soil + washed sand) sterilized by autoclaving, where the cuttings were planted. At 40 days, the mycorrhizal seedlings were submitted to four water regimes: 100%, 75%, 50% and 25% of pot capacity for 30 days. For comparison purposes, the same water regimes without mycorrhizae were evaluated. After 15 days and 30 days of treatment, the development and tolerance of the plants were determined by quantifying the following variables: dry shoot and root biomass; root / shoot ratio; relative leaf water content (TRA); leaf area; total soluble carbohydrates; proline; carotenoids, chlorophyll a, b and mycorrhizal colonization rate. The experimental was a randomized complete block design (RCBD), with each block containing all treatments (4 water regimes x 2 treatments with mycorrhizae and 1 without mycorrhiza, totaling 12 treatments), completely randomized. The data were analyzed statistically by analysis of variance, and the means were compared using the Tukey test at 5% significance with the aid of the statistical program Assistat® version 7.7. The water regime of 75% of pot capacity provided good development for the growth of *L. gracilis* plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Lippia gracilis* was able to remain hydrated regardless of whether it was associated or not with AMFs. The proline production in the first 15 days of the implantation of the regimens in

the groups inoculated with AMFs was higher in the treatments of lower capacity of pot, however, in the second time the control group demonstrated greater production of this osmoregulator. The levels of total soluble carbohydrates decreased with the time of exposure to the water deficit. The arbuscular mycorrhizal fungi provided greater biomass production of shoot and leaf area even in the regimes of lower water availability. AMFs also promoted the increase of photosynthetic pigments, with the species *G. albida* high lighting chlorophyll a while *G. etunicatum* was high lighted in the production of chlorophyll b. The prolonged water deficit reduced the mycorrhizal colonization and the increment of the other variables.

Keywords: water deficit, mycorrhizal colonization, osmoregulators, *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum*.

1.0 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são elementos que constituem parte da biodiversidade e são largamente utilizadas como remédios caseiros desde os primórdios da civilização por vários povos e de diversas maneiras. Atualmente, também são utilizadas como matéria-prima para fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos no mercado farmacêutico (LEÃO, 2007).

Inúmeras espécies medicinais ocorrem no Bioma Caatinga, o qual se destaca quando sua biodiversidade é comparada a outros habitats expostos às mesmas condições de solo e clima (TABARELLI e VICENTE, 2002). Neste Bioma as plantas apresentam diversas adaptações fisiológicas às condições estressantes, entre elas ao déficit hídrico. O conhecimento dessas variáveis fisiológicas possibilita o entendimento de como as espécies vegetais conseguem se estabelecer em ambientes com condições limitantes.

Dentre as várias espécies de plantas medicinais produtoras de óleo essencial destacamos a *Lippia gracilis* Schauer. Os metabólitos secundários presentes no óleo essencial de *L. gracilis* apresentam forte ação contra bactérias e fungos que atacam plantas e animais (ALBUQUERQUE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; FERNANDES et al., 2015, DANTAS et al., 2010 e NETO et al., 2010), e ainda se apresenta promissor no combate a células tumorais (FERRAZ et al., 2013).

Estudos para o uso racional da água têm considerado técnicas voltadas para irrigação, como por exemplo, aplicação de restrição do volume de água. A comunidade científica

especializada na otimização do uso da água tem realizado, nos últimos anos, estudos sobre o contínuo movimento da água através do sistema da solo-planta-atmosfera e dirigido esforços para determinar o requerimento de água e indicadores do estresse hídrico de culturas, com o objetivo de fornecer dados para uma adequada programação da irrigação (MELO, 2017).

De acordo com Frizzone (2007), pesquisas relacionadas ao estresse hídrico desempenham um importante papel na determinação de como a disponibilidade de água nos solos, somado as variáveis climáticas podem afetar o desenvolvimento de uma cultura específica, para a tomada de decisão de investimento.

Uma biotecnologia que vem sendo avaliada atualmente são as associações micorrízicas, por demonstrarem um aumento da tolerância das plantas a estresses ambientais, tais como o déficit hídrico. Estudos verificaram que a capacidade de plantas colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares (FMA) sobreviverem a níveis críticos de água no solo esta associado a maior quantidade de hifas extraradiculares, o que implica que as hifas podem de alguma forma auxiliar sistemas radiculares extrair água e nutrientes em solos secos (FOLLI-PEREIRA, et al. 2012 e TANG et al., 2009). Consequentemente o uso efetivo dessa simbiose na agricultura, pode otimizar o uso de água e insumos, concorrendo para reduzir os custos de produção e viabilizar a produção de culturas em situações ambientais desfavoráveis (SILVA JUNIOR et al., 2010).

O nível e a duração do estresse são fundamentais na resposta das plantas aromáticas e medicinais, assim, estudos têm indicado que plantas de qualidade podem ser obtidas por meio de sistemas de reduzida irrigação (CHARLES et al., 1990; MORVANT et al., 1998). Sendo trabalhos como estes importantes para o manejo correto de irrigação, uma vez que podemos avaliar parâmetros produtivos relacionados à irrigação, o comportamento da cultura frente ao déficit hídrico, escolha de variedades e influência do estresse no ciclo de cultivo (ALVARENGA, 2010).

Pelos fungos micorrízicos arbusculares apresentarem importância na absorção de nutrientes e água, infere-se que eles desempenham papel de especial relevância para a sustentabilidade dos ecossistemas no semiárido. Diante dos poucos estudos sobre o efeito da associação de micorrizas com plantas do Bioma Caatinga e da importância socioeconômica apresentada pela *Lippia gracilis*, o presente trabalho tem como objetivo avaliar as respostas de crescimento e desenvolvimento em plantas *L. gracilis* inoculadas com espécies de fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a diferentes regimes hídricos.

1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar biomassa seca da parte aérea e radicular, relação raiz/parte aérea, área foliar, teor relativo de água das folhas de *L. gracilis* submetidas aos diferentes tratamentos;
- Realizar análises bioquímicas: carotenóides totais, clorofilas a e b, carboidratos solúveis totais nas folhas e raízes, prolina nas folhas e taxa de colonização micorrízica em *L. gracilis* nos tratamentos propostos.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 O USO DE PLANTAS MEDICINAIS

Toda planta que administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma e que exerça alguma ação terapêutica, é definida como medicinal (LOPES et al., 2005). As plantas medicinais sempre tiveram grande importância na cultura, na medicina e na alimentação das sociedades no mundo. Índícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007).

No cultivo de plantas medicinais, o interesse maior é pelos metabólitos secundários que atuam como princípios ativos. Tais substâncias são responsáveis por atividades biológicas produzidas pelas plantas geralmente em resposta aos estímulos bióticos ou abióticos (DUDAREVA et al., 2004). Dentre os compostos oriundos do metabolismo secundário, destacam-se os óleos essenciais, os quais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica (MORAIS, 2009). O conteúdo de metabólitos secundários pode variar consideravelmente de espécie para espécie, em função de parâmetros climáticos e de fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, colheita e, especialmente, a fase de desenvolvimento da planta na época da colheita (GOMES et al., 2011).

Mundialmente inúmeros estudos científicos vêm sendo feitos no sentido de validar as informações populares referentes ao uso de plantas medicinais. Nos últimos anos, cientistas e indústrias farmacêuticas aumentaram o interesse em desenvolver pesquisas com o objetivo de

descobrir novos princípios ativos e também aprimorar as descobertas de novas atividades farmacológicas de substâncias já conhecidas e oriundas de plantas (GURIB-FAKIM, 2006).

Pesquisas com plantas medicinais podem contribuir para melhorar o uso dos recursos vegetais pelas populações, bem como subsidiar indicadores para novas e eficazes drogas no combate a diversas patologias. Estudos visando uma exploração racional, com o intuito de contribuir para a conservação e manejo de muitas espécies, bem como o seu estabelecimento para o fornecimento de matéria-prima para exploração comercial, evita o extrativismo e reduz, conseqüentemente, o risco de extinção (MAIA, 2006).

Contudo, as informações técnicas ainda são insuficientes para a maioria das plantas medicinais, de modo a garantir qualidade, eficácia e segurança de uso das mesmas. A domesticação, a produção, os estudos biotecnológicos e o melhoramento genético de plantas medicinais podem oferecer vantagens, uma vez que torna possível obter uniformidade e material de qualidade que são fundamentais para a eficácia e segurança (CALIXTO, 2000).

1.2.2 *Lippia gracilis* Schauer

A família das Verbenaceae pertence à ordem das Lamiales e são caracterizadas por serem ervas, arbustos, cipós ou árvores de pequeno porte. A família ocorre em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, sendo os centros de maior diversidade as regiões subtropicais da América do Sul, além de possuir distribuição pantropical, mas principalmente neotropical, incluindo cerca de 36 gêneros e 1000 espécies (CRONQUIST, 1988).

No Brasil, ocorrem 16 gêneros e cerca de 300 espécies (SOUZA e LORENZI, 2012). Dentro o gênero *Lippia*, uma espécie que vem sendo estudada é a *L. gracilis* Schauer, conhecida popularmente como alecrim da chapada ou alecrim de tabuleiro. É uma planta aromática endêmica do Nordeste brasileiro, própria da vegetação semiárida, apresentando-se geralmente como um arbusto que pode alcançar de 1,0 a 2,0 m de altura, bem ramificado, com folhas pequenas e flores brancas, ambas bastante odoríferas (CAVALCANTI, 2006). A parte medicinal desta planta geralmente utilizada são as folhas juntamente com as flores, usada, popularmente, na forma de chá por infusão. As folhas de *L. gracilis* são ricas em óleo essencial contendo como constituintes majoritários o carvacrol, *p*-cimeno, timol, *g*-terpineno e 4-metoxi-acetofeno que conferem sua potente característica antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 2006; GOMES et al., 2011; ALBUQUERQUE et al., 2012).

Os metabólitos secundários presentes no óleo essencial de *L. gracilis* tem apresentado forte ação contra bactérias e fungos fitopatogênicos (OLIVEIRA et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2012, OLIVEIRA JUNIOR et al., 2013). Estudos demonstram também forte efeito inibidor do óleo essencial dessa espécie sobre bactérias como *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermis*, sendo relevantes do ponto de vista médico-sanitário (DANTAS et al., 2010 e NETO et al., 2010). O óleo ainda se mostrou promissor no combate a células tumorais e essa eficácia foi comprovada por Ferraz et al. (2013), o qual atribuiu a eficácia dessa ação ao timol. Desta forma se justifica a importância de estudos sobre práticas de manejo e cultivo que possam melhorar o crescimento e desenvolvimento de *L. gracillis*.

1.2.3 DEFICIÊNCIA HÍDRICA E MECANISMO DE TOLERÂNCIA DAS PLANTAS

Durante os últimos 400 bilhões de anos de evolução das plantas, com a pressão seletiva de ambientes secos e salinos fora dos mares, as variações no comportamento entre espécies começaram a evoluir, surgindo plantas mais adaptadas aos ambientes mais áridos. Sob condições de suprimento inadequado de água ou quando a demanda evapotranspiratória é excessiva, se faz necessária a presença de alguma estratégia em condições naturais, para garantir a sobrevivência do vegetal (DIETRICH et al., 2001).

No Bioma Caatinga, a vegetação está condicionada ao déficit hídrico, em decorrência da irregularidade das chuvas e de outros fatores, tais como altas temperaturas associadas à alta intensidade luminosa, que provocam uma demanda evaporativa alta e consequente dessecação do solo (TROVÃO et al., 2007). Vários mecanismos fisiológicos são acionados pelas plantas para adaptá-las ao déficit hídrico, e dentre esses destacam-se redução de área foliar; aceleração da senescência; fechamento dos estômatos nas horas mais quentes do dia; hidronastia, a fim de reduzir a área de captação de luz e a transpiração; aumento na capacidade de absorção de água por aprofundamento do sistema radicular; manutenção da turgescência por ajuste osmótico (TAIZ e ZEIGER, 2013).

A área foliar é um importante fator da produção e determina o uso da água pelas plantas e seu potencial de produtividade é severamente inibido quando exposta a déficit hídrico. O desenvolvimento foliar das plantas, em situações de déficit hídrico, pode estar relacionado com a pequena redução no tamanho das folhas individuais ou com a menor produção de folhas (FERNÁNDEZ et al., 1996).

O déficit hídrico induz o aumento na senescência das folhas (WRIGHT et al., 1983); isto ocorre porque o solo seco não pode fornecer nitrogênio suficiente para suprir as necessidades de crescimento da cultura e o nitrogênio do interior da planta é retranslocado das folhas mais velhas para os pontos de crescimento; entretanto, a intensidade da senescência depende da quantidade de nitrogênio no solo, das reservas de nitrogênio na planta e da demanda de nitrogênio dos pontos de crescimento (WOLFE et al., 1988).

A água é essencial para manutenção da turgescência celular e é responsável pelo aumento do volume celular, crescimento do vegetal, abertura dos estômatos e movimentos de folhas e flores (KRAMER e BOYER, 1995). O controle estomático tende a favorecer o vegetal, quando o déficit hídrico tem um curto tempo de duração. Porém, se o estresse for de longa duração, o fechamento estomático pode causar redução significativa na absorção de CO₂ (FARQUHAR e SHARKEY, 1982; TANG et al., 2002) e, conseqüentemente, reduzir drasticamente a produção.

O comportamento das células-guardas e a abertura estomática são afetados por fatores internos, como o conteúdo de água foliar, a concentração de CO₂ interno, e a atividade de reguladores de crescimento, especialmente ABA, auxina e citocinina (TANG et al., 2002; GHANNOUM et al., 2003). O déficit hídrico promove uma rápida redistribuição e acumulação do ABA nos tecidos da planta; assim ocorre um aumento na concentração do ABA no apoplasto das células-guarda, reduzindo a condutância estomática (HARTONG e DAVIES apud TUBEROSA et al.;1994). Pimentel e Rossiello (1995) afirmaram que um ligeiro ressecamento do solo, mesmo que não afete as relações hídricas da parte aérea, causa um aumento na concentração de ácido abscísico (ABA) no xilema, provavelmente produzido na coifa das raízes, levando ao fechamento estomático e à diminuição da expansão celular.

Sob alta incidência luminosa, falta de água e baixas concentrações de CO₂ no mesófilo foliar, os elétrons liberados na fotólise da água (no PS II), não são utilizados para a síntese de NADPH, e sim na produção das espécies ativas de oxigênio (EAO), causando degradação das proteínas do centro de reações dos fotossistemas, assim como outras proteínas e lipídeos (peroxidação de lipídeos) de membranas celulares (YORDANOV et al., 2000; LAWLOR e CORNIC, 2002). Para combater as EAO, as espécies vegetais produzem compostos com atividade antioxidante, tais como enzimas e outros produtos de natureza não enzimática como os carotenóides, porém o déficit hídrico pode alterar a atividade desses compostos.

Plantas hidratadas são ricas em enzimas e compostos antioxidantes que degradam as EAO. O déficit hídrico diminui a atividade dos sistemas enzimáticos (YORDANOV *et al.*,

2002) e de outros compostos antioxidantes (ascorbato, a glutationa, o tocoferol e outros carotenóides), acarretando no aumento da quantidade de espécies reativas de O₂, tais como radicais peróxido, oxigênio singlete e hidroxilas (CHAVES et al., 2002; NOCTOR et al., 2002) aumentando o efeito fotoinibitório (YORDANOV et al., 2000; FLEXAS & Medrano, 2002).

O efeito antioxidante dos carotenóides consiste nas reações destes pigmentos com radicais livres que levam à transferência de elétrons ou possíveis reações adicionais. Uma vez formado, o carotenóide no estado excitado (*CAR) pode facilmente retornar ao estado fundamental, dissipando energia na forma de calor ou a reação do *CAR com uma molécula de oxigênio pode levar à formação de um peróxido (UENOJO et al., 2007).

O déficit hídrico estimula a expansão do sistema radicular para zonas mais profundas e úmidas do perfil do solo. O desenvolvimento do sistema radicular nas camadas mais profundas do perfil possibilita às plantas, explorar melhor a umidade e a fertilidade do solo, dependendo das características morfológicas e genotípicas da planta (GOLDMANN et al., 1989). Correia e Nogueira (2004) em amendoim demonstraram que restrições hídricas, intensificaram a alocação de biomassa para o sistema radicular.

Porém, sob déficit severo observou-se redução no crescimento radicular do feijoeiro (GUIMARÃES et al., 1996), redução da fotossíntese líquida, da área foliar e da biomassa seca em espécies variadas de *Brachiaria* (MATOS et al., 2005). Rodrigues et al. (2017) obtiveram maiores valores para taxa de biomassa fresca e seca de parte aérea e do sistema radicular e da área foliar em plantas de almeirão (*Cichoriumintybus L.*) cultivadas em níveis de até 80% de água disponível, comprovando dessa forma como a água é importante para o crescimento vegetal.

O ajustamento osmótico através do acúmulo de solutos compatíveis tais como aminoácidos como a prolina; açúcares como sacarose, glicose e frutose, produzidos através da degradação do amido, é uma outra estratégia utilizada pela planta para se modular ao déficit hídrico. O ajustamento osmótico permite a manutenção da turgescência, crescimento e fotossíntese, sob baixos valores de potencial de água na folha (MORGAN, 1984). Com o ajustamento osmótico, a planta extrai mais água do solo, e perde menos para a atmosfera, podendo manter seus estômatos mais abertos para a assimilação de CO₂. Contudo, a velocidade de imposição do estresse é importante, pois, se o abaixamento do potencial de água for rápido, a planta não consegue se ajustar osmoticamente (TURNER e JONES, 1980). Estudos demonstram a importância da prolina como osmoprotetor em plantas quando submetidas a situações de déficit hídrico. O aumento de prolina em plantas submetidas a regimes de déficit

hídrico foi observado em *Triticum aestivum* L. (FUMIS e PEDRAS, 2002), *Lippia sidoides* (ALVARENGA et al., 2011), *Oryza sativa* L. (ZAIN et al., 2014).

Além das adaptações morfofisiológicas, o estresse hídrico também pode interferir nas concentrações de metabólitos secundários em plantas, sendo esta condição um fato que geralmente leva a um aumento na produção de vários tipos de metabólitos secundários, como os óleos essenciais (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

A influência da seca na produção de compostos químicos pelas plantas depende do grau e do período em que o estresse ocorre. A curto prazo, este efeito pode ser benéfico no que diz respeito ao aumento da concentração do metabólito de interesse. Porém a longo prazo, o efeito pode ser prejudicial (GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Meira et al. (2013) observaram em estudos com *Melissa officinalis*, uma maior produção no teor de óleo essencial em condições de estresse hídrico, com diminuição do crescimento, e da produção de biomassa fresca e seca das plantas. No tocante ao óleo de *L. gracilis* Schauer, sua composição química mostra flutuações quantitativas dos componentes majoritários, provavelmente devido a condições genéticas, em função do local e condições em que a planta é cultivada (GOMES et al., 2011). Resultados semelhantes também foram obtidos por Pinto et al. (2014), os quais obtiveram maior produtividade e maior concentração de citral no óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) cultivado em condições de estresse hídrico moderado e crescente.

O estudo dessas variáveis são importantes para compreender os mecanismos de tolerância a seca desenvolvidos pelas plantas de ambientes que estão sujeitos ao déficit hídrico, para que possamos estabelecer técnicas de manejo que possam conciliar o melhor aproveitamento de água com o melhor desenvolvimento da espécie vegetal, que no caso da *Lippia gracilis* tem relevante importância medicinal comprovada. Estudos como esse podem resultar em produção de matéria prima em larga escala com qualidade fitoquímica e arranjos produtivos locais inseridos dentro de uma cadeia produtiva com comercialização efetiva (SCHEFFER et al., 1990).

1.2.4 FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E DESENVOLVIMENTO VEGETAL SUBMETIDO A DÉFICIT HÍDRICO

A associação com micorrizas tem se demonstrada como uma importante relação ecológica que as plantas desenvolveram para enfrentar estresses bióticos e abióticos. As

micorrizas podem ser consideradas uma das mais bem sucedidas estratégias de bioproteção, tanto para a planta quanto para o próprio fungo (GIANINAZZI-PEARSON, 1996).

Micorrizas são associações simbióticas, de ocorrência generalizada, formadas por plantas e fungos. Entre os vários tipos de micorrizas, a arbuscular é a mais disseminada nos trópicos, sendo constituída pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), do Filo Glomeromycota, associadas com espécies de Briófitas, Pteridófitas, Gimnospermas ou Angiospermas (CAVALCANTE et al., 2009). A divisão Glomeromycota engloba os seguintes gêneros: *Diversispora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Pacispora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Glomus*, *Archaeospora*, *Geosiphon*, *Paraglomus* (BERBARA et al., 2006).

Essa associação é simbiótica, pelo fato de os organismos coexistirem em um mesmo ambiente físico, raiz e solo, e mutualística, porque, em geral, ambos os simbiontes se beneficiam da associação. Ela é considerada como mutualista nutricional, em que a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê à planta com nutrientes e água. Nesse sentido, essa simbiose amplia a capacidade de absorção de nutrientes por parte do simbionte autotrófico e, conseqüentemente, a sua competitividade interespecífica e produtividade (BERBARA et al., 2006).

As micorrizas são classificadas em ecto, endo e ectoendomicorrizas. Os fungos micorrízicos arbusculares são endomicorrizas. A simbiose é possível graças ao fato de o fungo produzir hifas intra e extra-radiculares capazes de absorver elementos minerais do solo e transferi-los ao ambiente radicular, onde são absorvidos. No espaço intra-radicular, a troca bidirecional ocorre principalmente em uma estrutura presente no córtex radicular, similar a um haustório excessivamente ramificado, os arbúsculos. Arbúsculos são estruturas formadas pela interação de hifas de FMA e a plasmalema de algumas células do córtex. Hifas extra-radiculares, por sua vez, são mais eficientes que raízes na captura de nutrientes, por serem estruturas extremamente longas e finas, com cerca de 2 µm de diâmetro enquanto pêlos radiculares apresentam valores de 10 a 20 µm de diâmetro e raízes laterais de 100 a 500 µm, desta forma hifas arbusculares podem explorar volumes do solo inatingíveis por estruturas radiculares (BERBARA et al., 2006).

Os fungos micorrízicos arbusculares ocorrem em plantas de interesse agrícola, em pastagens e florestas tropicais, praticamente em todos os ecossistemas terrestres (BAGYARAJ, 1991). A efetividade micorrízica varia com a espécie de planta e o FMA utilizado, sendo avaliada pela absorção de nutrientes e crescimento vegetal em relação ao controle não inoculado

(CAVALCANTE et al., 2009). Uma mesma espécie de planta pode também responder diferentemente a determinadas espécies de FMA (GHOLAMHOSEINI et al., 2013).

Os FMA têm sido estudados pela capacidade de ajudar no desenvolvimento e recuperação de plantas submetidas a estresse hídrico. Gholamhoseiniet *et al.* (2013) verificaram que sob estresse hídrico intenso, plantas de girassol inoculadas com os FMAs *Glomus mosseae* e *G. hoi*, apresentaram uma maior produção de matéria seca, sementes maiores e mais pesadas e maior rendimento de óleo do que as plantas sem micorrizas. Foi verificado também, que essa associação melhorou a absorção de nitrogênio e fósforo nas folhas e sementes em relação às plantas não inoculadas. Curiosamente, o rendimento do óleo de plantas inoculadas com *G. mosseae* sob os diferentes regimes de irrigação foram maiores que as de plantas inoculadas com *G. hoi*.

Ao pesquisar sobre a contribuição do FMA *Glomus claroideum* à tolerância de plantas de trigo sob déficit hídrico moderado ou severo e posterior reirrigação, Beltrano e Roncoo (2008) verificaram que o peso seco total e a concentração de clorofila foram significativamente maiores nas plantas micorrizadas quando comparadas com as não-micorrizadas e que o extravasamento de solutos foi significativamente menor nas plantas estressadas inoculadas em relação às não inoculadas. Os autores ainda observaram que o teor relativo de água da folha e a concentração de proteínas totais aumentaram em condições de estresse hídrico severo apenas nas plantas inoculadas. Após a re-irrigação, nas plantas micorrizadas, houve aumento do peso seco total e da concentração de clorofilas, além da recuperação da integridade das membranas celulares, quando comparadas com as plantas não-micorrizadas. Os autores concluíram por fim, que a colonização das raízes por *G. claroideum* poderia ser uma estratégia adequada para reduzir os efeitos deletérios do estresse hídrico e retardar a síndrome da senescência em trigo.

Em estudo realizado para investigar a eficácia da rosa de gerânio (*Pelargonium graveolens*) inoculadas com micorrizas (*G. mosseae* e *G. intraradices*) sob regimes de irrigação diferentes, Amiri et al., (2015) concluíram que a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares proporcionou melhor o rendimento e conteúdo do seu óleo essencial em relação às plantas não inoculadas. O conteúdo do óleo essencial aumentou significativamente quando as plantas estavam sob o déficit de água moderado (75% da capacidade de campo) em comparação com o tratamento inoculado no regime de irrigação de 100% da capacidade de campo. A colonização da raiz foi suprimida na condição de déficit grave de água (50% da capacidade de campo). Como observado neste trabalho, os sintomas causados pelo estresse hídrico são aliviados pela presença de fungos micorrízicos, desde que o estresse não seja severo.

Outros trabalhos realizados com plantas com potencial medicinal também foram realizados e a exemplo disso, Hazzoumi et al., (2015) avaliando o efeito de fungos micorrízicos arbusculares associados ao manjeriço (*Ocimum gratissimum L*) submetido ao estresse hídrico, observaram que as plantas de manjeriço associadas com esses FMAs tiveram uma maior taxa de fotossíntese, de crescimento parte aérea e raiz, maior teor relativo de água das folhas e de produtividade de óleo quando comparadas as plantas não inoculadas com FMA. Os autores justificaram que o aumento da produtividade do óleo estaria relacionado ao aumento dos tricomas nas folhas das plantas associadas com FMA. No gênero *Lippia*, a secreção de óleos essenciais tem sido associada à presença de tricomas, os quais normalmente são de formas variadas entre grupos vegetais, mas em geral uniformes dentro de um mesmo táxon (SANTOS et al., 2004).

O uso de plantas nativas associadas a fungos micorrízicos tem se demonstrado tão eficiente que sua influência na recuperação de áreas degradadas vem sendo investigada. Ao realizar um levantamento bibliográfico sobre o papel da atividade microbiana na recuperação das áreas degradadas, Rodrigues et al. (2014) relataram que sob diversas condições de degradação ambiental, a maioria das plantas superiores é colonizada por micorrizas, que podem proporcionar vários efeitos benéficos no crescimento das plantas. Nesse contexto, a associação com micorrizas, é uma estratégia importante na recuperação de áreas degradadas por tornar eficiente a aquisição de água e nutrientes do solo, melhorando o crescimento das plantas, além de participar da agregação e estruturação do solo.

A associação com fungos micorrízicos melhora o desenvolvimento de plantas sob estresse hídrico por causa do aumento da área de absorção do sistema radicular em função da exploração do solo pelas hifas extra- radiculares, o que permite uma maior captação de nutrientes e água (BUSSE e ELLES, 1985; BERBARA et al., 2006). Aumento do teor de água na folha e dos pigmentos fotossintetizantes, clorofilas a e b (HAZZOUMI et al., 2015), ajuste osmótico significativo com base nos solutos orgânicos incluindo açúcar solúvel, prolina e íons inorgânicos, incluindo potássio, cálcio e magnésio, em folhas de plantas micorrizadas têm sido relatados (WU e XIA, 2006). Também há relatos que os FMAs minimizaram o estresse oxidativo ocasionado por déficit hídrico moderado, por induzir aumento das enzimas antioxidantes, como a catalase, ascorbato peroxidase e glutatona peroxidase bem como de carotenóides, resultando em menor acúmulo de MDA (malondialdeído) e H₂O₂ em tecidos de plantas (AMIRI et al., 2015).

Poucos são os estudos envolvendo o comportamento das espécies da Caatinga, associadas com os fungos micorrizas arbusculares, face às condições de estresse a que são continuamente submetidas, fazendo-se necessário pesquisas que envolvam os aspectos fisiológicos que permitam o entendimento de como essas plantas sobrevivem e suas estratégias evolutivas quando associadas a micorrizas.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLIADINO, L.; JUNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian archives of biology and technology**, v.49, n. 4: p. 527-535, July 2006.

ALVARENGA, I.C.A.; QUEIROZ, G.A.; HONÓRIO, I.C.G.; VALADARES, R.V.; MARTINS, E.. Prolina livre em alecrim-pimenta sob estresse hídrico antes da colheita. **RRev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, especial, p.539-541, 2011.

ALVARENGA, I. C. A. Estresse Hídrico em Alecrim-pimenta (*Lippia Sidoides* Cham.): aspectos fisiológicos e produtivos / Ivan Caldeira Almeida Alvarenga. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2010. Dissertação.

AMIRI, R.; NIKBAKHT, A. NEMATOLLAH ETEMADI, N.. Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit.] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. **Scientia Horticulturae**. v. 197, p. 373–380, 2015.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacoly**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

BARBOSA, M. R. V.; SOTHERS, C.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; MESQUITA, A. C. Checkliste das plantas do Nordeste brasileiro: Angiospermas e Gymnospermas. Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia, 2006. 143p.

BAGYARAJ, D.J., Ecology of vesicular–arbuscular mycorrhizae. In: CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, vols. 5 e 6, p.180-208, 2008-2009.

BELTRANO, J.; RONCO, M. G.. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewate ring by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membran stability. **Braz. J. Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p. 29-37, 2008.

BERBARA, R. L.L.; FRANCISCO A. SOUZA, F. A. ; FONSECA, H. M.A.C. **Nutrição Mineral de Plantas**, SBCS, Viçosa, 432p, 2006. (ed. FERNANDES, M.S.). capítulo III - Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição

BUSSE, M.D., ELLIS, J.R. Vesicular–arbuscular mycorrhizal (*Glomus fasciculatum*) influence on soy bean drought tolerance in high phosphorus soil. **Journal of Botany**, Canadian, v. 63, p. 2290–2294, 1985.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, n. 2, p. 179- 189, 2000.

CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; VILELA DE RESENDE, M. L.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, v. 13, p. 51-80, 2006.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 5 e 6, p.180-208, 2008-2009.

CHARLES, D.J.; JOLY, R.J.; SIMON, J. E. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. **Phytochemistry**, Oxford. v. 29, n. 9, p. 2837- 2840, 1990.

CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSÓRIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T. & PINHEIRO, C.. How plants cope with water stress in the Field Photosynthesis and growth. **Ann. Bot.**, v.89, p. 907- 916, 2002.

CORREIA, K. G.; Nogueira, R. J. M. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 2, 2004.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. **New York Botanical Garden**, New York, NY, 555p, 1988.

DANTAS, L. I. S.; ROCHA, F. A. G.; MEDEIROS, F. G. M.; SANTOS, J. A. B. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre patógenos de importância na indústria de alimentos. **HOLOS**, Ano 26, Vol. 5. 2010.

DIETRICH, P.; SANDERS, D. & HEDRICH, R.. The role of ion channels in light- dependent stomatal opening. **J. Exp. Bot.**, v. 52, p. 1959- 1967, 2001.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology**, v.135, p.1893-1902, 2004.

FARQUHAR, G. D. & SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 33, p. 317-345,1982.

FERNÁNDEZ, C.J.; McINNES, K.J.; COTHREN, J.T. Water status and leaf area production in water-and nitrogen-stressed cotton. **Crop Science**, Madison, v.36, p.1224-1233, 1996.

FERNANDES, L.C.B.; ALBUQUERQUE, C.C.; SALES J., R.; OLIVEIRA, F.F.M.; GURGEL, E.P.; MESQUITA, M.V.; SILVA, M.D.S. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporas cuscannon ballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathologica**, 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.; MACHADO, W. J., PRATA A. P. N. ; COSTA, E. V.; MORAES, V. R. S.; NOGUEIRA,P.

C. L.; BEZERRA, D. P. Cytotoxic effect of essential oil of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). **Phytomedicine**, v. 20, p. 615– 621, 2013.

FUMIS, T. F. PEDRAS, J. F.. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 449-453, abr. 2002.

FRIZZONE, J. A. Planejamento da irrigação com uso de técnicas de otimização. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 1, p. 24-49, 2007.

FOLLI-PEREIRA, M. S. ; MEIRA-HADDAD, L.S. ; BAZZOLI, D. M. S. ; KASUYA, M.C.M. . MICORRIZA ARBUSCULAR E A TOLERÂNCIA DAS PLANTAS AO ESTRESSE. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** (Impresso), v. 36, p. 1083-1091, 2012.

GUIMARÃES, F. A. V. SANTOS, E. Desenvolvimento do meloeiro associado a fungos micorrízicos arbusculares e cultivado em substrato pó de coco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.1, p.54-59, 2010

TANG, M.; CHEN, H.; HUANG, J.C. & TIAN, Z.Q. AM fungi effects on the growth and physiology of *Zea mays* seedlings under diesel stress. **Soil Biol. Biochem.**, 41:936-940, 2009b.

GHANNOUM, O.; CONROY, J. P.; DRISCOLL, S. P.; PAUL, M. J.; FOYER, C. H. & LAWLOR, D. W.. Nonstomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C₄ species. **New Phytol.**, v. 159. p.599- 608, 2003.

GIANINAZZI-PEARSON, V. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. **The PlantCell**, v.8. p.1871–1883, October 1996.

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

GOLDMANN, I.L.; CARTER, T.E. Jr., PATTERSON, R.P. A detrimental interaction of subsoil aluminum and drought stress on the leaf water status of soybean. **Agronomy Journal**, Madison, v.81, n.3, p.461-463, 1989.

GHOLAMHOSEINI, M.; GHALAVAND, A.; DOLATABADIAN, A.; JAMSHIDI, E.; KHODAEI-JOGHAN, A. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. **Agricultural Water Management**, v. 117, p. 106–114, 2013.

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**, São Paulo, V. 36, 2011.

GUIMARÃES, C. M. **Relações Hídricas. In: Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil.** Araujo, R. S.; Rava, C. A.; Stone, L. F.; Zimmermann, M. J. de O. (Ed.), Piracicaba, p. 139-167, 1996.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday. **Molecular Aspect of Medicine**, n. 27, p. 1-93, 2006.

HARTUNG, W. S. e DAVIES, W. J.. Factors that regulate abscisic acid concentrations at the primary site of action at the guard cell. **J. Exp. Bot.**, v. 49, p. 361-367, 1998.

HEINZMANN, B.M.; BARROS, F.M.C. Potencial das plantas nativas brasileiras (mill.) *N. E. Brown* (Verbenaceae). **Saúde**, Santa Maria, v.33, n.1, p 43-48, 2007.

HAZZOUMI, Z., YOUSSEF MOUSTAKIME, Y.; EL HASSAN ELHARCHLI, E. H. AND JOUTEI, K. A.. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L). **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 2, n.10, 2015.

ILLAMIZAR, C. J. M.. Plasticidad fenotípica en plantas de *Lippia dulcis* (Verbenaceae) sometidas a déficit hídrico. **Acta Biológica Colombiana**, v.17, n.2, 2012.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Coautoria de Walter S. Judd. 3rd ed. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates., 2008.

KRAMER, P. J. & BOYER, J. S.. Water relations of plants and soils. **Academic Press, New York**, 1995.

LAWLOR, D. W. & CORNIC, G.. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant Cell Environ.**, v. 25, p. 275-294, 2002.

LEÃO, B. A.; FERREIRA, M.R.C.; JARDIM, M.A.G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n.1, p. 21-25, 2007.

LONG S. P., HUMPHRIES S. & Falkowski, P. G. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, 45: 633-62.

LOPES, C.R. et al. **Folhas de chá**. Viçosa: UFV, 2005.

MAIA, S. S. S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial em *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Lamiaceae**. 2006, 150f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, lavra- MG.

MARTINS, M. O.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; NETO, A. D. A.; SANTOS, M. G.. Growth of the neem (*Azadirachta indica* a. juss. - Meliaceae) seedlings under water déficit. **Revista Árvore**, v.34, n.5, p.771-779, 2010.

MATTOS, J. L. S.; GOMIDE, J. Alberto; MARTINEZ, Y. H., ALBERTO, C.. Effect of deficit water deficit and flooding on the growth of *Brachiaria* species in the field. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n. 3, p.755-764, 2005.

MELO, Juliana Maria Medrado. **Híbridos de meloeiro inoculados com fungos micorrízicos arbusculares e submetidos ao estresse hídrico no Vale do Submédio do São Francisco.** /

Juliana Maria Medrado Melo. -- Juazeiro, 2017. 98 f. il. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais. Campus III, 2017.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. v. 27, n. 2 (Suplemento - CD Rom), p.S4050-S4063. 2009.

MORGAN, J. M.. Osmoregulation and water stress in higher plants. Annu. **Rev. Plant Physiol.**, v. 35, p. 299- 319, 1984.

MORVANT, J. K.; DOLE, J. M.; COLE, J. C. Irrigation frequency and system affect Poinsettia growth, water use, and runoff. **Hort Science**, Alexandria, v. 33, p. 42-46, 1998.

MOURA, A. R.; NOGUEIRA, R. J.M. C.; SILVA, J. A. A. ; LIMA, T. V. Water relations and organic solutes in young plants of *Jatropha curcas L.* under different water regimes. **Ciência Florestal**, Vol.26(2), p.345(10), 201, 2016.

NETO, R. M.; MATOS, F.J.A; ANDRADE, V. S; MELO, M.C.N.M.;CARVALHO, C.B.M; GUIMARÃES, S. B.; PESSOA, O.D.L.; SILVA, S. L; SILVA S. F. R.;VASCONCELOS. The essential oil from *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae, in diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacologia Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.20, n. 2, p.261-266, Abr./Mai. 2010.

NOCTOR, G.; VELJOVIC-JOVANOVIC, S.; DRISCOLL, S.; NOVITSKAYA, L. e FOYER, C. H.. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? **Ann. Bot.**, v.89, p. 841- 850, 2002.

OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; SANTOS, R. B.; REIS, F. O.; MATSUMOTO, S. T.; BISPO, W. M. S.; MACHADO, L. P.; OLIVEIRA, L. F. M. Efeito fungitóxico do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* RADDI) sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 15, n. 1, p. 150-157, 2013.

OLIVEIRA, O. R.; TERAQ, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECO, R. ALBUQUERQUE, C. C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes

encontrados na micropropagação de plantas. **Rev. Ciên. Agron. Fortaleza**, v. 39, n. 1, p. 94-100, 2008.

PIMENTEL, C.; ROSSIELO, R.O.P. Entendimento sobre relações hídricas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL: O MILHO EM PERSPECTIVA, 1995, Belo Horizonte, MG. **Anais...** EMBRAPA/CNPMS. v.1. 449p. p.131-146, 1995.

PINTO D.A.; MANTOVANI E.C.; MELO E. C.; SEDIYAMA G.C.; VIEIRA G.H.S. Produtividade e qualidade do óleo essencial de capim-limão, *Cymbopogon citratus*, DC. submetido a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2014.

RODRIGUES, L. G. S. M.; GOI, S. R.; RODRIGUES, F. M. Associação micorrízica como uma estratégia para o estabelecimento de espécies em áreas impactadas. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Macapá, v.1, n. 1, p.7-16, abr. / jun. 2014.

RODRIGUES, R. R.; PIZETTA, S. C.; SILVA, N. K. C.; RIBEIRO, W. R.; JAEGGI, M. E. P. C.; SILVA, S. F. S.; REIS, E. F.. Taxa de crescimento de almeirão submetido ao déficit de água no solo. **Revista UniVap**, v. 22, n.40, 2017.

SCHEFFER, M. C.; RONZELLI JÚNIOR, P. Influência de diferentes níveis de adubação orgânica sobre a biomassa e teor de óleos essenciais de *Achillea millefolium* L. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 11., 1990, João Pessoa. **Resumos...** João Pessoa: SBPM, 1990. PN. 4.12.

SILVA, F.; PARK, K.J. Plantas Mediciniais: Cultivo orgânico, preservação ambiental e saúde. **Revista Ação Ambiental**, Viçosa, n. 28, p.30-33, 2005.

SIMÕES, C.M.O., SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A, PETROVICK, P.R. (Eds). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS, Ed. Da UFSC, 1999. 821p.

SOUZA AVV; SILVA NGB; SILVA FP ; SANTOS US; SANTOS MC; OLIVEIRA, FJV. 2012. Produção de alecrim de tabuleiro utilizando diferentes doses de adubação orgânica em condição de estresse hídrico. **Horticultura Brasileira**, 2012.

SOUZA, V.C. e LORENZI, H. **BOTÂNICA SISTEMÁTICA: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ªed. Editora Plantarum. 768 p., 2012.

TABARELLI, M. &VICENTE, A. 2002. Lacunas de conhecimento sobre as plantas lenhosas da caatinga. In: Sampaio, E. V. S. B., Giuliatti, A. M., Virgínio, J. & Gamarra-Rojas, C. F. L., (Ed.). *Vegetação & flora da caatinga*. Recife, Associação Plantas do Nordeste/Centro Nordestino de Informação sobre Plantas, pp. 25-40.

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

Tang, A. C.; Kawamitsu, Y.; Kanechi, M. & Boyer, J. S.. Photosynthetic oxygen evolution at low water potential in leaf discs lacking an epidermis. **Ann. Bot.**, v. 89, p. 861- 870, 2002.

TROVÃO, D. M. B. M; FERNANDES, P. D.; ANDRADE, L. A.; NETO, J. D. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.3, p.307–311, 2007.

TURNER, N. C. & JONES, M. M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Turner, N. C. e Kramer, P. J. (Ed.) Wiley Publ., New York. p. 87-103, 1980.

UENOJO, M.; MARÓSTICA, R. J.; PASTORE, MÁRIO, G. M.. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma **Quím. Nova**: São Paulo, v.30, n.3, 2007.

VON CAEMMERER S.. *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publ., Collingwood, 2000.

WOLFE, D.W.; HENDERSON, D.W.; HSIAO, T.C. et al. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize: I. Leaf area duration, nitrogen distribution, and yield. **Agronomy Journal**, Madison, v.80, p.859-864, 1988.

WRIGHT, G.C.; SMITH, R.G.; McWILLIAM, J.R. Differences between two grain sorghum genotypes in adaptation to drought stress. I. Crop growth rate and yield response. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.34, p.615- 626, 1983.

WU, Q.-S., XIA, R.X. Arbuscular mycorrhiza fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well water and water stress conditions. **Journal of Plant Production**, v. 8, 47–55, 2006.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T.. Plant response to drought, acclimation, and stress tolerance. **Photosynthetica**, v.38, p. 171- 186, 2000.

ZAIN, N. A. M.; ISMAIL, M. R.; PUTEH, A.; MAHMOOD, M. ; ISLAM, M R.. Impact of cyclic water stress on growth, physiological responses and yield of rice ("Oryza sativa" L.) grown in tropical environment. **Ciência rural**, Vol.44(12), pp.2136-2141, 2014.

**INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Lippia gracilis* SUBMETIDA A DIFERENTES REGIMES
HÍDRICOS**

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Gigaspora albida* e *Glomus etunicatum*) no desenvolvimento de *Lippia gracilis* submetida a diferentes regimes hídricos. As mudas já micorrizadas foram submetidas a 4 regimes hídricos: 100%, 75%, 50% e 25% da capacidade de vaso, durante 30 dias. Após os 15 dias e 30 dias de tratamento, o desenvolvimento e a tolerância das plantas

foram determinados através da quantificação das variáveis. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cada bloco contendo todos os tratamentos (4 regimes hídricos x 2 tratamentos com micorrizas e 1 sem micorriza). O regime hídrico de 75% da capacidade de vaso proporcionou um bom desenvolvimento para o crescimento das plantas de *L. gracilis* associadas com fungos micorrízicos arbusculares. A *Lippia gracilis* conseguiu manter-se hidratada independente de estar associado ou não com os FMAs. A produção de prolina nos 15 primeiros dias da implantação dos regimes nos grupos inoculadas com FMAs foi maior nos tratamentos de menor capacidade de vaso, no entanto, no segundo tempo o grupo controle demonstrou maior produção deste osmorregulador. Os níveis de carboidratos solúveis totais diminuíram com o tempo de exposição ao déficit hídrico. Os fungos micorrízicos arbusculares proporcionaram maior produção de biomassa da parte aérea e área foliar até nos regimes de menor disponibilidade hídrica. Os FMAs promoveram também o incremento dos pigmentos fotossintetizantes. O déficit hídrico prolongado reduziu a colonização micorrízica e o incremento das demais variáveis.

Palavras-chaves: déficit hídrico, colonização micorrizica, osmorreguladores, *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum*.

INFLUENCE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN THE DEVELOPMENT OF *Lippia gracilis* SUBMITTED TO DIFFERENT WATER REGIMES

ABSTRACT

The present work had the objective of evaluating the influence of arbuscular mycorrhizal fungi species on the development of *Lippia gracilis* submitted to different water regimes. The mycorrhizal seedlings were submitted to four water regimes: 100%, 75%, 50% and 25% of pot capacity for 30 days. After 15 days and 30 days of treatment, the development and tolerance of the plants were determined by quantifying the variables. The experimental was a randomized complete block design (RCBD), with each block containing all treatments (4 water regimes x 2 treatments with mycorrhizae and 1 without mycorrhizal). The data were analyzed statistically by analysis of variance, and the means were compared using the Tukey test at 5% significance with the aid of the statistical program Assistat® version 7.7. The water

regime of 75% of pot capacity provided good development for the growth of *L. gracilis* plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *L. gracilis* was able to remain hydrated regardless of whether it was associated or not with AMFs. The proline production in the first 15 days of the implantation of the regimens in the groups inoculated with AMFs was higher in the treatments of lower capacity of pot, however, in the second time the control group demonstrated greater production of this osmoregulator. The levels of total soluble carbohydrates decreased with the time of exposure to the water deficit. The arbuscular mycorrhizal fungi provided greater biomass production of shoot and leaf area even in the regimes of lower water availability. AMFs also promoted the increase of photosynthetic pigments, with the species *G. albida* high lighting chlorophyll a while *G. etunicatum* was highlighted in the production of chlorophyll b. The prolonged water deficit reduced the mycorrhizal colonization and the increment of the other variables.

Keywords: water deficit, mycorrhizal colonization, osmoregulators.

INTRODUÇÃO

Na Caatinga muitas espécies vegetais são utilizadas popularmente com fins medicinais. Estas plantas têm sido investigadas pela produção de metabólitos secundários e seus princípios ativos e dentre essas espécies destacamos *Lippia gracilis* Schauer, conhecida popularmente como alecrim da chapada ou alecrim de tabuleiro, (ALBUQUERQUE et al., 2012). Essa espécie produz um óleo essencial que apresenta forte ação contra bactérias e fungos fitopatogênicos (ALBUQUERQUE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; FERNANDES et al., 2015), efeito inibidor sobre crescimento de bactérias relevantes do ponto de vista médico-sanitário (DANTAS et al., 2010 e NETO et al., 2010), sendo promissor também, no combate a células tumorais (FERRAZ et al., 2013).

L. gracilis é endêmica da Caatinga e como todas as espécies que habitam esse bioma, apresentam mecanismo de adaptação a estresses ambientais, tais como déficit hídrico. Várias respostas fisiológicas são acionadas pelas plantas a esse tipo de estresse, tais como redução de área foliar; aceleração da senescência; fechamento dos estômatos nas horas mais quentes do dia; hidronastia; aumento na capacidade de absorção de água por aprofundamento do sistema radicular e manutenção da turgescência por ajuste osmótico (TAIZ e ZEIGER, 2013). Além das

adaptações morfofisiológicas, o estresse hídrico também pode interferir na produção de óleos essenciais, podendo o fator estressante ser um propulsor para aumento desse produto (GOBBONETO e LOPES, 2007). A composição química do óleo essencial de *L. gracilis* mostra flutuações quantitativas dos componentes majoritários, provavelmente devido a fatores genéticos, ao local e condições em que a planta é cultivada (GOMES et al., 2011).

Outra importante estratégia que vem sendo investigada é a associação simbiótica das plantas sob estresse com fungos micorrízicos arbusculares – FMAs (GIANINAZZI-PEARSON, 1996; MOUCHESHI et al., 2012; FOUAD et al., 2014; Yang et al., 2014). Os FMAs, mesmo em plantas submetidas a déficit hídrico, contribuem para o incremento da produção de matéria seca total, absorção de nitrogênio e fósforo nas folhas, rendimento de óleos essenciais, aumento da concentração de clorofila, do teor relativo de água da folha e concentração de proteínas totais (BELTRANO e RONCOO, 2008; GHOLAMHOSEINI et al., 2013; HAZZOUMI et al., 2015). A associação micorrízica proporciona um ajuste osmótico significativo com base nos solutos orgânicos incluindo açúcares solúveis, prolina e íons inorgânicos em folhas (WU e XIA, 2006). Também há relatos que os FMAs minimizam o estresse oxidativo ocasionado por déficit hídrico moderado, por induzir aumento em compostos antioxidantes tais como carotenóides resultando em menor acúmulo de MDA (malondialdeído) e H₂O₂ em tecidos de plantas (AMIRI et al., 2015).

Sabendo-se que o bioma Caatinga é caracterizado pelas irregularidades de chuvas, sendo um fator limitante para o cultivo de culturas de subsistência, trabalhos que associem busca de métodos de convivência com a seca de espécies com potencial econômico, a exemplo das produtoras de óleos essenciais, são importantes, pois disponibilizam informações sobre o entendimento de reações das atividades metabólicas que proporcionam o manejo e o cultivo de populações de plantas selvagens ou nativas de forma mais adequada (SOUSA e SOUSA, 2017). Portanto estudos dessa natureza, com plantas já adaptadas às condições do semiárido possibilitam que produtos de interesse econômico possam ser produzidos por produtores locais, gerando renda para região.

Diante dos poucos estudos sobre o efeito da associação de micorrizas com plantas do bioma Caatinga e da importância socioeconômica de *Lippia gracilis*, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as respostas de crescimento e desenvolvimento de *L. gracilis* inoculadas com espécies de fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a diferentes regimes hídricos.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, em casa de vegetação. O clima da região segundo a classificação de Koppen, é do tipo BSw'h, caracterizado por ser muito quente e seco, com estação de chuva no verão se atrasando para o outono. A temperatura média anual da região é em torno de 27,6 °C, com umidade relativa do ar de 68,9% e precipitação pluviométrica anual irregular com média de 673,9 mm (AMARO FILHO, 1991).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), *Glomus etunicatum* e *Gigaspora albida*, foram individualmente misturados ao substrato, composto de solo natural e areia lavada na proporção 3:1(v/v), previamente autoclavado a 120°C, a pressão de 1,5 atm por 3h (SOUZA et al.; 2015).

As mudas de *L. gracilis*, utilizadas no experimento, foram provenientes de estacas coletadas de plantas matrizes de uma área de vegetação nativa, no município de Felipe Guerra, RN. No momento do corte, as estacas tiveram suas bases mergulhadas em água por 24 horas e em seguida, a água foi trocada por uma solução contendo ácido indolburtílico (AIB) a uma concentração de 1,5 mg L⁻¹, onde permaneceram por 10 minutos. Após esse procedimento, as estacas foram plantadas em vasos de polietileno com capacidade para 8 dm³, contendo o substrato supracitado.

As estacas foram regadas diariamente no turno matutino e vespertino, de acordo com a capacidade de vaso previamente determinada, durante o período de estabilização das mesmas que durou 40 dias. As condições nutricionais do substrato foram mantidas mediante aplicação de solução nutritiva (HOANGLAND e ARNON, 1950), em intervalos de oito dias, durante todo o ciclo. As mudas já micorrizadas, foram submetidas a 4 regimes hídricos (100%, 75%, 50% e 25% da capacidade de vaso) durante 30 dias. Para fins de comparação, foram avaliados os mesmos regimes hídricos sem micorrizas.

A capacidade de vaso foi estabelecida mediante o método de capilaridade sendo determinada a partir da seguinte equação: $CV = \frac{(PSH + PE) - (PSS + PE)}{PSS} \times 100$. Em que CV = capacidade de vaso (%), PSH = Peso do solo úmido (g), PE = Peso do recipiente no momento da pesagem (g), PSS = Peso do solo seco (g). Para manutenção da CV, as plantas foram pesadas diariamente em balança digital, efetuando-se a reposição de água para manutenção das capacidades máxima de retenção de água de cada tratamento.

Após os 15 e 30 dias de tratamento, o desenvolvimento e a tolerância das plantas foram determinados através da quantificação das seguintes variáveis: biomassa seca de parte aérea e raiz; relação raiz/ parte aérea; teor relativo de água da folha (TRA); área foliar; carboidratos

solúveis totais; prolina; clorofila a e b; carotenóides totais e colonização micorrízica. O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), sendo 4 (regimes hídricos) x 3 (2 espécies de micorrizas +1 tratamento sem micorriza para cada regime), totalizando 12 tratamentos e 4 repetições, sendo cada uma dela representada por um bloco. Os dados foram analisados estatisticamente por análise de variância, e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico Assistat® versão 7.7.

Para obtenção da biomassa seca dos órgãos vegetais, parte aérea e raízes foram secos na estufa de circulação forçada a uma temperatura de 70 °C até obtenção de peso constante, para posterior pesagem. Foram utilizados os dados da matéria seca para calcular a relação raiz/ parte aérea, segundo Benincasa (1988).

Para avaliar o TRA, com auxílio de um perfurador de folha, foram retirados da 4ª folha, três discos foliares de 10 mm de diâmetro, os quais foram imediatamente pesados para obtenção do peso fresco. Em seguida, os discos foram colocados em placa de Petri forrada com papel de filtro embebida com 3 mL de água destilada, onde permaneceram por 24 horas no escuro. Após esse período, as folhas foram novamente pesadas para determinação do peso túrgido e levadas à estufa para secagem a 70 °C, até obtenção de peso constante. Após secos, os discos foram pesados para determinação do peso seco. O TRA foi quantificado pela seguinte fórmula: $TRA = \frac{Pf - Ps}{Pt - Ps} \times 100$, expresso em percentagem (%), onde Pf, Ps e Pt correspondem respectivamente ao peso fresco, peso seco e peso túrgido (SLAVICK, 1979).

A área foliar das plantas foi mensurada em folhas frescas através de um medidor de área foliar do tipo esteira, marca CID Bio Science modelo CI 202.

Para quantificação dos carboidratos solúveis totais, as amostras de matéria seca do tecido vegetal das folhas e raízes foram pesadas (0,5g) e maceradas em etanol a 80%. Em seguida, o extrato foi submetido à fervura a 100 °C em banho-maria, durante 1 h. Os extratos foram centrifugados a 10.000 rpm, por 5 min. Após a centrifugação foram coletados os sobrenadantes e juntos a estes foram acrescidos clorofórmio e água. Essa mistura permaneceu em repouso por 60 min para obtenção da separação das fases. A quantificação de açúcares solúveis totais foi realizada através de análise colorimétrica, utilizando-se o método do fenol-sulfúrico, com leitura em espectrofotômetro (Micronal, Modelo B572) a 490 nm de absorvância, segundo a metodologia proposta por Dubois et al. (1956).

A extração dos pigmentos fotossintéticos foi realizada conforme Welburn (1994), com algumas modificações. Das folhas foram retirados 50 mg de tecido, o qual foi macerado em 10mL de acetona 80% com CaCO₃ (Carbonato de Cálcio) por 2 min. Em seguida as amostras

foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min. Logo após, foram determinadas as absorvâncias dos extratos em espectrofotômetro (Micronal, Modelo B572). A concentração de pigmentos foi calculada de acordo com a equação conforme descrito abaixo:

$$\text{Clor}_a = (12,25 \cdot A_{663} - 2,79 \cdot A_{645}) \cdot \text{FD}$$

$$\text{Clor}_b = (21,50 \cdot A_{645} - 5,10 \cdot A_{663}) \cdot \text{FD}$$

$$\text{Carotenóides} = (1000 \cdot A_{470}) - (1,82 \cdot \text{Clor } a) - (85,02 \cdot \text{Clor } b) / (198) \cdot \text{FD}$$

Onde: A_{470} = absorvância a 470 nm; A_{663} = absorvância a 663 nm; A_{645} = absorvância a 645 nm; FD = fator de diluição.

Os níveis de prolina foram quantificados de acordo com Bates *et al.* (1973), utilizando matéria seca das folhas. Para o procedimento, a matéria seca foi macerada (750 mg) e colocada em tubo de ensaio contendo 15 mL de ácido 5- sulfosalicílico e centrifugada a 15.000 rpm por 10 minutos. Em seguida, uma mistura de 3 mL do sobrenadante + 3 mL de ácido acético + 3 mL de ninidrina ácida foi aquecida em banho-maria por 1 hora a 100°C. Após o desenvolvimento da cor, as amostras foram resfriadas em banho de gelo, sendo adicionadas às mesmas, 6 mL de tolueno para separação das fases. A fração incolor foi desprezada e a leitura das amostras coradas foi realizada em espectrofotômetro a 520 nm.

Para determinação da porcentagem de colonização micorrízica, raízes finas (< 2 cm) foram diafanizadas em KOH 10% em banho-maria durante 30 minutos, acidificadas em HCl 5% por 1 minuto, e em seguida coloridas com azul de tripano em lactoglicerol 0,05% a 90 °C em banho-maria por 15 minutos (PHILLIPS e HAYMAN, 1970). A taxa de colonização foi estimada pelo método da lâmina (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980). Segmentos de raízes, de aproximadamente 1 cm de comprimento, foram avaliados para a colonização micorrízica sob o microscópio óptico, sendo analisados 100 segmentos por repetição. Considerou-se raiz colonizada, todos os fragmentos nos tratamentos inoculados ou não, que continham pelo menos uma estrutura micorrízica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No primeiro tempo (15 dias de tratamento) as plantas inoculadas com os FMA desenvolveram uma maior biomassa, exceto as plantas associadas com o *G. etunicatum* irrigadas com 25 % da CV. O fungo *G. albida* contribuiu de maneira mais eficiente para o ganho de biomassa nas plantas sob estresse mais severo. No segundo tempo (30 dias de tratamento)

observa-se que as plantas inoculadas com FMA ainda apresentam maior biomassa nos regimes de 100% e 75% da CV, com o *G. albida* contribuindo de maneira mais eficiente nestes regimes de rega. Neste mesmo período houve diminuição do incremento da biomassa nos regimes hídricos mais severos (Figura 1).

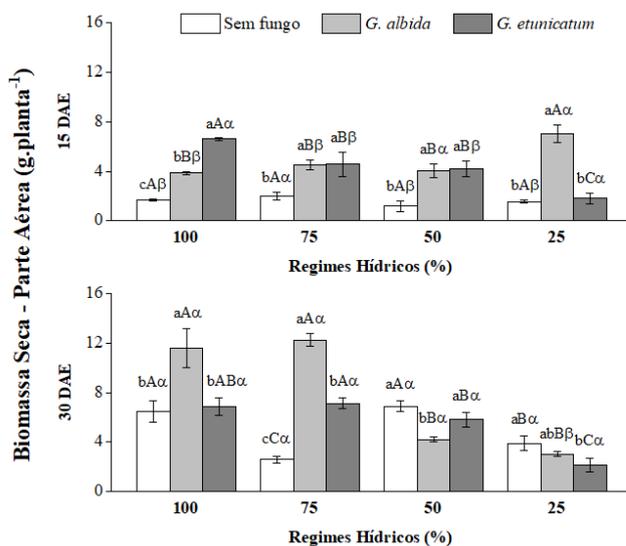


Figura 1- Biomassa seca da parte aérea de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécies e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

Nos primeiros 15 dias, as plantas submetidas aos maiores déficits hídricos (50% e 25%) apresentaram maior biomassa de raiz quando associadas com *G. albida*. Essa espécie fúngica, também promoveu maior incremento de biomassa radicular nas plantas sem restrição hídrica e com déficit hídrico moderado (75%), aos 30 dias. No segundo tempo, as plantas submetidas ao regime hídrico mais severo, mesmo que associadas aos fungos, apresentaram biomassa radicular mais reduzida.

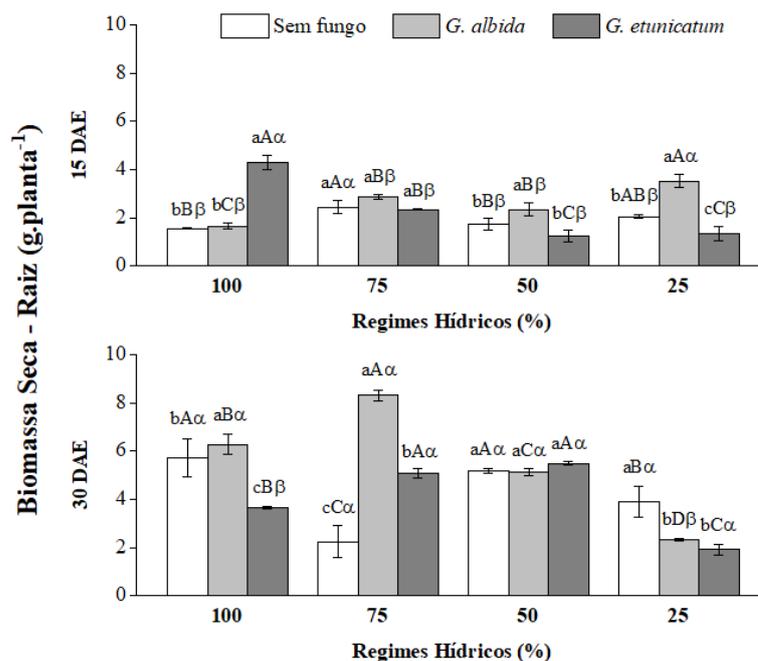


Figura 2 - Biomassa seca da raiz de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

A associação micorrízica, em condições limitantes, tem demonstrado ser um importante mecanismo através do qual a maioria das plantas melhoram a obtenção de água e nutrientes minerais (MOUCHESHI et al., 2012). O melhor desenvolvimento da biomassa da parte aérea nas plantas micorrizadas, nos regimes hídricos de maior disponibilidade hídrica, pode estar relacionado ao fato dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) promoverem uma maior absorção de nutrientes, e nesse trabalho, esse fato pode ter contribuído para uma maior produção de clorofilas (Figura 6), e conseqüentemente maior eficiência fotossintética, gerando mais fotoassilidados, os quais foram preferencialmente translocados para parte aérea. A menor produção de biomassa seca da parte aérea nas plantas não inoculadas, tal como aqui observado pode ser atribuída, em princípio, à ausência da associação micorrízica. Fato semelhante foi também observado em maracujazeiro amarelo associados a *G. albida* e *G. etunicatum* (Cavalcante et al., 2001) em manjeriço colonizado por *Glomus intraradices* e *G. clarum* Hazzoumi et al., 2015; Russomanno et al., 2008). Segundo os autores as plantas que também foram submetidas ao déficit hídrico, tiveram seu desenvolvimento beneficiado pela inoculação

com FMAs enquanto as plantas não inoculadas restringiram a produção de folhas e a expansão foliar.

Através da relação raiz/parte aérea foi possível confirmar que os maiores incrementos de raiz foram nos tratamentos sem fungo com 75, 50 e 25% da CV, aos 15 dias e no inoculado com *G. albida* com 50% da capacidade de vaso, aos 30 dias. Nesses tratamentos, os valores obtidos foram superiores a 1 (Figura 3), confirmando, portanto, que as raízes se desenvolveram mais em relação à parte aérea.

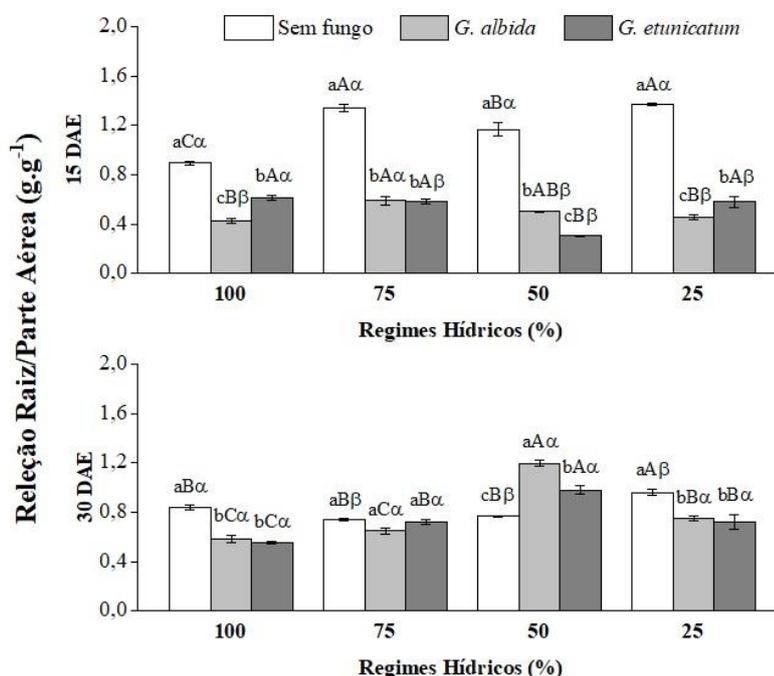


Figura 3 – Relação raiz/parte aérea em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

O acúmulo de biomassa acima do solo é observado em plantas colonizadas por micorrizas submetidas a déficit hídrico (YANG et al., 2013). Plantas não associadas à FMAs e submetidas ao déficit hídrico têm como uma das estratégias intensificar a alocação de biomassa para o sistema radicular promovendo redução na alocação de biomassa para as folhas e caules, como relatado em pesquisas com *Arachis hypogaea* (CORREIA e NOGUEIRA, 2004).

De maneira geral, em ambos os tempos as plantas associadas com os fungos apresentaram maior área foliar. Nos primeiros 15 dias, as plantas inoculadas com *G. etunicatum* quando submetidas ao déficit hídrico apresentaram maior área foliar quando comparadas com

as plantas não inoculadas. No segundo tempo, nos regimes com déficit hídrico, as plantas inoculadas com *G. albida* foram as que apresentaram melhores resultados (Figura 4).

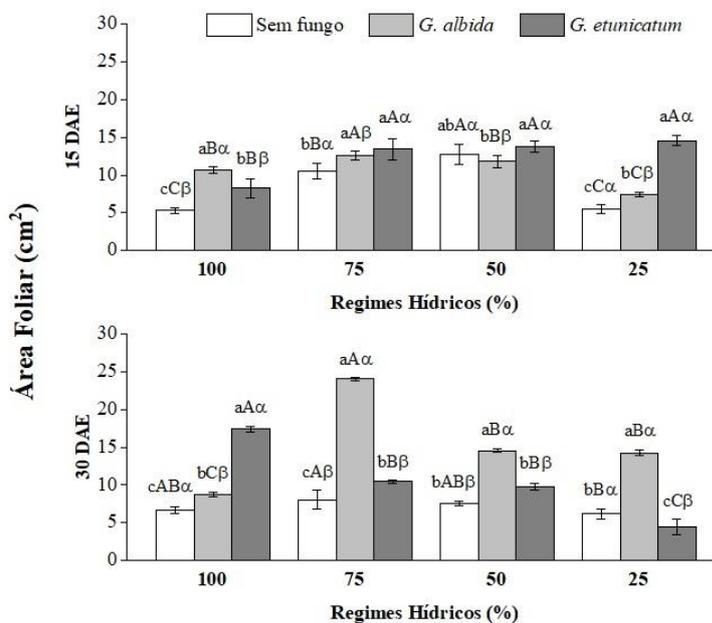


Figura 4 – Parte aérea em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

As plantas do grupo controle, em todos os tratamentos, apresentaram menor área foliar. Apesar das restrições hídricas, as plantas colonizadas não se utilizaram do mecanismo de redução da sua área foliar para diminuir as perdas de água por evapotranspiração, visto que a hidratação do seu tecido foliar foi mantida como comprovado pelos resultados de TRA (Figura 5).

A área foliar é representada pela superfície fotossinteticamente ativa da planta, sendo o seu crescimento intimamente relacionado com a produção vegetal (PIMENTEL, 2004). O incremento de área foliar é resultado do direcionamento da biomassa para o alargamento das folhas, aumentando o potencial fotossintético total da planta, que justifica o fato das plantas colonizadas terem desenvolvido uma maior biomassa da parte aérea bem como maior percentual de pigmentos fotossintetizantes (Figura 6). Quando a área foliar é restringida, a quantidade de biomassa seca da parte aérea é menor, uma vez que o aproveitamento da energia luminosa é alterado em consequência da diminuição da superfície responsável pela interceptação da radiação luminosa (NOGUEIRA, 1997).

No primeiro tempo (15 dias), os regimes hídricos que proporcionaram melhor TRA foram os de 100 e 75% CV para todos os grupos de plantas. No regime de 50% da CV, plantas inoculadas com *G. etunicatum* apresentaram maior hidratação quando comparadas às plantas não micorrizadas e às colonizadas pelo *G. albida*. A 25% da CV, plantas não micorrizadas e em simbiose com o *G. etunicatum* mantiveram as folhas mais hidratadas que as inoculadas com *G. albida*. Aos 30 dias de implantação dos tratamentos hídricos, observamos que tanto as plantas inoculadas quanto as não inoculadas apresentaram valores estatisticamente semelhantes, com percentuais de TRA iguais ou superiores a 80% (Figura 5).

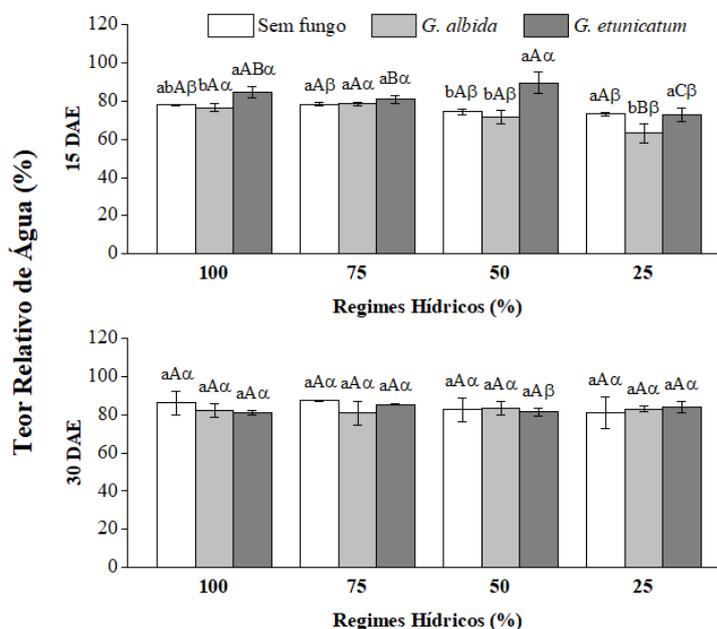


Figura 5 – Teor relativo de água de folha em *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

Mesmo sob regimes hídricos mais restritos, *L. gracilis* manteve a hidratação do tecido foliar, independentemente de estarem ou não micorrizadas. Nas plantas não micorrizadas e nas plantas inoculadas com fungos, a manutenção do TRA pode está relacionada com a produção de osmorreguladores, que são produzidos em maior quantidade no intuito de diminuir o potencial hídrico, permitindo que a planta continue absorvendo água do solo (WU e XIA, 2006). Para Fouad et al. (2014), plantas micorrizadas mantém o conteúdo de água das folhas sob condições de déficit hídrico mais prolongado através da micorrização, pois a associação com FMAs melhora a exploração de água no solo pelas hifas extraradiculares emitidas pelos fungos.

Aos 15 dias, as plantas micorrizadas, apresentaram aumento na produção de prolina (Figura 7) e carboidratos (Figura 8 e 9), os quais atuaram para osmorregular e manter a hidratação do tecido.

Em relação aos pigmentos fotossintéticos, a produção de *clorofila a* não foi afetada pelo tempo de exposição ao déficit hídrico, de modo que aos 30 dias, os níveis desse pigmento mostraram-se superiores em todos os tratamentos avaliados. Observa-se que aos 30 DAE, os fungos micorrízicos influenciaram positivamente as plantas na produção de *clorofila a*, destacando-se as inoculadas com *G. etunicatum* (Figura 6). O maior teor de clorofilas em plantas micorrizadas provavelmente está associado a uma maior disponibilidade de nutrientes, sobretudo N e Mg principais componentes desse pigmento (PIMENTEL, 2004).

O tempo imposto de déficit hídrico (30 dias) também não afetou a produção de *clorofila b*, no entanto, as plantas inoculadas com *G. albida* foram as que apresentaram maiores concentrações desse pigmento (Figura 6).

No que diz respeito aos carotenóides, as plantas com menor capacidade de vaso, com e sem micorrizas, apresentaram produção maior em relação aos demais tratamentos no primeiro tempo. A medida que o tempo de déficit hídrico se prolongou, a quantidade desse pigmento foi estatisticamente superior em todos os regimes hídrico, independentemente das plantas estarem micorrizadas ou não (Figura 6). É importante salientar que mesmo sob regime de saturação máxima de água (100% da CV), a quantidade de carotenóides aumentou ao final de 30 dias e esse fato pode estar relacionado a outros fatores, também estressantes, como elevada temperatura e umidade relativa baixa.

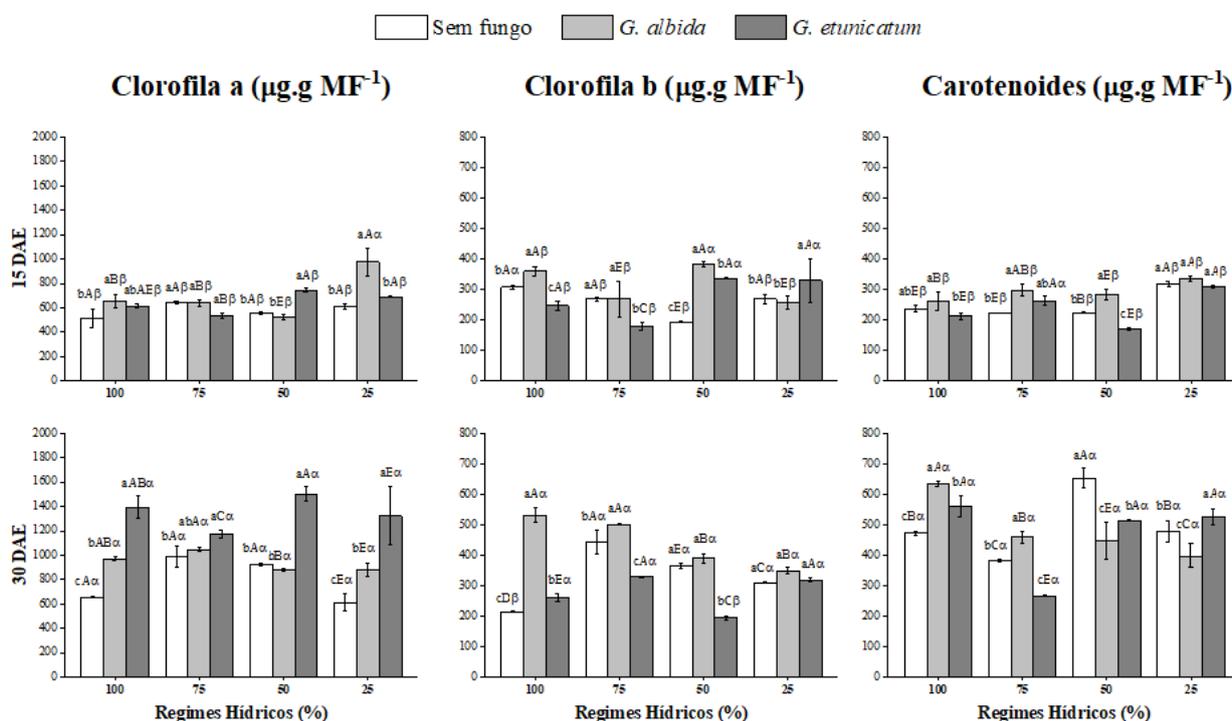


Figura 6 – teores de clorofila a, b e carotenóides em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

É provável que a produção de carotenóides tenha sido superior ao longo do déficit hídrico em função de sua ação fotoprotetora. Quando se comparou a eficiência dos fungos, no tocante à produção de carotenóides, percebeu-se que aos 15 dias, as plantas irrigadas sob os regimes de 75% e 50% da CV inoculadas com *G. albida* produziram mais carotenóides que as inoculadas com *C. etunicatum*. Porém, aos 30 dias e em regimes hídricos menores (50 e 25%), as plantas inoculadas com esse último fungo foi mais eficiente em produzir carotenóides.

Plantas quando submetidas ao estresse hídrico podem reduzir a produção de pigmentos fotossintéticos devido aos danos oxidativos, no entanto, algumas plantas se protegem sintetizando antioxidantes tais como carotenóides (EGERT e TEVINI, 2002). Os resultados indicam que a associação de plantas com fungos micorrízicos podem combater a fotoinibição e fotodestruição de pigmentos fotossintetizantes em plantas sob condições de estresse, aumentando o conteúdo de carotenóides (ASRAR e ELHINDI; 2011). Os carotenóides estão envolvidos na proteção do aparelho fotossintético contra o dano fotoinibitório (UENOJO et al.; 2007).

Em geral, em todos os tratamentos, o conteúdo de *clorofilas a, b* e carotenóides nas plantas inoculadas com fungos micorrízicos foram significativamente maiores do que naquelas não inoculadas em ambos os tempos de exposição aos regimes hídricos. O aumento de pigmentos fotossintéticos como resultado da colonização micorrízica, estimulando a fotossíntese de muitas plantas aromáticas e medicinais também foi verificada em outros trabalhos (WU e XIA , 2006; BELTRANO e RONCO, 2008; ASRAR e ELHINDI, 2011; YANG et al.; 2013; HAZZOUMI et al.;2015). Trabalhos realizados com calêndula (SHAO et al., 2007) e cítricos (WU e XIA, 2006) não micorrizados e submetidos ao estresse hídrico, produzindo menores níveis de clorofila, reforçam ainda mais a hipótese de que os FMAs minimizam o estresse.

Os resultados referentes à prolina estão expressos na Figura 7. É possível verificar que nos primeiros 15 dias, as plantas submetidas aos regimes de 50% e 25% e inoculadas com *G.*

albida apresentaram maiores quantidades desse osmorregulador. Porém, aos 30 dias e sob esses mesmos regimes hídricos nas plantas inoculadas com esse mesmo fungo, os níveis de prolina foram significativamente inferiores, tendo o grupo controle apresentado maior produção em todos os regimes de rega nesse segundo tempo. Plantas inoculadas com *G. etunicatum* também apresentaram níveis mais elevados de prolina com relação às não micorrizadas em todos os regimes hídricos, no primeiro tempo.

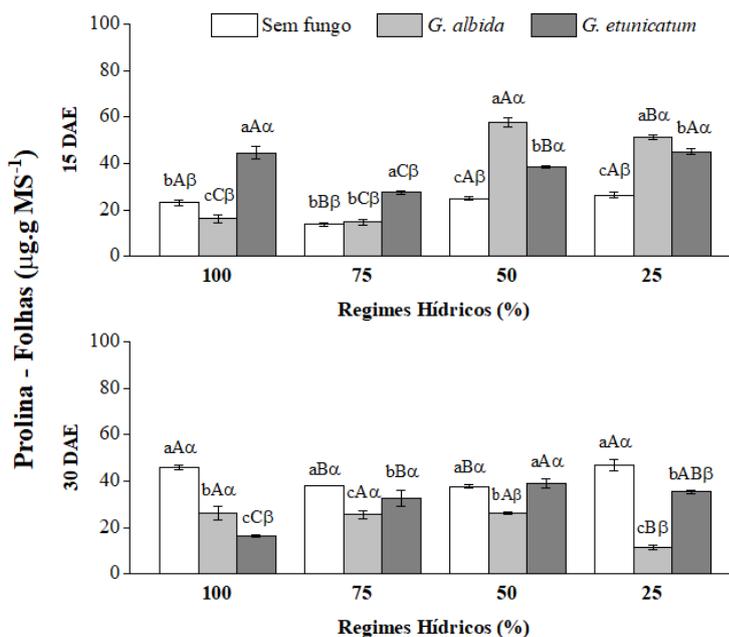


Figura 7– teores de prolina em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

Observamos que aos 30 dias, as folhas, mesmo nos regimes hídricos de menor disponibilidade de água mantiveram níveis de hidratação satisfatórios com TRA em torno de 80% (Figura 5), e tal condição influencia na síntese e degradação de prolina em plantas micorrizadas (ZOU et al., 2013; WU e XIA, 2006).

Na literatura o acúmulo de prolina em plantas associadas com FMAs expostas à deficit hídrico foram maiores quando comparadas com plantas não micorrizadas em *Oryza sativa* (RUIZ-SANCHEZ et al., 2011), *Pistacia vera* (ABBASPOUR et al., 2012) e *Macadamia tetraphylla* (YOOYONGWECH et al., 2013). Por outro lado, Zou et al. (2013) demonstraram que plantas da espécie *Poncirus trifoliata* associadas a FMAs produziram menores níveis de prolina do que as não inoculadas por consequência da inibição das enzimas envolvidas na biossíntese deste composto e incremento das enzimas de degradação da prolina. Os autores

sugerem que este comportamento ocorre porque as plantas micorrizadas sofrem menos quando expostas ao déficit hídrico devido ao maior teor relativo da água foliar proporcionada pela melhor absorção de água pelas hifas extraradiculares.

Aos 15 dias do tratamento de rega, no regime hídrico moderado (75% da CV), as plantas, inoculadas ou não, apresentaram as mesmas concentrações de carboidratos solúveis nas folhas, ocorrendo um aumento na produção destes com a diminuição na disponibilidade de água. Ao final desse período, observou-se um incremento destacado de carboidratos nas plantas inoculadas com o *G. etunicatum* no regime de maior déficit hídrico. Aos 30 dias de exposição ao déficit hídrico, as plantas não inoculadas e as inoculadas com *G. albida* apresentaram os mesmos níveis de carboidratos nos regimes de maior déficit hídrico (Figura 8).

Quando se analisa a quantidade de biomassa acumulada nas plantas sob 25% da CV submetidas a 30 dias de déficit hídrico (Figura 1 e 2), percebe-se que houve uma diminuição do incremento no acúmulo de biomassa, na parte aérea e na raiz. Provavelmente, sob estresse mais prolongado e menor quantidade de água, as plantas utilizaram esses carboidratos para se osmorregular, visto que o TRA dos tecidos foliares foi elevado (Figura 5).

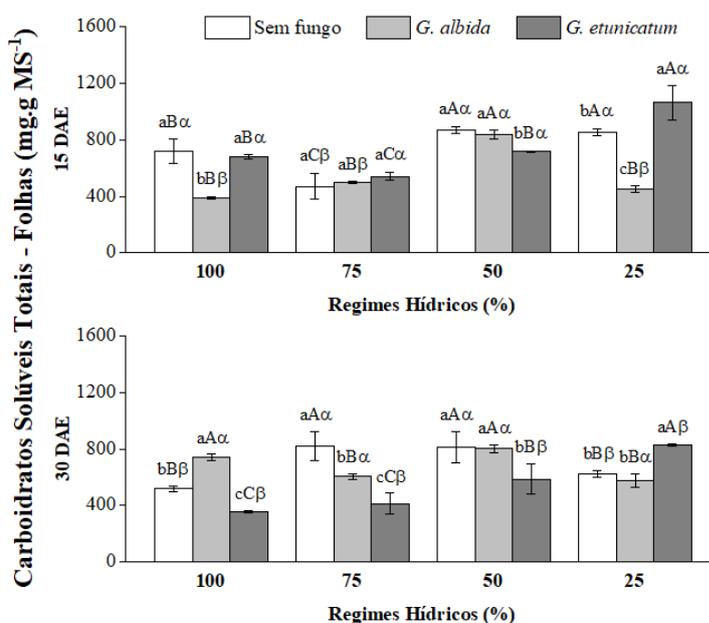


Figura 8– teores de carboidratos solúveis totais nas folhas em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas

associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

Com 15 dias da implantação dos regimes hídricos, foi detectado aumento de carboidratos solúveis totais nas raízes das plantas não micorrizadas e associadas ao *G. etunicatum*, submetidas ao maior déficit hídrico. Porém, avaliando o desenvolvimento radicular dentro desse tratamento, percebe-se que as plantas não micorrizadas foram as que acumularam mais carboidratos. Ao fim dos 30 dias, verificou-se uma queda nos níveis de carboidratos solúveis totais nas raízes de plantas sem micorrização e não inoculadas com os FMAs em todos os regimes hídricos. As plantas inoculadas com *G. albida* e as não inoculadas, apresentaram a mesma produção de carboidratos solúveis totais nos regimes hídricos de maior déficit de água (Figura 9).

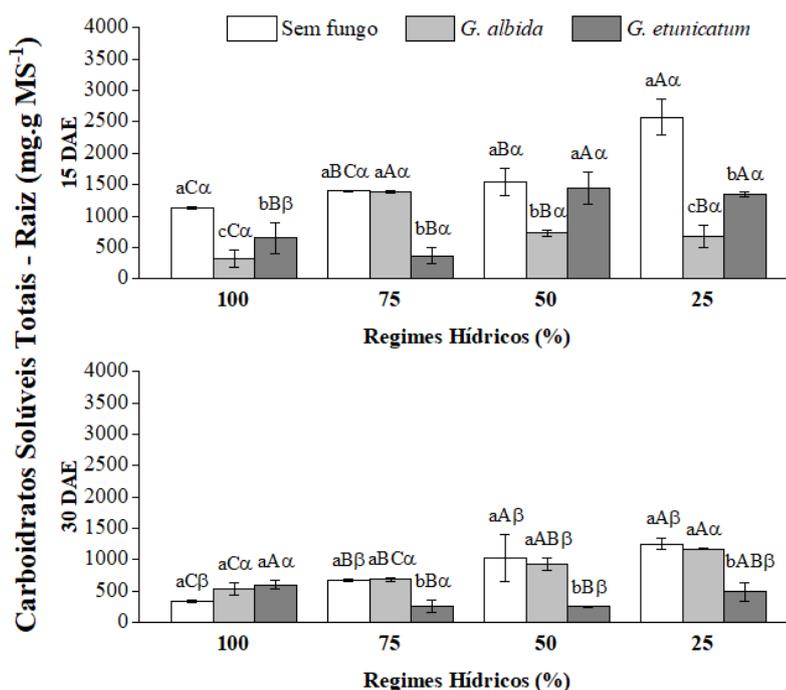


Figura 9– teores de carboidratos solúveis totais nas raízes em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes às plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

O déficit hídrico ocasiona mudanças na partição dos carboidratos no interior da planta, condicionando as mesmas a desenvolverem mecanismos de adaptação e resistência (SANTOS e CARLESSO, 1998). Sob desidratação, algumas plantas, aumentam os níveis de carboidratos

no citoplasma ativando respostas à deficiência hídrica, como o ajustamento osmótico (MAIA et al., 2007).

As plantas, inoculadas ou não, apresentaram maiores concentrações de carboidratos solúveis totais nas folhas e nas raízes com o aumento do déficit hídrico, podendo ter sido este um dos mecanismos utilizado por essas plantas para tolerar a seca, uma vez que todas mantiveram-se hidratadas ao longo dos 30 dias da implantação dos regimes de déficit hídrico. Assim os carboidratos solúveis podem ter sido utilizados para o ajustamento osmótico das mesmas. Paralelo a essa resposta bioquímica, foi observado uma redução no aumento da biomassa da parte aérea nos regimes de menor disponibilidade de água no segundo tempo, o que pode ser explicado pela mudança da utilização dos fotoassimilados, os quais possivelmente tenham deixado de ser precursores para produção de biomassa e passaram a ser utilizados para o ajustamento osmótico.

As hifas encontradas nas raízes dos fungos micorrízicos podem ter contribuído para uma maior absorção de água e nutrientes. É importante reforçar, que nas plantas micorrizadas houve um incremento na produção de clorofilas, e possivelmente estes pigmentos favoreceram a taxa de fotossíntese dessas plantas, havendo em consequência maior produção de fotoassimilados, mesmo em condições de maior déficit hídrico.

No que diz respeito à colonização, verificou-se que as estruturas micorrízicas, tanto de *G. albida* quanto de *G. etunicatum* foram detectadas aos 15 e aos 30 dias, em todos os tratamentos inoculados. As plantas tratadas com *G. albida*, aos 15 dias, no regime hídrico de 50% da CV, demonstrou o maior percentual de colonização (Figura 10). Com mais tempo de exposição ao déficit hídrico, a colonização micorrízica foi mais afetada. A menor taxa de colonização no segundo tempo de tratamentos hídricos pode explicar a diminuição no incremento da biomassa, prolina e carboidratos solúveis totais nas plantas associadas com os FMA neste período. Resultados semelhantes foram encontrados em plantas de *Erythrina variegata* (MANOHARANA et al., 2010), de *Olea europaea* (MOHAMED et al., 2014) e de *Saccharum officinarum* (CARMEM et al., 2015), associadas a FMAs submetidas a estresse hídrico.

Investigações anteriores mostraram que a seca pode reduzir a colonização de FMA, inibindo germinação de esporos e redução do crescimento e disseminação de hifas após a infecção inicial ter ocorrido (WU e XIA, 2006; ABBASPOUR et al., 2012; CARMEM et al., 2015). Geralmente, a eficiência micorrízica está relacionada à quantidade de micélio externo formado no solo, variando com a espécie de FMA e espécies de plantas (ROSSUMANNO et

al., 2008). Outros fatores que refletem a eficiência micorrízica estão relacionados a condições e aspectos edafoclimáticos, dependem de espécies de fungos, espécies de plantas e condições ambientais (ASRAR et al., 2012).

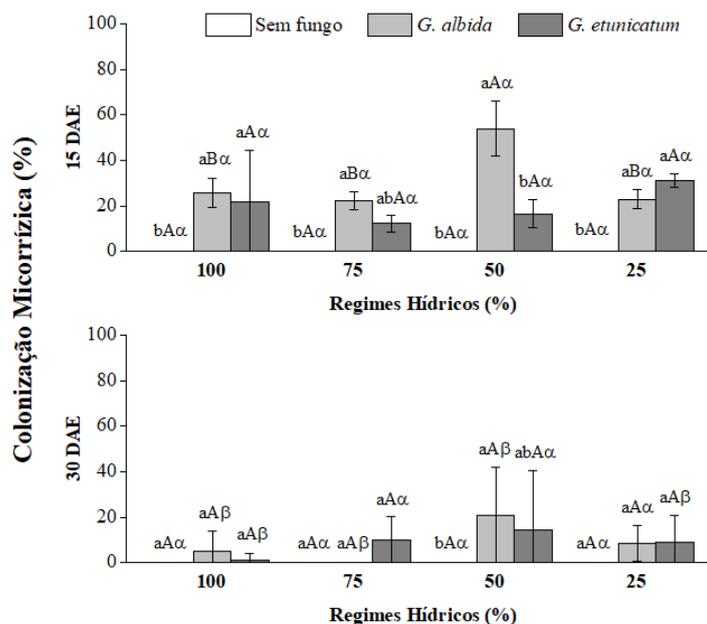


Figura 10 – Taxa de colonização micorrízica em plantas de *Lippia gracilis* associadas a fungos micorrízicos arbusculares: *Gigaspora albida*, *Glomus etunicatum* e o grupo controle (sem FMAs). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas referentes as plantas associadas aos fungos e grupo controle dentro do mesmo regime hídrico, maiúsculas fungos da mesma espécie e grupo controle em regimes hídricos diferentes e gregas para o tempo.

O tempo de exposição ao déficit hídrico comprometeu a colonização micorrízica (Figura 10). A redução no incremento da biomassa seca das folhas e raízes nas plantas inoculadas com o decorrer dos dias de restrição hídrica pode ser explicada pela diminuição da umidade do solo, uma vez que as condições ambientais influenciam na associação planta e fungo. Yang et al. (2014) constataram que o aumento do estresse hídrico em mudas de *Robinia pseudoacacia* causado pela seca mais severa provocou um declínio na colonização micorrízica, diminuição do peso seco das folhas, caule e raiz em plantas associadas a micorrizas e plantas não micorrizadas. No entanto, segundo os autores, os pesos secos das folhas, caule e raízes foram maiores nas mudas associadas a micorrizas que nas mudas não micorrizadas para todos os tratamentos

Conclusões

O regime hídrico de 75% da capacidade de vaso proporcionou o melhor desenvolvimento para o crescimento das plantas de *L. gracilis* associadas com fungos micorrízicos arbusculares. A *Lippia gracilis* conseguiu manter-se hidratada independente de estar associado ou não com os FMAs em todos os tratamentos. A produção de prolina nos 15 primeiros dias da implantação dos regimes nos grupos inoculadas com FMAs foi maior nos tratamentos de menor capacidade de vaso, no entanto, no segundo tempo o grupo controle demonstrou maior produção deste osmorregulador. Os níveis de carboidratos solúveis totais diminuíram com o tempo de exposição ao déficit hídrico. No entanto, os fungos micorrízicos arbusculares proporcionaram maior produção de biomassa da parte aérea e área foliar até nos regimes de menor disponibilidade hídrica. À medida que o tempo de déficit hídrico se prolongou, a quantidade de carotenóides foi estatisticamente superior em todos os regimes hídrico, independentemente das plantas estarem micorrizadas ou não. Os FMAs promoveram também o incremento dos pigmentos fotossintetizantes, com a espécie *G. albida* realçando a clorofila a enquanto que a *G. etunicatum* destacou-se na produção da clorofila b. O déficit hídrico prolongado reduziu a colonização micorrízica e o incremento das demais variáveis.

REFERÊNCIAS

- ABBASPOUR H.; SAEIDI-SAR, S.; AFSHARI, H.; ABDEL-WAHHAB, MA.. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera L.*) seed ling to drought stress under glass house conditions. **J Plant Physiol.**v. 169, p. 704–709, 2012.
- 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. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.1, p.26-33, 2012.
- AMARO FILHO J..**Contribución al estudio del clima del Rio Grande do Norte**. Madrid: ETSIA/UPM. 311p. (Tese de doutorado), 1991.
- AMIRI, R.; NIKBAKHT, A. NEMATOLLAH ETEMADI, N.. Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens (L.) Herit.*] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. **Scientia Horticulturae**. v.197, p. 373–380, 2015.

ASRAR, A.W, ELHINDI, K. M.. Alleviation of drought stress of marigold (*Tagete serecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal of Biological Sciences**, v.18, p. 93–98, 2011.

ASRAR, A.A.; ABDEL-FATTAH, G.M., ELHINDI, K.M. Improving growth, flower yield, and water relations of snapdragon (*Antirrhinum majus L*) plants growth under well-watered and water stress condition using arbuscular mycorrhizal fungi. **Photosynthetica**, v.50, p.305-316, 2012.

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

BELTRANO, J.; AND RONCO, M. G.. Improved tolerance of wheat plants (*Triticuma estivum L.*) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. **Braz. J. Plant Physiology**, v. 20, n.1, p. 29-37, 2008.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 42p.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, n. 2, p. 179- 189, 2000.

CARCELLER, M.; PRYSTUPA, P.; LEMCOFF, J. H. Remobilization of proline and other nitrogen compounds from senescing leaves of maize under water stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 183, p. 61-66, 1999.

SOUSA C. C. M. de, PEDROSA E. M. R., ROLIM M. M., CAVALCANTE U. M. T., JÚNIOR I. P. M.; FILHO J. V. P. Initial development and chemical components of sugar cane under water stress associated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.19, n.6, p.548–552, 2015.

CAVALCANTE, U. M. T.; MAIA, L.C.; NOGUEIRA, R. J.M.C.; SANTOS, V.F.. Respostas fisiológicas em mudas de com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta bot. bras.** v. 15, n. 3 p. 379-390, 2001.

CORREIA, K. G.; NOGURIRA, R. J. M. C.. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachishypogaea L.*) submetido a déficit hídrico. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 2, 2004.

DANTAS, L. I. S.; ROCHA, F. A. G.; MEDEIROS, F. G. M.; SANTOS, J. A. B. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* schauer sobre patógenos de importância na indústria de alimentos. **HOLOS**, Ano 26, Vol. 5. 2010.

DUBOIS, M.; et. al. . Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, n.3, p.350-356,1956.

EGERT, M.; TEVINI, M. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Alliumschoeno prasum*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, p. 43-49, 2002.

FERNANDES, L.C.B.; ALBUQUERQUE, C.C.; SALES J., R.; OLIVEIRA, F.F.M.; GURGEL, E.P.; MESQUITA, M.V.; SILVA, M.D.S. Fungitoxicidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre o fungo *Monosporas cuscannonballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathologica**, 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.; 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 of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). **Phytomedicine**, v. 20, p. 615– 621, 2013.

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B.. Aevaluation of techniques for measuring vesicular mycorrhizal infection in roots. **New. Phytol.**, v. 84, p. 489-500, 1980.

GHOLAMHOSEINI, M.; GHALAVAND, A.; DOLATABADIAN, A.; JAMSHIDI, E.; KHODAEI-JOGHAN, A. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. **Agricultural Water Management**, v. 117p. 106– 114, 2013.

GIANINAZZI-PEARSON, V. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. **The Plant Cell**, v.8. p.1871–1883, October 1996.

HAZZOUMI, Z., YOUSSEF MOUSTAKIME, Y.; EL HASSAN ELHARCHLI, E. H. AND JOUTEI, K. A.. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L). **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.2, n.10, 2015.

HOAGLAND D. R.; ARNOM D.I. (1950). **The water culture method for growing plants with out soil**. California Agricultural Experimental Station, Berkeley. 347 p.

MAIA, C.F. O. N.; CASTRO, D. S.; FREITAS, J. M. N.; LOBATO, A. K. S.; LOBO R. C. C. Conteúdo relativo de água, teor de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de milho submetidas a estresse hídrico. **Surama Parise Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 918-920, jul. 2007.

MANOHARANA, P.T.; SHANMUGAIAHB, N. V.; BALASUBRAMANIANB, S.; GOMATHINAYAGA, M. B; MAHAVEER P.; SHARMAC, K. Muthucheliand Influence of AM fungi on the growth and physiological status of *Erythrina variegata* Linn. Grown under different water stress conditions. **European Journal of Soil Biology**, v. 46, p. 151 e 156, 2010.

MOUCHESHI A, HEIDARI B, ASSAD MT. Alleviation of drought stress effects on wheat using arbuscular mycorrhizal symbiosis. **International Journal of Agri Science**, v.(1), p. 35-47, 2012.

MOHAMED O.; FOUAD, A .E., BENHIBA, L., QADDOURY, A.. Effect iveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of olive plants gains toxicative stress induced by

drought. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 12, n.3, p. 763-771, 2014.

FOUAD, M. O., ESSAHIBI A., BENHIBA, L.; QADDOURY A.. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of olive plants against oxidative stress induced by drought. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.12, n.3, p. 763-771, 2014.

NETO, R.M.; MATOS, F.J.A.; ANDRADE, V.S.; MELO, M.C.N.; CARVALHO, C.B.M.; GUIMARÃES, S.B.; PESSOA, O.D.L.; SILVA, S.L.; SILVA, S.F.R.; VASCONCELOS, P.R.L. The essential oil from *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae in diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 2, p. 261, 2010.

NOGUEIRA, R. J. M. C. 1997. **Expressões fisiológicas da aceroleira (Malpighia emarginata D. C.)**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 205p, 1997.

OLIVEIRA, O.R.; TERAPO, D.; CARVALHO, A.C.P.P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C.C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n.1, p. 94-100, 2008.

PHILIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular –arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection transactions of the British. **Mycological Society**, v.55, p.158-161, 1970.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica, RJ: Edur, 2004. 191p.

RUSSOMANNO, O.M.R.; KRUPPA, P.C.; MINHONI, M.T.A. Influência de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de plantas de alecrim e manjeriço. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.75, n.1, p.37-43, jan./mar., 2008.

RUIZ-SANCHEZ, M.; ARMADA E.; MUNOZ, Y, GARCIA, S. I.E.; AROCA, R.; et al. Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. **J Plant Physiol.**, v. 168, p.1031–1037, 2011.

SANTOS, R. F. e CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.2, n.3, p.287-294, 1998

SOUSA, R. F. e SOUSA, J. A.. Metabólitos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, Pombal - PB, v. 11, n.01, p.01 - 08, jan-dez, 2017.

SHAO, H.B.; CHU, L.Y.; WU, G.; ZHANG, J.H.; LU, Z.H., HU, Y.C..Changes of some antioxidative physiological índices under soil water deficit among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotype at tillering stage. **Colloids Surf.** v. 54, p.143–149, 2007.

SLAVIK, B. **Methods of studying plant water relations**. New York, Springer-Verlag, 1974, 449 p.

SOUZA, C. M.C.; PEDROSA, E.M.R.; ROLIM, M. M.; CAVALCANTE, U. M. T.; JÚNIOR, M. I. P. M; FILHO, J.V.P.. Initial development and chemical components of sugarcane under water stress associated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, volume 19, n. 6, p. 548-552, 2015.

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

UENOJO, M.; MARÓSTICA, R. J.; PASTORE, MÁRIO, G. M..Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma **Quím. Nova**: São Paulo, vol.30 n.3, 2007.

WELBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a e b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, 144, p.307-313, 1994.

Wu, Q.S., Xia, R.X..Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well watered and water stress conditions. **J. Plant Physiol.**, v.163, p. 417–425, 2006.

YANG, Y.; TANG, M.;Sulpice, R.; Chen, H.; TIAN, S.; BAN, Y.. Arbuscular mycorrhizal fungi alter fractal dimension characteristics of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings through regulating plant growth, leaf water status, Photosynthesis, and Nutrient Concentration Under Drought Stress. **J Plant Growth**. Springer Science+Business Media, New York, 2014.

YOOYONGWECH, S., PHAUKINSANG, N., CHAUM,S; SUPAIBULWATANA,K . Arbuscular mycorrhizal improved growth performance in *Macadamia tetraphylla* L. grown under water deficit stress involves soluble sugar and proline accumulation. **Plant Growth Regul.** v. 69, p.285–293,2013.

ZOU, Y.N., WU, Q.S., HUANG, Y.M.; NI,Q.-D., He, X.H.. Mycorrhizal-Mediated lower proline accumulation in *Poncirus trifoliata* under water deficit derives from the integration of inhibition of Proline Synthesis with Increase of Proline degradation. **PLOS ONE**. V. 8, 2013.

