

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Brayonn Mascarenhas Azevedo

Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro

Brayonn Mascarenhas Azevedo

Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Ernane Ronie Martins

Coorientador: Prof. Edson de Oliveira Vieira

Montes Claros

2020

A994d
2021

Azevedo, Brayonn Mascarenhas.

Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro/ Brayonn Mascarenhas Azevedo. Montes Claros, 2020.
43 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Ernane Ronie Martins.

Banca examinadora: Lourdes Silva de Figueiredo, Filipe Pereira Giardini Bonfim, Rízia Rodrigues Santos, Ernane Ronie Martins.

Inclui referências: f. 20-23; 36-38.

1. Echinodorus. 2. Plantas medicinais. 3. Metabolismo secundário. I. Martins, Ernane Ronie. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 633.88

Brayonn Mascarenhas Azevedo

Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof.^a Dr.^a Lourdes Silva de Figueiredo
ICA/UFMG

Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim
FCA/UNESP

Dr.^a Rízia Rodrigues Santos



Ernane Ronie Martins
Professor Titular
ICA/UFMG

Prof. Dr. Ernane Ronie Martins
Orientador – ICA/UFMG

*Aos meus pais por todo empenho em minha
educação e formação como ser humano.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todos os dias me alcançar com sua graça e misericórdia, me permitir iniciar e concluir essa jornada com bom ânimo, saúde e entendimento.

Aos meus pais Cida e Gaspar e meu irmão Brunno por sempre estarem na primeira fila incentivando e torcendo por mim.

A Camila, por acreditar e confiar em mim, por sempre me receber com um abraço apertado.

Aos meus irmãos na fé e companheiros da música pelas orações, visitas e conversas que sempre alegraram minha alma.

A Universidade Federal de Minas Gerais, grande palco dessa realização, um sonho que se tornou realidade e ao Instituto de Ciências Agrárias e Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal por todo apoio e estrutura.

Ao professor Ernane pelo tempo de orientação, por ser mediador nessa busca pelo conhecimento.

Ao professor Edson pela coorientação e auxílio principalmente na fase inicial dessa pesquisa.

Aos membros da banca de defesa, professora Lourdes, professor Filipe e a Rízia por suas contribuições à ciência nesse trabalho.

Ao amigo Afrânio por dividir o mesmo espaço, as lutas e anseios diários e a Silvanete, Gabi e Ana Paula pelas ajudas aqui e ali, por sempre me colocarem “pra” cima e fazerem rir.

A equipe e pós-graduandos do Laboratório de Plantas Medicinais e Aromáticas do CPCA sempre prontos a ajudar professora Francine, Karol e Thaíse.

Aos demais professores, servidores e laboratórios do ICA/UFMG por colaborarem na realização dessa pesquisa, auxiliando na realização de análises, uso de equipamentos e revisão bibliográfica.

As políticas de incentivo a pós-graduação, as políticas de cotas e a bolsa concedida pela CAPES que me permitiram ingressar no mestrado e concluí-lo.

As instituições de apoio a pesquisa CAPES, CNPq, Fapemig e ao PET-Agronomia.

Muito obrigado, gratidão e que Deus vos abençoe!

“Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele, e ele tudo fará.”

(Salmos 37, 5)

Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro

RESUMO

De uso associado ao tratamento de processos inflamatórios, o chapéu-de-couro é o nome popular atribuído a espécies do gênero *Echinodorus* spp., planta comumente encontrada em áreas alagadas presentes em diferentes estados brasileiros, incluindo áreas do Norte de Minas Gerais e Vale do Jequitinhonha. O ambiente de ocorrência dessas espécies é um fator importante para determinar sua necessidade hídrica e relações fisiológicas. Ainda, sob efeito das mudanças climáticas, essas áreas podem sofrer mudanças e alterar sua disponibilidade ou capacidade hídrica. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o desempenho fisiológico e produtivo de duas espécies de chapéu-de-couro, *E. floribundus* e *E. subalatus*, conforme a disponibilidade hídrica. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do ICA/UFMG em lisímetro de percolação durante 90 dias. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados em esquema fatorial 2x2, sendo duas espécies de *Echinodorus* spp., duas disponibilidades de água (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) e cinco repetições. Foram mensurados no crescimento: temperatura e número de folhas, altura, porte, área foliar, matéria fresca e seca. Aos 30, 50, 70 e 90 dias determinou-se o teor de clorofila, trocas gasosas (taxa fotossintética, transpiração e a eficiência do uso da água). Ao final do cultivo, foi determinado compostos fenólicos totais, prolina e o ácido hidroxicinâmico. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância seguida de testes de média e análise de correlações canônicas utilizando o software R. As variáveis de área foliar, altura e porte apresentam interação entre as espécies e disponibilidades hídricas aplicadas e possuem forte correlação. Na análise de correlações canônicas as espécies quando submetidas a 50AD apresentam as menores estimativas biométricas com *E. floribundus* apresentando os resultados mais contrastantes com maior altura, porte e área foliar quando cultivada em CC. A análise de fluorescência da clorofila indica que não houve danos no aparato fotossintético das plantas, apenas com *E. floribundus* sobre CC em situação de estresse. O tratamento com menor disponibilidade hídrica (50AD), também apresenta maior temperatura foliar. Em função do tempo, o teor de clorofila e taxa transpiratória sofreram redução apenas nos primeiros 30 dias. Já a taxa fotossintética e a eficiência do uso da água se mantêm com médias similares, sem interação com a disponibilidade de água. Os níveis de prolina se mantêm iguais estatisticamente entre as espécies e tratamentos. Enquanto os fenólicos totais e o ácido hidroxicinâmico, composto preconizado pela Farmacopeia Brasileira, não apresentaram distinção entre as espécies no teor encontrado, mas sim entre os tratamentos, com maior teor em CC. Assim, conclui-se que as espécies podem ser cultivadas em ambientes não alagados, embora a disponibilidade hídrica possa alterar características químicas e biométricas, o funcionamento do aparato fotossintético não foi afetado pelo ambiente.

Palavras-chave: *Echinodorus floribundus*. *Echinodorus subalatus*. Deficit hídrico. Metabolismo secundário. Crescimento.

Water availability in the physiological responses of *chapéu-de-couro* species

ABSTRACT

Used in association with the treatment of inflammatory processes, the “chapéu-de-couro” is the popular name attributed to species of the genus *Echinodorus* spp., a plant usually found in flooded areas present in different Brazilian states, including areas of Northern Minas Gerais and Vale do Jequitinhonha. The environment where these species are found is an important factor to determine their water needs and physiological relationships. Also, under the effect of climate change, these areas may undergo changes and modify their availability or water capacity. In this context, the present work had the objective of investigating the physiological and productive behavior of two species of “chapéu-de-couro” plants, *E. floribundus* and *E. subalatus*, according to the water availability. The experiment was conducted in a greenhouse at the ICA/UFMG in a percolation lysimeter for 90 days. The design used was randomized blocks in a 2x2 factorial scheme, being two species of *Echinodorus*, two water availabilities (field capacity – CC and 50% of available water – 50AD) and five repetitions. The growth was measured in: temperature and number of leaves, height, size, leaf area, fresh and dry matter. At 30, 50, 70 and 90 days the chlorophyll content, gas exchange (photosynthetic rate, transpiration and water use efficiency) were determined. At the end of the cultivation, the total phenolic, proline and hydroxycinnamic acid content was determined. The data collected were submitted to analysis of variance followed by mean tests and analysis of canonical correlations using the R software. The variables of leaf area, height and size present interaction between the species and water availability applied and have strong correlation. In the analysis of canonical correlations, the species when submitted to 50AD present the smallest biometric estimates with *E. floribundus* presenting the most contrasting results with greater height, size and leaf area when cultivated in CC. The fluorescence analysis of chlorophyll indicates that there was no damage in the photosynthetic apparatus of the plants, only with *E. floribundus* over CC in stress situation. The treatment with lower water availability (50AD), also presents higher leaf temperature. According to the time, the chlorophyll content and transpiration rate were reduced only in the first 30 days. However, the photosynthetic rate and the efficiency of water use are maintained with similar averages, without interaction with water availability. Proline levels remain statistically the same among species and treatments. While total phenolic and hydroxycinnamic acid, a compound preconized by the Brazilian Pharmacopoeia, did not present a distinction between the species in the content found, but rather between the treatments, with a higher content in CC. Thus, it is concluded that the species can be cultivated in non-flooded environments, although the availability of water may alter chemical and biometric characteristics, the functioning of the photosynthetic apparatus was not affected by the environment.

Keywords: *Echinodorus floribundus*. *Echinodorus subalatus*. Water deficit. Secondary metabolism. Plant growth.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema simplificado entre o metabolismo primário e as rotas de biossíntese do metabolismo secundário das plantas.....	16
Figura 2 – Biossíntese de ácidos hidroxicinâmicos a partir dos aminoácidos fenilalanina e tirosina em espécies vegetais	17
4 ARTIGO	24
4.1 Artigo – Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro	24
Figura 1. Biplot para os dois primeiros eixos (VC1 e VC2) da análise de Variáveis Canônicas nas duas espécies (<i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i>) e disponibilidades hídricas (CC – Capacidade de campo e 50AD – 50% da água disponível) estudadas em função da biometria	30
Figura 2. Diagrama dos coeficientes de correlação entre as variáveis biométricas estudadas no crescimento de <i>E. floribundus</i> e <i>E. subalatus</i> durante ou após 90 dias da aplicação das disponibilidades hídricas (CC – Capacidade de campo e 50AD – 50% da água disponível)	31
Figura 3. Evapotranspiração de referência (ET _o), Temperatura máxima (T _{max}), Temperatura mínima (T _{min}) e Temperatura média (T _{med}) em casa de vegetação durante os 90 dias após aplicação dos tratamentos (DAT) em <i>Echinodorus</i> em Montes Claros, MG.....	33
Figura 4. Valores médios de clorofila, taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E) e eficiência do uso da água (EUA) em função do tempo para <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i> em Montes Claros, MG. Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey, a 0.05 de significância	34
APÊNDICE – ACOMPANAMENTO DE EXPERIMENTO: TABULAÇÕES E IMAGENS.....	40
Figura 3 – Curva de calibração do padrão ácido tânico, para teor de flavonoides totais em duas espécies de <i>Echinodorus</i> ssp	41
Figura 4 – Curva de calibração do padrão prolina, para teor de prolina em <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i>	41
Figura 5 – Representação visual das folhas de <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i> em cada disponibilidade hídrica (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) para fins de análise foliar no software ImageJ	42

LISTA DE TABELAS

4	ARTIGO	24
4.1	Artigo – Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro	24
	Tabela 1. Resumo da análise de variância do efeito de espécies (E) e disponibilidade hídrica (Dh) no crescimento de <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i> aos 90 dias após a aplicação dos tratamentos (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em Montes Claros, MG...	29
	Tabela 2. Valores médios da fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (Fm) e eficiência fotossintética máxima (Fv/Fm) em <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i> aos 90 dias após a aplicação dos tratamentos (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em Montes Claros, MG.....	32
	Tabela 3. Valores médios de temperatura foliar ao longo do dia entre as espécies <i>Echinodorus floribundus</i> , <i>Echinodorus subalatus</i> e disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em casa de vegetação em Montes Claros, MG	32
	Tabela 4. Produtos do metabolismo primário e secundário de <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i> aos 90 dias após aplicação dos tratamentos (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em Montes Claros, MG	35
	APÊNDICE – ACOMPAMENTO DE EXPERIMENTO: TABULAÇÕES E IMAGENS	40
	Tabela 1 – Correlações canônicas (r) e pares canônicos entre as variáveis avaliadas em <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i> e disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD)	40
	Tabela 2 – Correlação entre as variáveis biométricas estudadas no crescimento de <i>E. floribundus</i> e <i>E. subalatus</i> durante ou após 90 dias da aplicação das disponibilidades hídricas (CC – Capacidade de campo e 50AD – 50% da água disponível)	40
	Tabela 3 – Resumo dos quadrados médios referente às análises de fluorescência. Onde, fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (Fm), eficiência fotossintética máxima (Fv/Fm).....	40
	Tabela 4 – Resumo dos quadrados médios referentes à análise de compostos do metabolismo primário e secundário de <i>Echinodorus floribundus</i> e <i>Echinodorus subalatus</i>	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo Geral.....	13
2.2	Objetivos Específicos	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	Espécies do gênero <i>Echinodorus spp.</i>	14
3.2	Qualidade do material vegetal	14
3.3	Metabolismo secundário das plantas	15
3.4	Estresse hídrico em plantas medicinais	18
3.5	Referências.....	20
4	ARTIGO	24
4.1	Artigo – Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro	24
5	CONCLUSÃO	39
	APÊNDICE – Acompanhamento DE EXPERIMENTO: TABULAÇÕES E IMAGENS	40

1 INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Echinodorus* spp. apresentam grande potencial de uso medicinal e mercado no Brasil. Conhecidas popularmente como chapéu-de-couro, suas folhas possuem atividade diurética, hipotensiva, hiperlipidêmica, anti-inflamatória e analgésica (BOLSON *et al.*, 2015). Além do uso na produção de chás e refrigerantes (Mate Couro® e Mineirinho®). São plantas de ambientes aquático e pantanoso, crescendo geralmente submersas (HAYNES; HOLM-NIELSEN, 1994).

O ambiente de ocorrência dessas espécies é fator importante para determinar sua necessidade hídrica e relações fito-fisiológicas. A água é aspecto determinante na ocorrência de reações metabólicas na planta e, em deficiência, compromete o seu crescimento e desenvolvimento (LARCHER, 2000). Ainda, sob efeito das mudanças climáticas e ação antrópica, diversos ambientes podem sofrer mudanças e alterar sua disponibilidade ou capacidade hídrica (LAMEIRA, 2003).

Diante do exposto, este estudo foi conduzido com o intuito de verificar e conhecer as relações hídricas do chapéu-de-couro e sua ação sobre o perfil fitoquímico de duas espécies. Avaliar a interação de diferentes disponibilidades hídricas com os parâmetros morfoagronômicos (matéria fresca e seca da planta, altura, porte, área foliar e número de folhas), fisiologia (trocas gasosas, temperatura foliar, teor e fluorescência da clorofila), metabolismo (níveis de prolina, teor do ácido hidroxicinâmico e fenólicos totais). Garantindo um material que apresente potencial de uso medicinal de acordo com a Farmacopeia Brasileira e seleção para cultivo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o registro fisiológico e produtivo de duas espécies de chapéu-de-couro submetidas a diferentes disponibilidades de água.

2.2 Objetivos Específicos

- Quantificar a presença de marcadores fitoquímicos de *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* conforme estabelecido na Farmacopeia Brasileira;
- Acompanhar a variação na temperatura das folhas ao longo do período de cultivo;
- Avaliar a biometria das espécies frente a diferentes disponibilidades hídricas para a produção de matéria fresca e seca, altura, porte, área foliar, trocas gasosas, clorofila, teor de prolina, compostos fenólicos totais e do ácido hidroxicinâmico.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Espécies do gênero *Echinodorus* spp.

Popularmente nomeada de chapéu-de-couro, as espécies do gênero *Echinodorus* são conhecidas nas diferentes regiões do Brasil como chá-de-campanha, congonha-do-brejo, chá-do-brejo, chá-mineiro, erva-do-brejo, erva-do-pântano (LORENZI; MATOS, 2002). Geralmente, são usadas as folhas pelas propriedades diurética, hipotensiva, hiperlipidêmica, anti-inflamatória e analgésica (BOLSON *et al.*, 2015). Também é utilizada com fins ornamentais em aquários, espelhos d'água e alimentício na produção de refrigerantes e bebidas de mate, intensificando seu sabor (KASSELMANN, 2001; BARBOSA *et al.*, 2013).

O gênero *Echinodorus* é caracterizado por plantas de *habitat* aquático e pantanoso, que geralmente crescem tendo parte de suas folhas e inflorescências submersas. Pertence à família Alismataceae, que abrange 11 gêneros e cerca de 75 espécies com essa característica, sendo de maior ocorrência nas Américas. É um dos principais gêneros dessa família (26 espécies), que no Brasil é representada por 18 espécies de *Echinodorus* (HAYNES; HOLM-NIELSEN, 1986, 1994).

E. grandiflorus (Cham. & Schldtldl.) Micheli e *E. macrophyllus* (Kunth) Micheli, são as espécies mais conhecidas e estudadas para fins medicinais, além de caracterizadas na Farmacopeia Brasileira (LORENZI, 2000). *E. macrophyllus* foi incluída na lista de drogas vegetais, de acordo com a Resolução – RDC nº 10, de 9 de março de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Apesar da descrição apenas dessas duas espécies, outras ocorrem no ambiente brasileiro como *Echinodorus subalatus* (Mart.) Griseb. e *Echinodorus floribundus* (Seub.) Seub. *sin E. grandiflorus*.

As folhas de chapéu-de-couro apresentam em sua composição diferentes diterpenos, flavonoides, derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, esteroides, ácidos graxos, arilpropanoides simples e ácido *trans*-aconítico (TANAKA, 2000; SHIGEMORI *et al.*, 2002; SCHNITZLER, *et al.*, 2007). Também, os dados na literatura indicam que há composição química diferenciada para as espécies, demonstrando a necessidade de novos estudos químicos e farmacológicos buscando identificar e quantificar as substâncias ativas, além da atividade farmacológica (DIAS *et al.*, 2013).

O chapéu-de-couro encontrado no mercado brasileiro é obtido majoritariamente por extrativismo, o que coloca em risco as populações no seu ambiente de ocorrência e não garante a qualidade físico-química do produto. Estudos sobre a fenologia das espécies de *Echinodorus* e sua diversidade química são tópicos importantes para traçar estratégias de conservação, manejo e uso adequado (SANTOS *et al.*, 2017).

3.2 Qualidade do material vegetal

Entende-se por qualidade o conjunto de critérios que caracterizam tanto a matéria-prima quanto o produto final. A qualidade das plantas medicinais é definida de acordo com o teor de princípio ativo (que é o responsável pelo efeito fitoterápico), e pela presença ou ausência de contaminantes na amostra. Estas podem ser tão eficientes quanto os demais medicamentos, para isso, a sua utilização requer cuidados a fim de preservar toda eficácia da planta (BRASIL, 2014).

A droga vegetal de *E. grandiflorus* deve ser constituída das folhas secas, conter, no mínimo 2,8% de derivados do ácido hidroxicinâmico, possuir odor característico e sabor amargo. Total máximo permitido de materiais estranhos no produto 2%, umidade máxima 9%, cinzas totais máxima 11% e cinzas sulfatadas máxima 13% (ANVISA, 2019).

No entanto, encontram-se problemas ligados à origem do material vegetal seja seco, *in natura* ou na forma de extrato devido à complexidade e variabilidade de sua composição e qualidade nas drogas obtidas a partir de uma mesma espécie vegetal. Essas características estão relacionadas a diversos fatores como o local de cultivo, processo de coleta, manuseio e processamento da matéria-prima. Desta forma, o material vegetal final pode apresentar, frequentemente, variações justificando a necessidade da padronização desses processos (FISCHER, 2005).

Dias *et al.* (2013) que avaliaram a qualidade do chapéu-de-couro comercializado na cidade de São Paulo, encontraram material estranho em amostras, como, capítulos florais da própria espécie, materiais plásticos, insetos vivos e fragmentos de insetos mortos. A presença de capítulos florais, revela que a colheita foi realizada no período de floração e não são preconizados pela Farmacopeia Brasileira, indicando alteração do produto.

Muitas vezes, com a finalidade de aumentar o rendimento do material a ser vendido ou por falta de cuidados e tratamento na coleta, é relativamente frequente a presença de materiais estranhos, como outras plantas contaminantes, troca de uma espécie por outra e presença de microrganismos além dos níveis permitidos (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

Os marcadores químicos da espécie e princípios ativos também podem apresentar variação na análise do material vegetal comercializado. De três amostras de chapéu-de-couro avaliadas por Dias *et al.* (2013), uma apresentou teor inferior ao mínimo preconizado (menos que 2,8% de derivados do ácido hidroxicinâmico) o que pode estar associado a diversos procedimentos inadequados na cadeia de produção das plantas.

Os extratos obtidos a partir de plantas medicinais devem preservar os diversos princípios ativos, caracterizando-se num fitocomplexo. Esta manutenção busca garantir a ação farmacológica específica da espécie vegetal, lembrando que o isolamento de princípios ativos não reproduz obrigatoriamente o efeito do fitocomplexo (KLEIN *et al.*, 2009).

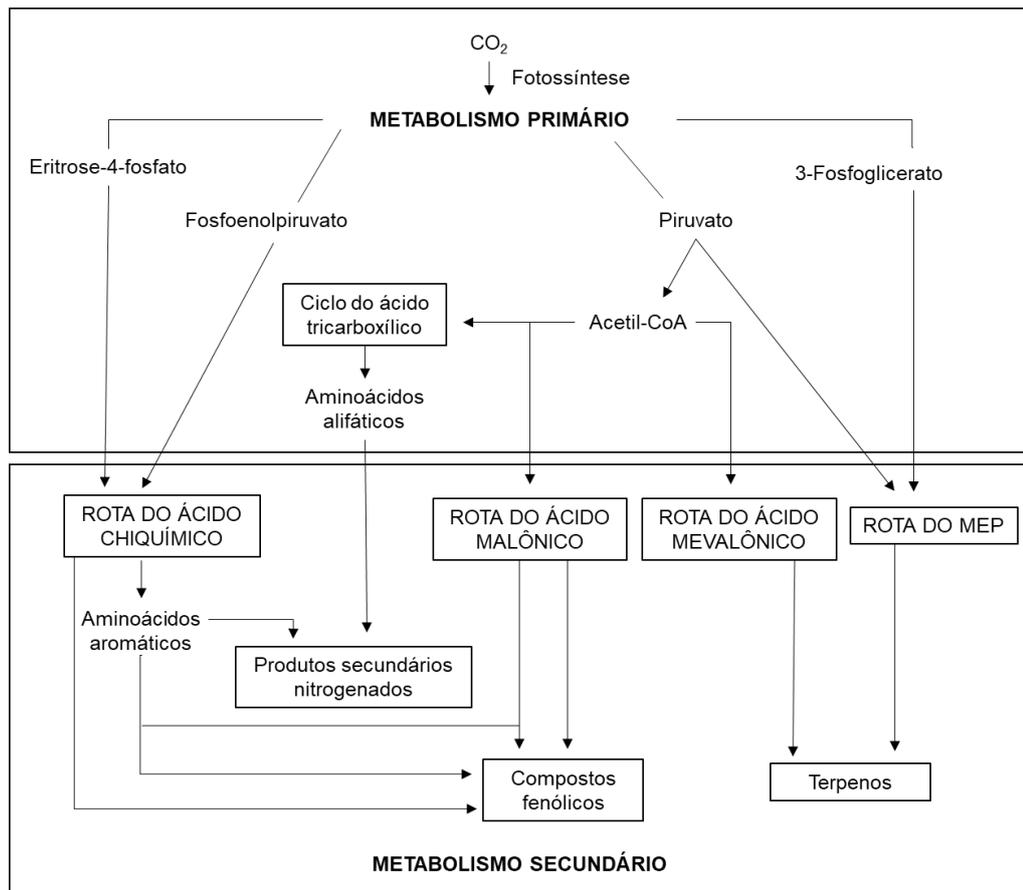
Métodos para controle de qualidade de algumas plantas medicinais já foram validados e podem ser encontrados nas Farmacopeias chinesa, japonesa, dos Estados Unidos, monografias da Organização Mundial da Saúde (OMS), e na Farmacopeia Brasileira. Esta última inclui 44 monografias de plantas medicinais nativas ou não do Brasil (ONG, 2004; BRANDÃO *et al.*, 2006).

3.3 Metabolismo secundário das plantas

As plantas medicinais podem produzir diferentes substâncias químicas, usualmente em três grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Compostos provenientes de diferentes rotas metabólicas conforme a Figura 1 e em diferentes proporções, dependendo do ambiente de ocorrência, da precipitação, da disponibilidade de luz, das características dos solos, em conjunto, características edafoclimáticas, além do seu potencial genético. Algumas substâncias químicas são características de uma determinada espécie vegetal, servindo como parâmetros para a sua

caracterização e identificação (MIGLIATO *et al.*, 2007; GOBBO-NETO; LOPES, 2007), sendo conhecidos como marcadores químicos.

Figura 1 – Esquema simplificado entre o metabolismo primário e as rotas de biossíntese do metabolismo secundário das plantas



Fonte: Adaptado de TAIZ; ZEIGER, 2009.

Os terpenos constituem a classe com maior número de compostos identificados e podem ser sintetizados pela rota do ácido mevalônico ou pela rota do metileritritol fosfato (MEP). No citosol, três moléculas de acetil-CoA se condensam para formar o ácido mevalônico que reage formando isopentenil difosfato (IPP), já a via MEP funciona em plastídeos e também gera IPP (GARCIA; CARRIL, 2009). Alguns terpenos participam do desenvolvimento vegetal, como as giberelinas, diterpenos considerados compostos primários (TAIZ; ZEIGER, 2009).

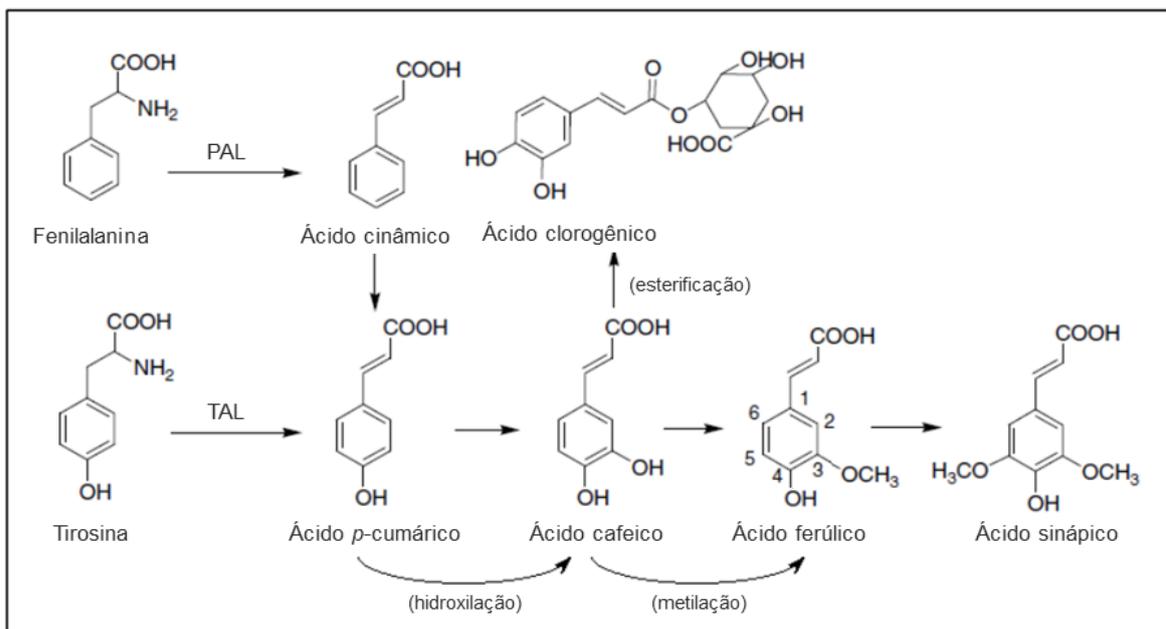
Os compostos fenólicos, também chamados de polifenóis ou fenilpropanoides, possuem um grupo hidroxila funcional em anel aromático. Variam de moléculas simples como ácidos fenólicos a polímeros complexos, como taninos e lignina. Esses compostos podem ser sintetizados por duas rotas metabólicas, a do ácido chiquímico, que participa na biossíntese da maioria dos compostos fenólicos de plantas e a do ácido mevalônico (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Metabólitos secundários que possuem o nitrogênio em sua estrutura são conhecidos como compostos nitrogenados, estes, são biossintetizados a partir de aminoácidos. Entre eles estão presentes os alcaloides, glicosídeos cianogênicos e os glicosinolatos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A composição química das espécies de *Echinodorus*, principalmente *E. grandiflorus* é constantemente investigada, compreendendo diversos compostos. Entre eles, o ácido hidroxicinâmico é descrito pela Farmacopeia Brasileira como marcador químico da espécie (ANVISA, 2019). Os ácidos hidroxicinâmicos constituem uma das classes de compostos fenólicos, sendo sua biossíntese nas plantas ocorrendo pela via do chiquimato, iniciando com os aminoácidos aromáticos L-fenilalanina e L-tirosina.

Na Figura 2, observa-se que inicialmente, a fenilalanina e a tirosina são convertidas em ácido cinâmico e *p*-cumárico, pela fenilalanina amônia liase (PAL) e a tirosina amônia liase (TAL), respectivamente. A TAL converte a tirosina em ácido 4-hidroxicinâmico (ácido *p*-cumárico) a partir do qual se produzem os ácidos cafeico, sinápico e ferúlico, este último obtido por hidroxilação e metilação, numa reação que envolve a S-adenosilmetionina (SAM) – cofator enzimático (KUMAR; PRUTHI, 2014).

Figura 2 – Biossíntese de ácidos hidroxicinâmicos a partir dos aminoácidos fenilalanina e tirosina em espécies vegetais



Fonte: Adaptado de ZHAO; MOGHADASIAN, 2008.

O papel biológico dos compostos secundários das plantas vai desde protegê-las do estresse ambiental até a defesa contra o ataque de insetos, herbívoros e patógenos, e um grande número de indutores de origem biótica e abiótica vem sendo explorados para incrementar o rendimento destes metabólitos vegetais (ZHAO *et al.*, 2005; ÇIRAK *et al.*, 2014).

Tais compostos se acumulam nos tecidos vegetais por meio de mecanismos bioquímicos orientados por diversos reguladores ambientais, hormonais e variações temporais. Mais especificamente, pode-se concluir que cada espécie vegetal evoluiu até um conjunto singular de

mecanismos para a regulação e biossíntese desses metabólitos a partir de gerações anteriores, que expressaram com êxito essas estratégias (PAVARINI *et al.*, 2012).

Para melhorar a qualidade na produção de plantas medicinais, é necessário compreender que tipo de condição de estresse incrementa o acúmulo dos compostos de interesse. Tudo isso sem causar perdas na biomassa ou na sanidade da planta, bem como observar essas respostas nas diferentes partes do vegetal (SELMAR; KLEINWÄCHTER, 2013).

Durante o ciclo de vida de uma planta por exemplo, pode ocorrer um período de seca no ambiente afetando drasticamente o seu estabelecimento e sobrevivência. A redução do crescimento é esperada, uma vez que a limitação da água afeta negativamente diversos processos, incluindo a fotossíntese. No entanto, com a redução da disponibilidade de água e as altas temperaturas o vegetal pode intensificar seu metabolismo secundário, resultando na alta produção de compostos fenólicos como observado por Alonso-Amelot *et al.* (2007) em *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon.

Considerando os fatores bióticos e abióticos dos ecossistemas em uma perspectiva mais ampla, os mesmos são de extrema importância para determinar o uso seguro e confiável das plantas, seja para descoberta de drogas, na pesquisa, desenvolvimento de agroquímicos ou para a ciência e tecnologia de alimentos uma vez que estão diretamente relacionados ao funcionamento do seu metabolismo secundário e crescimento (PAVARINI *et al.*, 2012).

3.4 Estresse hídrico em plantas medicinais

Atuando como um dos aspectos ambientais mais importantes desse século, a seca é responsável pela maioria das perdas de rendimento global, principalmente em regiões com irregular e baixa precipitação (KADAM *et al.*, 2014). O *deficit* hídrico afeta de forma contrária muitos processos fisiológicos como a fotossíntese, a assimilação dos grãos, o crescimento celular e a acumulação e transferência de nutrientes (DEVNARAIN *et al.*, 2016).

Segundo Netshiluvhi e Eloff (2016), a redução na produção de massa seca das plantas é um indicativo de que os níveis de fornecimento de água praticados levaram ao estresse hídrico, sugerindo que as plantas foram afetadas por ele. Esses dois autores observaram que, extratos foliares de espécies arbóreas crescendo sob diferentes taxas de precipitação anual e condições de estresse hídrico potencialmente apresentaram atividades antimicrobianas mais altas em alguns casos. Geralmente a menor precipitação levou à maior atividade antibacteriana, mas não em todos os casos. Já Singh (2004), sob 50% de evaporação do tanque classe A no cultivo do alecrim, relata o maior crescimento das plantas e produção de óleo, sem diferenças no seu teor e qualidade.

O acúmulo de diferentes íons, açúcares e aminoácidos, como a prolina, é responsável pelo controle osmótico nas células das plantas (KÖNIGSHOFER; LÖPPERT, 2015). Quando o potencial hídrico do solo diminui, as plantas devem ser capazes de reduzir o seu potencial para que alcancem o ponto desejado onde possam reter a absorção de água (SALEHI; TASDIGHI; GHOLAMHOSEINI, 2016). Estes ajustes osmóticos mantêm a pressão de turgor, controlam a expansão e o crescimento das células, a abertura estomática, fotossíntese e o fluxo de água durante os períodos de *deficit* hídrico (RUIZ-LOZANO, 2003).

Quando ocorrem limitações na disponibilidade de água para as plantas, um sinal químico é enviado das raízes para as folhas através do xilema, estimulando o fechamento parcial dos estômatos, o que resulta em uma diminuição drástica no nível de CO₂ intracelular (CHENG *et al.*, 2018). Assim, plantas cultivadas sob níveis reduzidos de água no solo começam a reduzir o crescimento para investir no ajuste osmótico. Conseqüentemente, compostos fenólicos como taninos e flavonoides são sintetizados como mecanismo de defesa antioxidante para impedir a destruição do aparato fotossintético, danos à membrana celular, desnaturação de proteínas e inibição do crescimento (ARAÚJO *et al.*, 2015).

Ainda que a água seja fator essencial no metabolismo das plantas, aumentar a disponibilidade hídrica não resulta diretamente em maior produção de princípios ativos (SANAM *et al.* 2015). Outros trabalhos mostram que o estresse por alagamento pode reduzir a área foliar, altura do caule, tamanho de raiz (KODAMA *et al.* 2007) e ocasionar redução na taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração (OLIVEIRA; GUALTIERRI, 2017) em algumas espécies medicinais.

Redução no crescimento das raízes e parte aérea das plantas, inibição do alongamento dos entrenós e expansão das folhas, podendo também acelerar a senescência e abscisão são ainda alguns efeitos da saturação hídrica do solo (LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004; SCALON, *et al.*, 2011).

Se cultivadas sob diferentes condições hídricas, plantas medicinais podem manifestar alterações qualitativas e quantitativas no metabolismo secundário. Para estabelecer se a alteração foi benéfica ou não, uma análise físico-química baseada na relação entre a massa seca e o teor de princípios ativos, pode ajudar a determinar se a alteração foi efetuada ou não (MONTANARI JR, 2000; SANTOS *et al.*, 2004).

3.5 Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília, DF, 2019. 904 f. Disponível em: <https://bit.ly/2hrPXDo>. Acesso em: 15 dez. 2019.
- ALVES, L. F. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 450-513, 2013. Disponível em: <https://bit.ly/2Z6FoJD>. Acesso em: 12 jul. 2019.
- ARAÚJO, T. A. S.; CASTRO, V. T. N. A.; SOLON, L. G. S.; SILVA, G. A.; ALMEIDA, M. G.; COSTA, J. G. M.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Does rainfall affect the antioxidant capacity and production of phenolic compounds of an important medicinal species? **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 550-556, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.008>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- BARBOSA, U. E.; SANTOS, I. F.; SANTOS, A. M. P.; SANTOS, D. C.; COSTA, D. M. Determination and evaluation of the metals and metalloids in the chapéu-de-couro (*Echinodorus macrophyllus* (Kunt) Micheli). **Biological Trace Element Research**, v. 154, p. 412-417, 2013.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.
- BEVILAQUA, G. A. P.; NEDEL, J. L.; ZUANAZZI, J. A.; CORREA, C. T. Distribuição geográfica e composição química de chapéu de couro (*Echinodorus* spp.) no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 213-218, 2001.
- BLANCO, M. C. S. G.; SILVA, S. M. P. Panorama e perspectivas da cadeia produtiva de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Casa da Agricultura**, v. 16, n. 3, p. 13-14, 2013.
- BOLSON, M.; HEFLER, S. R.; CHAVES, E. I. D.; GASPAROTTO JR, A.; CARDOZO JR, E. L. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, n. 23, p. 1-10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.045>. Acesso em: 7 jul. 2019.
- BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 408-420, 2006.
- BRASIL. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Aprova a política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jun. 2006. Disponível em: <https://bit.ly/30XdVLj>. Acesso em: 7 jul. 2019.
- BRASIL. Resolução nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 mar. 2010. Disponível em: <https://bit.ly/2OvD5Kb>. Acesso em 23 jul. 2019.
- BRASIL. Resolução nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 mai. 2014. Disponível em: <https://bit.ly/2YsOLFk>. Acesso em 24 ago. 2020.
- BRUNING, M. C. B.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.
- CHENG, L.; HAN, M.; YANG, L.; YANG, L.; SUN, Z.; ZHANG, T. Changes in the physiological characteristics and baicalin biosynthesis metabolism of *Scutellaria baicalensis* Georgi under drought stress. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 473-482, 2018.
- ÇIRAK, C.; RADUŠIENE, J.; AKSOY, H. M.; MACKINAITE, R.; STANIUS, Z.; CAMAS, N.; ODABAS, M. S. Differential phenolic accumulation in two *Hypericum* species in response to inoculation with *Diploceras hypericinum* and *Pseudomonas putida*. **Plant Protection Science**, v. 50, n. 3, p. 119-128, 2014. Disponível em: <https://bit.ly/2JXgjLa>. Acesso em: 12 jul. 2019.

DEVNARAIN, N.; CRAMPTON, B. G.; CHIKWAMBA, R.; BECKER, J. V. W.; O'KENNEDY, M. M. Physiological responses of selected African sorghum landraces to progressive water stress and re-watering. **South African Journal of Botany**, v. 103, p. 61-69, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.008>. Acesso em: 17 jul. 2019.

DIAS, E. G. E.; VALENZUELA, V. C. T.; ALVES, M. R.; DUARTE, M. G. R.; GARCIA, E. F. Qualidade e autenticidade de folhas de chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*) oriundas de fornecedores de São Paulo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 250-256, 2013.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A. H. **Efeito da água no rendimento das culturas**. Campina Grande: UFPB, 1994. 306 p.

FISCHER D. C. H. Controle de qualidade de matérias-primas vegetais e produtos fitoterápicos. In: GIL E. S.; ORLANDO R. M.; MATIAS R.; SERRANO S. H. P. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. Campo Grande: Editora Uniderp, 2005.

GARCIA, A. A.; CARRIL, PÉREZ-URRIA E. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca. Biología**, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009. Disponível em: <https://bit.ly/3iyY0Lp>. Acesso em: 6 out. 2020.

GOBBO-NETO L.; LOPES N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-81, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/1J53V7i>. Acesso em: 15 jul. 2019.

HAYNES, R. R.; HOLM-NIELSEN, L. B. Notes on Echinodorus (Alismataceae). **Brittonia**, v. 38, n. 4, p. 325-332, 1986.

HAYNES, R. R.; HOLM-NIELSEN, L. B. **The Alismataceae**. Flora Neotropica. New York Bot. Gard.: New York, 1994. 112 p.

JENSEN, M. E. Water consumption by agricultural plants. In: KOSLOWSKY T.T. **Water deficits and plant growth**. New York: Academic Press, 1968.

KADAM, N. N.; XIAO, G.; MELGAR, R. J.; BAHUGUNA, R. N.; QUIÑONES, C.; TAMILSELVAN, A.; PRASAD, P. V. V.; KRISHNA, S. V. J. Agronomic and physiological responses to high temperature, drought, and elevated CO₂ interactions in cereals. **Advances in Agronomy**, v. 127, p. 111-156, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800131-8.00003-0>. Acesso em: 15 jul. 2019.

KASSELMANN, C. **Echinodorus, die beliebtesten Aquarietpflanzen**. Ettlingen: Dähne Verlag, 2001.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M.L.; MELLO, J.C.P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2009. Disponível em: <https://bit.ly/30Su0BG>. Acesso em: 7 jul. 2019.

KODAMA, F. V.; SCALON, S. P. Q.; SCALON FILHO, H.; KISSMANN, C. Crescimento inicial de mudas de sangra d'água sob estresse hídrico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. 2007, Porto Seguro. **Anais eletrônicos...** Porto Seguro: ABH, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/2EvGZ6H>. Acesso em: 20 ago. 2020.

KÖNIGSHOFER, H.; LÖPPERT, H. G. Regulation of invertase activity in different root zones of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings in the course of osmotic adjustment under water deficit conditions. **Journal of Plant Physiology**, v. 183, n. 1, p. 130-137, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.06.005>. Acesso em: 12 jul. 2019.

KUMAR, N; PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. **Biotechnology Reports**, v. 4, p. 86–93, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.09.002>. Acesso em: 22 out. 2020.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000. 513 p.

LAMEIRA, O. A. Uso e conservação de recursos genéticos de plantas medicinais por comunidades rurais. *In*: WORKSHOP INTERNACIONAL DE CURADORES DE BANCOS DE GERMOPLASMA, 2003, Brasília. **Anais eletrônicos...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. Disponível em: <https://bit.ly/2Z6IAq5>. Acesso em: 23 jul. 2019.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000. 672 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

MARTIN, T. N.; MARCHESE, J. A.; SOUSA, A. K. F. DE; CURTI, G. L.; FOGOLARI, H.; CUNHA, V. DOS S. Uso do software ImageJ na estimativa de área foliar para a cultura do feijão. **Interciência**, v. 38, n. 12, p. 843-848, 2013. Disponível em: <https://bit.ly/2Ocm2ln>. Acesso em: 23 jul. 2019.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 6. ed. Fortaleza: UFC, 1988. 141 p.

MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. C. P.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORREA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Controle de qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 94-101, 2007.

MONTANARI JR, I. Aspectos do cultivo comercial de calêndula. **Revista Agroecológica**, v. 1, n. 2, p. 24-5, 2000.

NETSHILUVHI, T. R., ELOFF, J. N. Effect of water stress on antimicrobial activity of selected medicinal plant species. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 202–207, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.04.005>. Acesso em: 15 jul. 2019.

NETSHILUVHI, T. R., ELOFF, J. N. Influence of annual rainfall on antibacterial activity of acetone leaf extracts of selected medicinal trees. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 197–201, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.04.008>. Acesso em: 15 jul. 2019.

OLIVEIRA, A. K. M.; GUALTIERI, S. C. J. Trocas gasosas e grau de tolerância ao estresse hídrico induzido em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Paratudo) submetidas a alagamento. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 1, p. 181-191, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509826457>. Acesso em: 25 ago. 2020.

ONG, E. S. Extraction methods and chemical standardization of botanicals and herbal preparations. **Journal of Chromatography B**, v. 812, n. 1-2, p. 23-33, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.07.041>. Acesso em: 23 jul. 2019.

PAVARINI, D. P.; PAVARINI, S. P.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1-4, p. 5–16, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.002>. Acesso em 21 jul. 2019.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n1/09.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2019.

ROYO, V. A.; ARAÚJO, B. C. P.; BARROS, B. P. **Métodos fitoquímicos para identificação de metabólitos secundários**. Fortaleza: Novas Edições Acadêmicas, 2015. 96 p.

RUIZ-LOZANO, J. M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. **Mycorrhiza**, v. 13, n. 6, p. 309-317, 2003.

SALEHI, A.; TASDIGHI, H.; GHOLAMHOSEINI, M. Evaluation of proline, chlorophyll, soluble sugar content and uptake of nutrients in the German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under drought stress and organic fertilizer treatments. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 10, p. 886–891, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.009>. Acesso em: 12 jul. 2019.

SALMOS. *In*: BÍBLIA SAGRADA. São Paulo: Paulinas, 2002.

- SANAM, S. A.; ZAVAREH, M.; PIRDASHTI, H.; SEFIDKON, F.; NEMATZADEH, G. A.; A. HASHEMPOUR. Changes in some biochemical characteristics of purple coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) medicinal plant in response to planting date and soil flooding duration. **Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 31, n. 2, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/2Yy1kzg>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- SANTOS, R. R.; FONSECA, F. A.; FONSECA, R. S.; MARTINS, E. R. Fenologia e quimiodiversidade do 'Chapéu-de-couro' (*Echinodorus grandiflorus* e *Echinodorus macrophyllus*). **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, p. 115–118, 2017.
- SANTOS, T. T.; SANTOS, M. F.; MENDONÇA, M. C.; SILVA JR, C. D.; SILVA-MANN, R.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK, A. F. Efeito do estresse hídrico na produção de massa foliar e teor de óleo essencial em sambacaitá (*Hyptis pectinata* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 2004. Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SOB, 2004. p. 1-4. Disponível em: <https://bit.ly/34vttei>. Acesso em: 24 ago. 2020.
- SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. M.; KODAMA, F. V.; KISSMANN, C. Estresse hídrico no metabolismo e crescimento inicial de mudas de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.). **Ciência Florestal**, v. 21, n. 4, p. 655-662, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/3jcl8jr>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- SCHNITZLER, M.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Trans-aconitic acid, glucosylflavones and hydroxycinnamoyltartaric acids from the leaves of *Echinodorus grandiflorus* ssp. *aureus*, a Brazilian medicinal plant. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 149-154, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n2/01.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2019.
- SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M. Influencing the product quality by applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 558-566, 2013.
- SHIGEMORI, H.; SHIMAMOTO, S.; SEKIGUCHI, M.; OHSAKI, A.; KOBAYASHI, J. Echinodolides A and B, new cembrane diterpenoids with an eight membered lactone ring from the leaves of *Echinodorus macrophyllus*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 1, p. 82-84, 2002.
- SINGH, M. Effects of plant spacing, fertilizer, modified urea material and irrigation regime on herbage, oil yield and oil quality of rosemary in semi-arid tropical conditions. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 79, n. 3, p. 411-415, 2004.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R. E.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n2/20.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2019.
- SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 435-440, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n3/a23v20n3.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2019.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.
- TANAKA, C. M. A. **Constituintes químicos de cinco espécies de *Echinodorus* e avaliação do betapineno como substrato para obtenção de quirons mais elaborados**. 2000. 202 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.
- TOMAZZONI M. I.; NEGRELLE R. R. B.; CENTA M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto: Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-21, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/tce/v15n1/a14v15n1.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2019.
- VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n3/24145.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2019.
- ZHAO, J.; DAVIS, L. C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 23, n. 4, p. 283-333, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.01.003>. Acesso em: 23 jul. 2019.

4 ARTIGO

4.1 Artigo – Disponibilidade hídrica nas respostas fisiológicas de espécies de chapéu-de-couro

Este artigo foi elaborado conforme normas do periódico Journal of Agricultural Science and Technology.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo investigar as respostas fisiológicas e produtivas de duas espécies de chapéu-de-couro, *E. floribundus* e *E. subalatus* em duas disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD). Foi conduzido experimento em esquema fatorial, no delineamento de blocos casualizados com cinco repetições em casa de vegetação. Foram avaliadas variáveis biométricas, a produção de massa fresca e seca, a temperatura foliar, trocas gasosas, teor de clorofila e teores de compostos do metabolismo primário e secundário. A análise de variância indicou que a área foliar, altura e porte apresentam interação entre as espécies e disponibilidades hídricas aplicadas estando essas variáveis fortemente correlacionadas. Na análise de correlações canônicas as espécies quando submetidas a 50AD apresentam as menores estimativas biométricas com *E. floribundus* apresentando os resultados mais contrastantes com maior altura, porte e área foliar quando cultivada em CC. Os valores de fluorescência mostram condição de estresse para *E. floribundus* em CC. Enquanto, 50AD promove elevação da temperatura foliar. Em função do tempo de cultivo, a clorofila e taxa transpiratória tiveram redução nos primeiros 30 dias, sem variações após esse período. A transpiração e a eficiência do uso da água possuem médias similares, sem interação com a disponibilidade de água. Os níveis de prolina se mantêm iguais estatisticamente entre as espécies e tratamentos. Os fenólicos totais e o ácido hidroxicinâmico, não apresentaram distinção entre as espécies no seu teor, mas sim entre os tratamentos CC e 50AD.

Palavras-chave: *Echinodorus subalatus*, *Echinodorus floribundus*, deficit hídrico, crescimento, planta medicinal, Cerrado.

INTRODUÇÃO

Considerando a água um importante fator no desenvolvimento das espécies vegetais e que esta participa de processos metabólicos vitais para as plantas, torna-se cada vez mais necessário o monitoramento das espécies que ocorrem em ambientes sujeitos a ações antrópicas e mudanças climáticas.

As alterações na capacidade hídrica de um ambiente impactam a vida da população vegetal, ocasionando interferência em muitos processos básicos como a germinação, a translocação de nutrientes minerais, o fechamento dos estômatos, redução da respiração e taxa fotossintética (Kerbauy, 2004). Ainda, os metabólitos secundários, que estabelecem uma interação química entre as plantas e seu ambiente de ocorrência, têm sua biossíntese constantemente afetada por novas condições ambientais (Kutchan, 2001; Gobbo-Neto e Lopes, 2007).

Nesse estado, encontram-se as espécies de *Echinodorus* spp., plantas de ambientes aquático e pantanoso crescendo geralmente com suas folhas e inflorescências imersas (Haynes e Holm-Nielsen, 1994). São espécies utilizadas na medicina popular e conhecidas como chapéu-de-couro (Lorenzi e Matos, 2002) por suas propriedades diurética, hipotensiva, hiperlipidêmica, anti-inflamatória e analgésica no uso das folhas maceradas ou em infusão (Cardoso *et al.*, 2003; Bolson *et al.*, 2015) até fins ornamentais em aquários, lagos artificiais e espelhos d'água (Barbosa *et al.*, 2013; Lehtonen, 2016).

O chapéu-de-couro identificado no mercado brasileiro é obtido principalmente por extrativismo, que, se ocorre de modo irregular, coloca em risco as populações no seu ambiente de ocorrência (Lourenzani *et al.*, 2004) e não garante a qualidade físico-química do produto.

Dentro da família Alismataceae, o gênero *Echinodorus* possui 27 espécies, sendo 22 de ocorrência registrada no Brasil (Lehtonen, 2008). Duas dessas, *E. grandiflorus* (Cham. & Schldtl.) Micheli e *E. macrophyllus* (Kunth) Micheli já foram incluídas em edições da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2019). Apesar das recentes farmacologias descritas, ocorrem outras espécies como é o caso de *E. floribundus* (Seub.) Seub. *sin E. grandiflorus* e *E. subalatus* (Mart.) Griseb. Além disso, autores indicam que existem hábitos e composição química distintas entre as espécies, validando a necessidade de trabalhos que possam identificar e quantificar essas relações buscando melhor aplicação e conservação da planta (Bevilaqua *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2013).

Como macrófitas, possuem a capacidade de habitar múltiplos ambientes por manifestar diferentes graus de plasticidade morfoanatômica e fisiológica, o que resulta em vantagens adaptativas, permitindo sua ocupação e sobrevivência em condições consideradas adversas para outras espécies (Tardivo *et al.*, 2007).

Uma vez que estes espaços sofrem constantes pressões e se alteram, especialmente com as mudanças climáticas em curso, o objetivo do presente estudo foi monitorar o metabolismo, com destaque na assimilação de carbono, transpiração, pigmentos fotossintéticos, metabolismo primário e secundário e crescimento vegetativo de duas espécies de *Echinodorus* spp. (*E. floribundus* e *E. subalatus*), submetidas a variações na disponibilidade hídrica.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação entre os meses de setembro de 2019 e janeiro de 2020 e posteriormente no Laboratório de Pesquisa em Plantas Medicinais e Aromáticas no Centro de Pesquisas em Ciências Agrárias (CPCA) localizados no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG), nas coordenadas 16°40'58,5" de latitude sul, 43°50'25,6" de longitude leste de Greenwich e altitude de 626 m. Segundo Köppen, o clima da região é classificado como Aw, com temperatura média mensal variando de 22,8 (janeiro) a 18,3 °C (julho) e a precipitação média anual de 1096 mm (Alvares *et al.*, 2014).

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, dispostos em esquema fatorial 2x2, com cinco repetições. Os tratamentos consistiram em duas espécies de *Echinodorus* spp. cultivadas sobre duas disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD). Os dados coletados foram submetidos à análise de variância, seguida de testes de média utilizando o software R (Team, 2017). Após verificar a significância de cada variável, a análise de correlações canônicas foi adotada para a biometria das plantas utilizando no mesmo *software* o pacote Candisc (Friendly e Fox, 2017).

Identificação das espécies

Foram cultivadas duas espécies de chapéu-de-couro provenientes da coleção de germoplasma do ICA/UFMG, *E. floribundus* e *E. subalatus*. Para identificação das espécies foram confeccionadas exsiccatas, estas depositadas no Herbário MCCA do ICA/UFMG, com numeração MCCA 3123 e MCCA 2595, respectivamente.

Cultivo

O cultivo foi realizado em lisímetro de percolação composto por 20 vasos plásticos perfurados no centro, com capacidade para 12 litros, diâmetro médio de 21,65 cm e utilizado como substrato a mistura solo e esterco na proporção 2:1. O substrato utilizado para o cultivo é solo típico de Cerrado que, submetido à análise química e granulométrica apresentou as seguintes características: textura média, pH 5,4; P 120 mg dm⁻³; K 314 mg dm⁻³; Ca 3,20 cmolc dm⁻³; Mg 1,46 cmolc dm⁻³; H+Al 5,05 cmolc dm⁻³; SB 5,47 cmolc dm⁻³; t 5,47 cmolc dm⁻³; T 10,51 cmolc dm⁻³; V 52%; argila 32 dag kg⁻¹; matéria orgânica 3,49 dag kg⁻¹; carbono orgânico 2,02 dag kg⁻¹.

Manejo da disponibilidade hídrica

Uma parcela de solo foi destinada para determinação da retenção de água em câmara de Richards e a partir desta, estimado o conteúdo gravimétrico de água (CGAi) a determinado potencial (kPa), em kg kg⁻¹, ponto de murcha permanente (PMP, conteúdo gravimétrico de água no potencial de 1500 kPa), em kg kg⁻¹ (Teixeira *et al.*, 2017).

Após a obtenção dos dados realizou-se o cálculo da disponibilidade total de água no solo (DTA) de acordo Equação [1] (Bernardo *et al.*, 2006) para determinar a lâmina de água inicial nos tratamentos 50AD (reduzida a 50% do valor total).

$DTA = (CC - PMP)/10 \times da$ [1]. Onde, DTA – Disponibilidade total de água no solo, em mm cm^{-1} ; CC – Capacidade de campo, % em peso; PMP – Ponto de murcha permanente, % em peso; da – Densidade aparente do solo, em $g\ cm^{-3}$.

Após determinação da lâmina inicial de água, a irrigação das parcelas 50AD foi conduzida com base na evapotranspiração de referência (ET_o) Equação [2], os dados meteorológicos obtidos através de termo-higrômetro digital Incoterm® no interior da casa de vegetação e ET_o calculada conforme método de Hargreaves (Pereira *et al.*, 1997; Mantovani *et al.*, 2006):

$ET_o = 0,0023 (T_{med} + 17,8) (T_{max} - T_{min})^{1/2} \times Ra \times 0,408$ [2]. Em que: ET_o – Evapotranspiração potencial de referência, em mm dia^{-1} ; T_{med} – Temperatura média diária, em °C; T_{max} – Temperatura máxima diária, em °C; T_{min} – Temperatura mínima diária, em °C; e Ra – Radiação no topo da atmosfera, MJ $m^{-2}\ dia^{-1}$.

A irrigação ocorreu diariamente a partir da quantificação em provetas de 100 e 1000 mL. Anterior ao transplântio para o vaso, o solo da parcela experimental CC foi saturado com 3,5 L de água e os vasos cobertos com sacos plásticos para evitar a evaporação. Três dias após a saturação do solo, ocorreu o transplântio.

Avaliação do crescimento

Durante o período de cultivo, quinzenalmente, eram avaliados o número de folhas (un) e altura das plantas (cm) da base ao ápice da maior brotação. Acompanhamento da temperatura foliar utilizando termômetro infravermelho (Incoterm®) aferidas nas folhas apicais desenvolvidas nos horários de 6, 9, 12, 15 e 18 horas, à distância de 2 cm da folha, perpendicular a mesma. Após 90 dias de cultivo foi mensurado o porte (Bevilaqua e Nedel, 2003), área foliar pelo software ImageJ (Martin *et al.*, 2013), coleta das folhas e secagem em estufa a 40 °C para determinação da massa fresca (MF) e seca (MS) (g) (Bevilaqua *et al.*, 2001) em balança analítica.

Trocas gasosas

As trocas gasosas foram determinadas quatro vezes durante o período de cultivo (aos 30, 50, 70 e 90 dias). Três folhas apicais maduras a partir do ápice eram expostas à luz de um medidor portátil de fotossíntese IRGA – Infrared Gas Analyzer (ADC Bioscientific, modelo LCpro-SD®) com irradiância de 1100 μmol de fótons $m^{-2}\ s^{-1}$, durante um minuto. Avaliadas a taxa fotossintética líquida (A) ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$), a transpiração (E) ($mmol\ H_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$), e calculadas a razão: $EUA=A/E$, que corresponde à eficiência instantânea do uso de água. Após essa determinação, nas mesmas folhas, ocorreu mensuração dos pigmentos fotossintéticos por meio de equipamento portátil AtLeaf® expressos pelo índice SPAD (Zhu *et al.*, 2012).

Fluorescência da clorofila

O monitoramento da fluorescência da clorofila *a* (através de fluorômetro de luz modulada, modelo Opti-Sciences) foi realizado aos 90 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). As pinças para a medição da fluorescência da clorofila *a* foram colocadas no terço médio de uma folha apical madura, e a leitura realizada após 30 minutos de adaptação ao escuro, com emissão de um pulso de luz saturante de 0,3 s, sob frequência de 0,6 KHz, quando se avaliou também a fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e a razão F_v/F_m .

Metabolismo primário e secundário

Como constituinte do metabolismo primário, o teor de prolina foi determinado em 0,5 g de massa de matéria seca foliar conforme o método do ácido sulfossalicílico descrito por Bates *et al.* (1973) e as leituras efetuadas por espectrofotômetro no visível, com comprimento de onda a 520 nm.

No metabolismo secundário, a quantificação dos compostos fenólicos foi efetuada por espectroscopia na região do visível por meio do método de Folin-Ciocalteu, adaptado da metodologia descrita por Wust *et al.* (2016) e a absorbância da fração líquida determinada a 760 nm. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra a curva de calibração construída com ácido tânico (0,02 a 0,82 mg mL⁻¹) e expressos em mg EAT (equivalente de ácido tânico) por mL de extrato.

Os derivados do ácido hidroxicinâmico também foram quantificados por espectrofotometria de absorção no visível conforme a metodologia presente na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2019) e expressos em porcentagem de verbascosídeo com leitura da absorbância a 525 nm. Todas as leituras foram realizadas em espectrofotômetro modelo Micronal B-582.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, observa-se que a análise de variância revelou efeito significativo na interação entre as espécies *E. floribundus* e *E. subalatus* e as disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50 % da água disponível – 50AD), exceto sobre o número de folhas, massa fresca e seca que responderam isoladamente aos efeitos das espécies e das disponibilidades hídricas, influenciando nas demais variáveis ao nível de 5% de significância.

Na análise de Variáveis Canônicas (VC), as duas primeiras canônicas explicam 98,1% da variação dos dados demonstrando a relação entre as variáveis biométricas, as espécies e disponibilidades hídricas aplicadas. As setas representam as correlações entre a biometria das plantas e as variáveis canônicas (VC1 e VC2). Onde, setas próximas e em mesma direção demonstram variáveis correlacionadas ($\geq \pm 0,7$), setas distantes menor correlação ($\leq \pm 0,7$) e, quando em sentidos opostos, são inversamente proporcionais (Figura 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância do efeito de espécies (E) e disponibilidade hídrica (Dh) no crescimento de *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* aos 90 dias após a aplicação dos tratamentos (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em Montes Claros, MG

FV	GL	Quadrado médio					
		Altura	Área foliar	Porte	Folhas	Massa fresca	Massa seca
E	1	266,01*	55146*	97,152*	1170,45*	1009,54*	14,408 ^{ns}
Dh	1	620,05*	16315*	97,682*	22,05 ^{ns}	2520,06*	159,889*
E x Dh	1	154,79*	9318*	19,84*	0,45 ^{ns}	53,54 ^{ns}	0,234 ^{ns}
Bloco	4	8,34 ^{ns}	566 ^{ns}	2,216 ^{ns}	8,18 ^{ns}	270,4 ^{ns}	11,211 ^{ns}
Resíduo	12	15,13	1010	1,842	15,78	178,13	7,502
Total	19						
CV%		13,44	27,22	9,7	29,31	39,82	39,48

^{ns} e *: não significativo e significativo ao nível de 5% pelo teste F, respectivamente; FV: fontes de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação.

Na Figura 1, as variáveis de maior estimativa no VC1, que explica 61,01% da variabilidade total foram a área foliar, porte e altura. A partir da dispersão gráfica dos escores em relação às variáveis canônicas, *E. floribundus* e *E. subalatus* cultivadas em 50AD apresentaram menores estimativas no VC1, e, pela correlação indicada nas setas quando cultivadas em menor disponibilidade hídrica (50AD) apresentaram menor altura, porte, área foliar e massa vegetal.

De acordo com Figueiroa *et al.* (2004), a maior restrição de água implica em folhas menores, que auxiliam a reduzir o aquecimento dos tecidos foliares e a transpiração em temperaturas mais elevadas. Sob essas condições, o equilíbrio entre a produção de fotoassimilados e a demanda para o desenvolvimento de outros órgãos vegetais é muito afetada pela redução da área foliar fotossinteticamente ativa.

E. floribundus em CC teve alta estimativa no VC1 o que explica sua maior altura, porte e área foliar, no entanto, esse tratamento não obteve mesma expressividade para a massa fresca e seca das plantas contrastando com seu cultivo em 50AD de maior estimativa no VC2 (37,09%) onde possui menor número de folhas já que sua correlação é negativa com essa variável. Altura e massa fresca são variáveis correlacionadas indicando que maior altura resulta em maior massa fresca. A espécie *E. subalatus* cultivada em CC foi a que apresentou maior valor de número de folhas, destacando-se isoladamente na dispersão gráfica das variáveis canônicas.

No tratamento CC a água não foi fator limitante para o crescimento. Assim, efeitos do *deficit* hídrico, como a desidratação celular, redução das atividades celulares e metabólicas, fechamento estomático e inibição fotossintética são menores, visto que, as espécies não necessitam lidar com faixas de variação na disponibilidade de água que recebem diariamente em seu ambiente (Taiz e Zeiger, 2004).

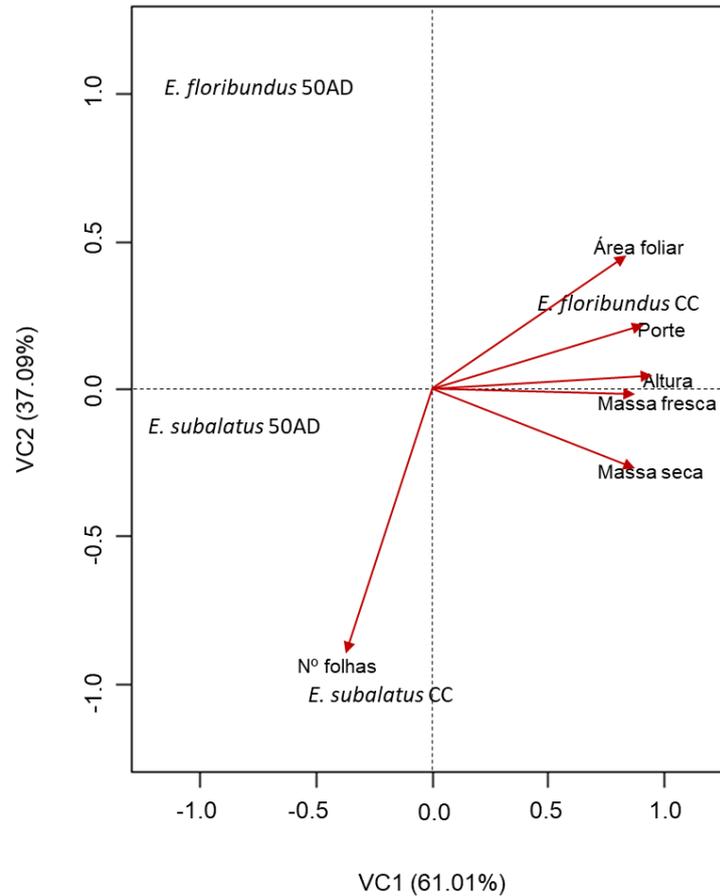


Figura 1. Biplot para os dois primeiros eixos (VC1 e VC2) da análise de Variáveis Canônicas nas duas espécies (*Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus*) e disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) estudadas em função da biometria

A Figura 2 mostra a correlação entre as seis variáveis de biometria avaliadas durante ou após 90 dias da aplicação dos tratamentos (DAT). As linhas verdes indicam correlações positivas e as vermelhas correlações negativas, a intensidade de correlação é expressa pela espessura da linha que conecta cada variável. Assim, área foliar, altura e porte estão fortemente associados, o que pode ser consequência da interação entre as espécies e disponibilidades hídricas aplicadas, enquanto a massa fresca e seca se associam a outras variáveis em diferentes intensidades.

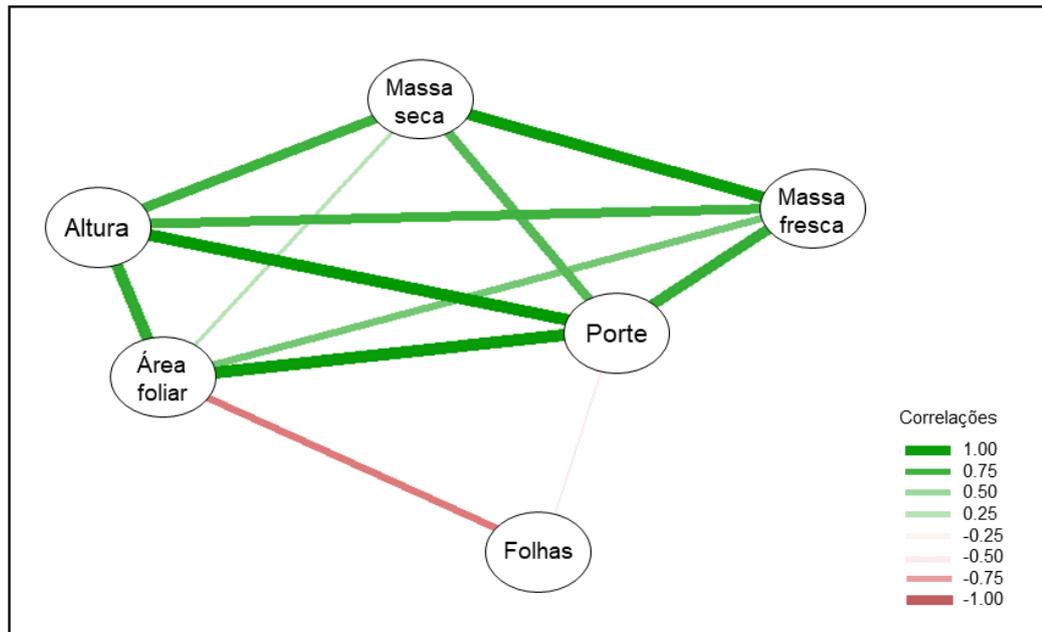


Figura 2. Diagrama dos coeficientes de correlação entre as variáveis biométricas estudadas no crescimento de *E. floribundus* e *E. subalatus* durante ou após 90 dias da aplicação das disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD)

Os resultados de fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m) não apresentaram diferença significativa ou interação entre os níveis aos 90 DAT (Tabela 2). A quantidade de água disponibilizada nesse período não interferiu na F_0 e F_m que se encontram no estágio rápido da fluorescência. O valor de F_0 é alterado quando situações de estresse do ambiente provocam modificações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do fotossistema II. Já o indicador F_m , mostra onde os centros de reação atingem sua capacidade máxima de reações fotoquímicas e toda quinona é reduzida (Baker e Rosenqvst, 2004; Suassuna *et al.*, 2010).

Plantas em condições não estressantes, apresentam valores de F_v/F_m entre 0,75 e 0,85 elétrons quantum^{-1} indicando que os indivíduos não apresentam fotoinibição no período observado (Santos *et al.*, 2014; Suassuna *et al.*, 2010). Para este fator, como há interação entre os níveis, *E. floribundus* apresentou condição de estresse quando cultivada sobre CC. Neste caso, a saturação hídrica pode provocar um *deficit* de oxigênio afetando diretamente o aparato fotossintético e fotoquímico (Kozlowski, 1984; Ishida *et al.*, 2002; Maurenza *et al.*, 2009). Nos demais, a disponibilidade hídrica adotada nesse estudo não foi suficiente para reduzir os valores de F_v/F_m .

Tabela 2. Valores médios da fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e eficiência fotossintética máxima (F_v/F_m) em *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* aos 90 dias após a aplicação dos tratamentos (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em Montes Claros, MG

Espécie	F_0			F_m			F_v/F_m		
	CC	50AD	Média	CC	50AD	Média	CC	50AD	Média
<i>E. floribundus</i>	193,0	167,2	180,1A	749,0	832,0	790,5A	0,724Bb*	0,784Aa	0,754
<i>E. subalatus</i>	176,4	166,8	171,6A	788,4	851,4	819,9A	0,816Aa	0,788Aa	0,802
Média	184,7a	167,0a		768,7a	841,7a		0,770	0,786	
CV%	18,69			8,83			5,31		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Tukey, a 0,05 de significância. *Valores normais entre 0,75-0,85, se menor, indica que o estresse das plantas está afetando o fotossistema II.

A Tabela 3 apresenta os dados de temperatura foliar, onde, nas primeiras horas do dia é possível identificar incrementos de temperatura, atingindo valores máximos às 12h diminuindo ao final do dia, sem atingir os valores iniciais. Analisando os dados obtidos nas duas disponibilidades hídricas, notou-se que as espécies quando submetidas a 50AD apresentam elevação média de 2 °C. Como resposta à menor disponibilidade de água, acontece redução da condutância e transpiração foliar na planta, como consequência, o aumento da temperatura foliar (Taiz e Zeiger, 2004).

As temperaturas foliares, observadas às 9, 12 e 15 horas apresentaram valores médios de 29,0; 35,5; 33,3 °C e 27,1; 31,6; 30,3 °C, respectivamente, para *E. floribundus* e *E. subalatus*. A diferença média foi de ± 3 °C durante esse período. As diferenças de temperatura foliar levam em conta o status hídrico das plantas, comportamento estomático e a perda de calor latente por meio da transpiração (Nascimento *et al.*, 2011). Ainda assim, todo este processo muda para cada espécie, de acordo com a intensidade e a duração da restrição hídrica (Nogueira *et al.*, 2001).

Tabela 3. Valores médios de temperatura foliar ao longo do dia entre as espécies *Echinodorus floribundus*, *Echinodorus subalatus* e disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em casa de vegetação em Montes Claros, MG

Fator	Hora local					Equação	r^2	
	6	9	12	15	18			
<i>E. floribundus</i>	50AD	18,830a	29,832a	37,006a	34,792a	26,460a	$-0,3814x^2 + 9,8275x - 26,76$	0,992***
	CC	18,756a	28,106b	33,984b	31,900b	27,130a	$-0,2873x^2 + 7,5804x - 16,444$	0,989***
<i>E. subalatus</i>	50AD	18,620a	27,656bc	32,700c	30,984bc	26,656a	$-0,2651x^2 + 7,0052x - 13,817$	0,991***
	CC	18,550a	26,510c	30,562d	29,630c	26,916a	$-0,209x^2 + 5,6774x - 7,8392$	0,992***
CV (%)	(1) 3,98			(2) 2,31				

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 0,05 de significância. ***significativo de 0 a 0,001.

Durante o período de avaliação do chapéu-de-couro, maiores temperaturas em casa de vegetação foram registradas nos primeiros 50 dias, com temperaturas médias entre 30,1 e 23,7 °C. As menores temperaturas foram evidenciadas entre o 70º e o 90º dia, com o menor valor registrado de 23,6 °C (Figura 2). O balanço de energia no interior da casa de vegetação é um fator determinante na temperatura do ar visto que nos horários de maior incidência solar a temperatura no interior desses ambientes é maior que a exterior (Farias *et al.*, 1993).

A oscilação da temperatura integra o processo de evapotranspiração da planta que pode reduzir ou aumentar ao longo do dia como resposta as variações ambientais (Doorenbos e Pruitt, 1984; Pereira, 2002). Além disso, à evapotranspiração de referência (ET_o), cujo total observado durante o período do experimento foi de 555,591 mm, apresentou média diária de 6,173 mm, sendo os valores máximos de até 8,002 mm dia⁻¹ e os valores mínimos ficaram próximos de 4,163 mm dia⁻¹.

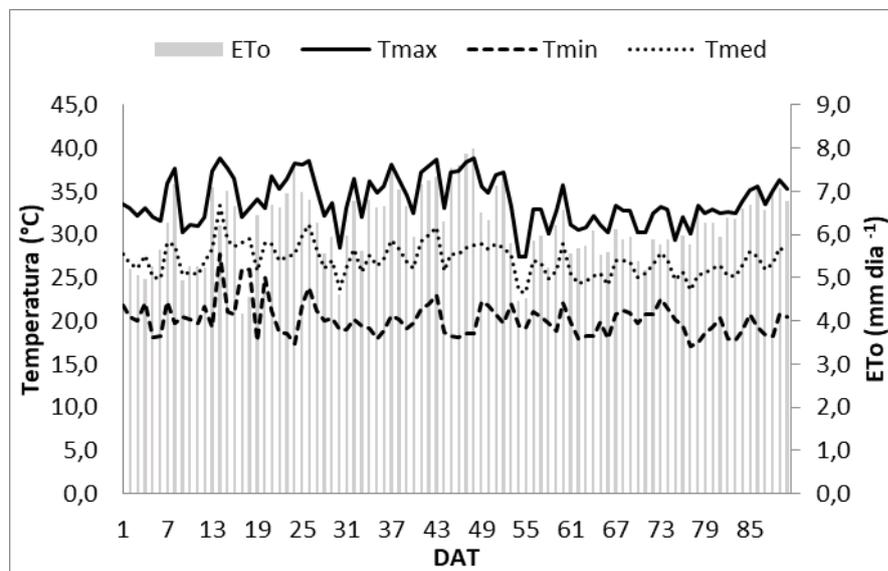


Figura 3. Evapotranspiração de referência (ET_o), Temperatura máxima (T_{max}), Temperatura mínima (T_{min}) e Temperatura média (T_{med}) em casa de vegetação durante os 90 dias após aplicação dos tratamentos (DAT) em *Echinodorus* em Montes Claros, MG

A determinação indireta do teor de clorofila em folhas é um meio viável para diagnosticar a integridade do aparelho fotossintético quando as plantas se encontram em adversidades ambientais (Torres Netto *et al.*, 2005). A diferença no teor de clorofila em *E. floribundus* e *E. subalatus* ocorreu apenas em função do tempo de cultivo. Os maiores valores foram 77,4 SPAD obtidos aos 30 dias DAT observando-se redução média de 45% após 50 dias, se mantendo constante com 42,2 unidades SPAD, próximo à média de 40,4 observada por Ribeiro (2014) para *E. grandiflorus*.

Para as trocas gasosas houve diferença significativa em função do tempo para a taxa transpiratória, sendo observada redução aos 50 DAT, contudo, se manteve constante após esse período. Essa redução é esperada pois, ao encontrar uma nova disponibilidade de água, a espécie deve manter seu status hídrico favorável pelo maior tempo possível, levando ao fechamento parcial dos estômatos, resposta contra uma possível dessecação, restringindo assim as trocas gasosas (Larcher, 2000).

A taxa fotossintética foi semelhante em todo período experimental não sendo modificada pela disponibilidade de água. Após 30 DAT as espécies apresentam aumento na EUA, o que indica maior tolerância à deficiência hídrica, uma tentativa para conter a desidratação celular (Zheng *et al.*, 2000; Duque *et al.*, 2013). No entanto, como não há interação, as disponibilidades hídricas aplicadas não promoveram aumento ou redução na EUA das espécies.

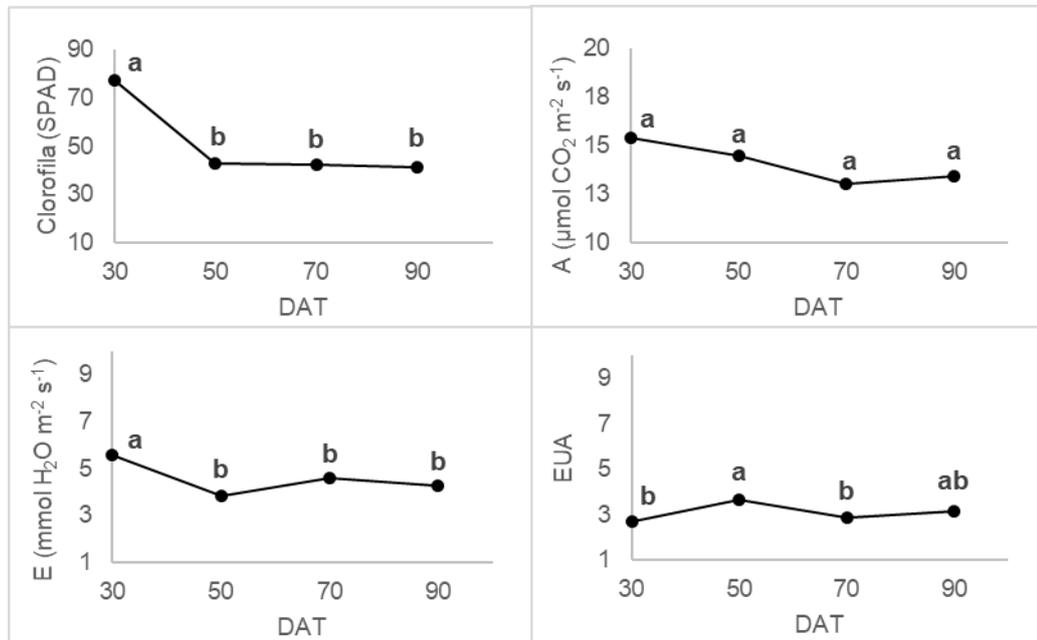


Figura 4. Valores médios de clorofila, taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E) e eficiência do uso da água (EUA) em função do tempo para *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* em Montes Claros, MG. Letras minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste Tukey, a 0,05 de significância

Na análise das características fitoquímicas como, a concentração de derivados do ácido hidroxicinâmico e fenólicos totais, a análise de variância na Tabela 4 mostrou valores significativamente diferentes apenas entre as disponibilidades hídricas. Onde, não ocorreu interação e significância entre as espécies e disponibilidade de água para o conteúdo de prolina.

Os resultados da concentração de prolina não possuem diferença significativa entre os tratamentos, mostrando que a disponibilidade hídrica aplicada não induziu a produção de prolina nas espécies estudadas. Um ambiente estressante provoca aumento no conteúdo de prolina nas plantas que, por sua vez, confere tolerância ao estresse, mantendo o equilíbrio osmótico e estabilizando membranas, impedindo o vazamento de eletrólitos; e elevação da concentração de espécies reativas de oxigênio, evitando o estresse oxidativo (Hayat *et al.*, 2012).

Os valores de fenólicos totais encontrados foram maiores do que os registrados na literatura para as espécies *E. grandiflorus* e *E. scaber* com menos de 3,30 mg equivalentes de catequina g^{-1} de folha (Strada *et al.*, 2017), também seguindo redução no teor em 50AD. O estudo foi realizado em condições controladas de casa de vegetação e, fatores como tempo de exposição e volume de água fornecido

atuam como principais moduladores da resposta dos metabólitos da planta ao estressor, estes podem ou não sofrer alteração na concentração quando submetidos ao estresse hídrico (Albergaria *et al.*, 2020).

Tabela 4. Produtos do metabolismo primário e secundário de *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* aos 90 dias após aplicação dos tratamentos (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) em Montes Claros, MG

Espécie	Prolina ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)			Fenólicos Totais (mg EAT g^{-1} folha)			Ácido hidroxicinâmico (%)		
	CC	50AD	Média	CC	50AD	Média	CC	50AD	Média
<i>E. floribundus</i>	7,157	10,254	8,706A	6,255	5,779	6,017A	1,8	1,068	1,423A
<i>E. subalatus</i>	7,624	7,139	7,381A	6,077	5,888	5,982A	2,154	1,098	1,627A
Média	7,391a	8,696a		6,166a	5,834b		1,965a	1,085a	
CV%	26,02			3,16			27,73		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Tukey, a 0,05 de significância.

A Farmacopeia Brasileira estabelece que a droga vegetal de chapéu-de-couro deve ser constituída das folhas secas, com 2,8% de derivados do ácido hidroxicinâmico (expressos em % de verbacosídeo) em *E. grandiflorus* (Brasil, 2019). Os resultados estão abaixo dos valores estabelecidos e a irrigação a 50AD reduziu esse teor. No entanto, em agosto de 2019 foi realizada uma análise amostral na coleção de germoplasma do ICA/UFMG anterior a implantação do experimento que revelou teores médios de 5,52 e 3,07% para *E. floribundus* e *E. subalatus* respectivamente, demonstrando a similaridade química dessas espécies com as descritas na Farmacopeia Brasileira.

Análises do ácido hidroxicinâmico em outras espécies demonstram que sua presença pode variar em função dos genótipos ou níveis de estresse, ocorrendo plantas que aumentam ou reduzem a concentração em menor disponibilidade hídrica (Szabó *et al.*, 2017). Essa variabilidade, além de química pode ter influência edafoclimática como observado por Bevilaqua *et al.* (2001), espécies de *Echinodorus* provenientes de diferentes regiões apresentaram grande variabilidade na análise cromatográfica dos seus extratos.

Quando teores de metabólitos secundários estão abaixo do preconizado, diversos processos podem estar envolvidos, tais como condições de cultivo, colheita, pós-colheita, secagem e armazenamento do material (Farias, 2003). A sazonalidade e desenvolvimento da planta (idade dos diferentes órgãos vegetais), também são de considerável importância uma vez que a origem dos constituintes ativos não é constante ao longo do tempo, influenciando nas proporções e conteúdo final de metabólitos produzidos (Gobbo-Neto e Lopes, 2011).

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem à FAPEMIG pela aprovação do projeto, ao PET-Agronomia UFMG e os Laboratórios de Plantas Medicinais e Aromáticas (LPM/CPCA), Análise de Resíduos para Aproveitamento Agrícola (LARAA) e Biologia e Manejo de Plantas Daninhas pelo auxílio na condução de análises experimentais.

REFERÊNCIAS

- Albergaria, E. T., Oliveira, A. F. M., Albuquerque, U. P. 2020. The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. *S. Afr. J. Bot.*, **131**: 12-17.
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., Gonçalves, J. L. M., Sparovek, G. 2014. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol. Z.*, **22(6)**: 711-728.
- Baker, N. R. e Rosenqvist, E. 2004. Application of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.*, **55(403)**: 1607-1621.
- Barbosa, U. E., Santos, I. F., Santos, A. M. P., Santos, D. C., Costa, D. M. 2013. Determination and evaluation of the metals and metalloids in the chapéu-de-couro (*Echinodorus macrophyllus* (Kunt) Micheli). *Biol. Trace Elem. Res.*, **154**: 412-417.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant Soil*, **39(1)**: 205-207.
- Bernardo, S., Soares, A. A., Mantovani, E. C. 2006. *Manual de irrigação*. 8ª Edição. Editora UFV, Viçosa.
- Bevilaqua, G. A. P. e Nedel, J. L. 2003. Caracterização morfofisiológica e padrões proteicos de genótipos de chapéu-de-couro. *Revista Brasileira de Agrociência*, **9(3)**: 215-220.
- Bevilaqua, G. A. P., Nedel, J. L., Zuanazzi, J. A., Correa, C. T. 2001. Distribuição geográfica e composição química de chapéu de couro (*Echinodorus* spp.) no Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural*, **31(2)**: 213-218.
- Bolson, M., Hefler, S. R., Chaves, E. I. D., Gasparotto Junior, A., Cardozo Junior, E. L. 2015. Ethnomedicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, **161(23)**: 1-10.
- Brasil. 2019. Farmacopeia Brasileira. 6ª Edição. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília.
- Cardoso, G. L. C., Pereira, N. A., Laianetti, R. 2003. Avaliação das atividades antinociceptiva, antiinflamatória e diurética de chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*, [Cham. e Schl] Mitch, Alismataceae). *Rev. Bras. Farm.*, **84(1)**: 5-7.
- Castro, L. O. e Chemale, V. M. 1995. *Plantas medicinais, condimentares e aromáticas: descrição e cultivo*. Livraria e Editora Agropecuária, Guaíba.
- Dias, E. G. E., Valenzuela, V. C. T., Alves, M. R., Duarte, M. G. R., Garcia, E. F. 2013. Qualidade e autenticidade de folhas de chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*) oriundas de fornecedores de São Paulo. *Rev. Bras. Plant. Med.*, **15(2)**: 250-256.
- Doorenbos, J. e Pruitt, W. O. 1984. *Guidelines for predicting crop water requirements*. Irrigation and Drainage. FAO, Rome.

- Duque, A. S., Almeida, A. M., Silva, A. B., Silva, J. M., Farinha, A. P., Santos, D., Fevereiro, P., Araújo. S. S. 2013. *Abiotic stress responses in plants: unraveling the complexity of genes and networks to survive*. Abiotic stress - plant responses and applications in agriculture. Rijeka: Tech, Croatia.
- Farias, M. 2003. *Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais*. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª Edição. Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis.
- Farias, J. R. B., Bergamaschi, H., Martins, S. R., Berlato, M. A., Oliveira, A. C. B. 1993. Alterações na temperatura e umidade relativa do ar provocados pelo uso de estufa plástica. *Rev. Bras. Agrometeorologia*, **1(1)**: 51- 62.
- Figueirôa, M. F., Barbosa, D. C. A., Simabukuro, E. A. 2004. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. *Acta Bot. Bras.*, **18(3)**: 1-14.
- Friendly, M. e Fox, J. 2017. Candisc: Visualizing Generalized Canonical Discriminant and Canonical Correlation Analysis. R package version 0.8-0.
- Gobbo-Neto, L. e Lopes, N. P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, **30(2)**: 374-81.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. *Plant Signaling Behav.*, **7(11)**: 1456-1466.
- Haynes, R. R. e Holm-Nielsen, L. B. 1994. *Flora Neotropica*. The Alismataceae. New York Botanic Garden, New York.
- Ishida, F. Y., Oliveira, L. E. M., Carvalho, C. J. R., Alves, J. D. 2002. Efeitos da inundação parcial e total sobre o crescimento, teor de clorofila e fluorescência de *Setaria anceps* e *Paspalum repens*. *Cienc. Agrotecnol.*, **26(6)**: 1152-1159.
- Kerbauy, G. B. 2004. *Fisiologia vegetal*. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.
- Kozlowski, T. T. 1984. *Responses of woody plants to flooding*. Flooding and plant growth. Academic Press, New York.
- Kutchan T. M. 2001. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant Physiol.*, **125**: 58-60.
- Larcher, W. *Ecofisiologia vegetal*. 2000. Rima Artes e Textos, São Carlos.
- Lehtonen, S. 2008. An integrative approach to species delimitation in *Echinodorus* (Alismataceae) and the description of two new species. *Kew Bull.*, **63(4)**: 525-563.
- Lehtonen S. 2016. Shutting down the chaos engine—or, identifying some problematic *Echinodorus* (Alismataceae) types. *Annales Botanici Fennici*. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Lourenzani, A. E. B. S., Lourenzani, W. L., Batalha, M. O. 2004. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. *Informações Econômicas*, **34(3)**: 15-25.
- Martin, T. N., Marchese, J. A., Sousa, A. K. F., Curti, G. L., Fogolari, H., Cunha, V. S. 2013. Uso do software ImageJ na estimativa de área foliar para a cultura do feijão. *Interciencia*, **38(12)**: 843-848 2013.
- Maurenza, D., Marengo, R. A., Piedade, M. T. F. 2009. Efeito da inundação de longa duração sob o crescimento de *Pouteria glomerata* (Sapotaceae), uma arbórea da várzea da Amazônia Central. *Acta Amazonica*, **39(3)**: 519-526.
- Nascimento, S. P., Bastos, E. A., Araújo, E. C. E., Freire Filho, F. R., Silva, E. M. 2011. Tolerância ao déficit hídrico em genótipos de feijão-caupi. *Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.*, **15(8)**: 853-860.

- Nogueira, R. J. M. C., Moraes, J. A. P. V., Burity, H. A., Bezerra Neto, E. 2001. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a *deficit* de água. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, **13(1)**: 75-87.
- Pereira, A. R., Angeloci, L. R., Sentelhas, P. C. 2002. *Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas*. Livraria e Editora Agropecuária, Guaíba.
- Pereira, A. R., Vila Nova, N. A., Sedyama, G. C. 1997. *Evapotranspiração*. FEALQ, Piracicaba.
- Ribeiro, E. S. 2014. Anatomia, nutrição e fisiologia de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli ssp. *grandiflorus* submetida ao Chumbo. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Santos, L. M. J., Silva, E. C., Silva Junior, C. D. 2014. Análise preliminar das trocas gasosas, fluorescência da clorofila e potencial hídrico de plantas de juazeiro em uma região semiárida de Sergipe, Brasil. *Sci. Plena*, **10(2)**: 1-10.
- Suassuna, J. F., Melo, A. S., Costa, F. S., Fernandes, P. D., Ferreira, R. S., Sousa, M. S. S. 2011. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivado sob diferentes lâminas de irrigação. *Semina: Cienc. Agrar.*, **32(4)**: 1251-1262.
- Szabó, K., Radácsi, P., Rajhárt, P., Ladányi, M., Németh, E. 2017. Stress induced changes of growth, yield and bioactive compounds in lemon balm cultivars. *Plant Physiol. Biochem.*, **119**: 170-177.
- Taiz, L. e Zeiger, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. 3ª Edição. Editora ARTMED, Porto Alegre.
- Tardivo, R. C., Bach, A., Moro, R. S. 2007. *Macrófitas aquáticas da represa de alagados: patrimônio natural dos Campos Gerais do Paraná*. Editora da UEPG, Ponta Grossa.
- Team, R. Core. R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Found. Stat. Comput. Vienna, Áustria.
- Teixeira, P. C., Donagemma, G. K., Fontana, A., Teixeira, W. G. 2017. *Manual de métodos de análise de solo*. 3ª Edição. Embrapa, Brasília.
- Torres Netto, A., Campostrini, E., Oliveira, J. G., Smith, R. E. B. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Sci. Hortic.*, **104(32)**: 199-209.
- Wust, K. M., Cornelius, M. T. F., Schirrmann, J., Braun, G., Sarragiotto, M. H., Olguin, C. F. A. 2016. Investigação fitoquímica, atividade antioxidante, antifúngica e antibacteriana da parte aérea da macrófita *Paspalum Repens* P. J. Bergius. *Rev. Virtual Quim.*, **8(5)**: 1392-1403.
- Zheng, H. G., Babu, R. C., Md., Pathan, M. S., Ali, L., Ning, H., Coutois, B., Nguyen, H. T. 2000. Quantitative trait loci for root penetration ability and root thickness in rice: comparison of genetic backgrounds. *Genome*, **43(1)**: 53-61.
- Zhu, J., Tremblay, T., Liang, Y. 2012. Comparing SPAD and atLEAF values for chlorophyll assessment in crop species. *Can. J. Soil Sci.*, **92(4)**: 645-648.

5 CONCLUSÃO

E. floribundus e *E. subalatus* apresentam estratégias de sobrevivência eficientes em ambientes não submersos, mantendo a integridade do aparato fotossintético, apesar da redução no crescimento e produção de alguns metabólitos secundários, o que permite o seu cultivo em ambientes não alagados.

APÊNDICE – ACOMPAMENTO DE EXPERIMENTO: TABULAÇÕES E IMAGENS

Tabela 1 – Correlações canônicas (r) e pares canônicos entre as variáveis avaliadas em *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* e disponibilidades hídricas (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD)

Variável	Pares canônicos	
	1º	2º
Folhas	-0,3557	-0,8683
Altura	0,9406	0,0393
Porte	0,9329	0,1977
Massa fresca	0,6534	-0,0878
Massa seca	0,6853	-0,2853
Área foliar	0,8265	0,4364
r	0,9604	0,9365

Tabela 2 – Correlação entre as variáveis biométricas estudadas no crescimento de *E. floribundus* e *E. subalatus* durante ou após 90 dias da aplicação das disponibilidades hídricas (CC – Capacidade de campo e 50AD – 50% da água disponível)

	Correlação					
	Folhas	Altura	Porte	Massa fresca	Massa seca	Área foliar
Folhas	1,0000	-0,4033	-0,5805	-0,4094	-0,1538	-0,7639
Altura	-0,4033	1,0000	0,9780	0,8685	0,8699	0,8955
Porte	-0,5805	0,9780	1,0000	0,8856	0,8278	0,9622
Massa fresca	-0,4094	0,8685	0,8856	1,0000	0,9597	0,7739
Massa seca	-0,1538	0,8699	0,8278	0,9597	1,0000	0,6551
Área foliar	-0,7639	0,8955	0,9622	0,7739	0,6551	1,0000

Tabela 3 – Resumo dos quadrados médios referente às análises de fluorescência. Onde, fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), eficiência fotossintética máxima (F_v/F_m)

FV	GL	Quadrado médio		
		F_0	F_m	F_v/F_m
Espécies (E)	1	361,25 ^{ns}	4321,8 ^{ns}	0,0114*
Disp. Água (D)	1	1566,45 ^{ns}	26645*	0,0013 ^{ns}
E x D	1	328,05 ^{ns}	500 ^{ns}	0,0097*
Bloco	4	1041,7 ^{ns}	12433,2 ^{ns}	0,0013 ^{ns}
Resíduo	12	1079,67	5052,8	0,0017
Total	19			
CV%		18,69	8,83	5,31

^{ns} e *: não significativo e significativo ao nível de 5% pelo teste F; FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; CV: coeficiente de variação.

Tabela 4 – Resumo dos quadrados médios referentes à análise de compostos do metabolismo primário e secundário de *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus*

FV	GL	Quadrado médio		
		Ácido Hidroxicinâmico	Fenólicos totais	Prolina
Espécies (A)	1	0,2081 ^{ns}	0,00592 ^{ns}	8,7781 ^{ns}
Disp. Água (B)	1	3,872*	0,55178*	8,5203 ^{ns}
A x B	1	0,1514 ^{ns}	0,10253 ^{ns}	16,0205 ^{ns}
Bloco	4	0,5486 ^{ns}	0,04031 ^{ns}	7,4803 ^{ns}
Resíduo	12	0,1788	0,03598	4,3821
Total	19			
CV%		27,73	3,16	26,02

^{ns} e * : não significativo e significativo ao nível de 5% pelo teste F; FV: Fonte de variação; GL: Graus de liberdade; CV: coeficiente de variação.

Figura 3 – Curva de calibração do padrão ácido tânico, para teor de flavonoides totais em duas espécies de *Echinodorus* ssp

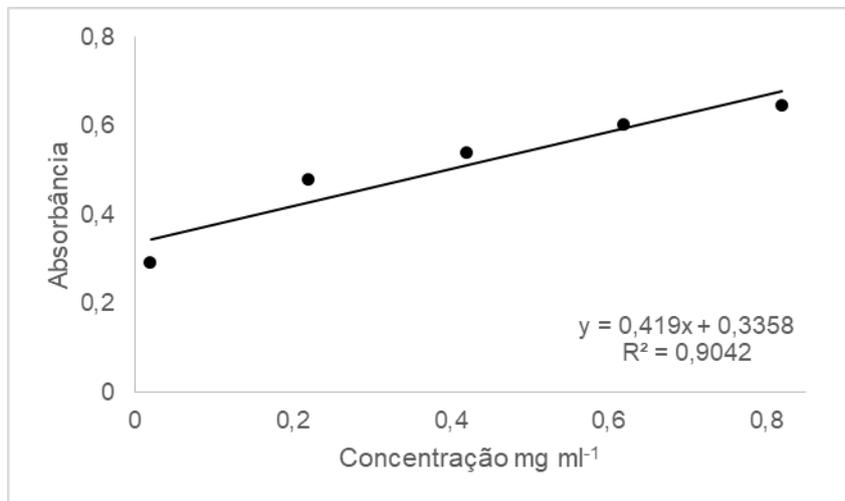


Figura 4 – Curva de calibração do padrão prolina, para teor de prolina em *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus*

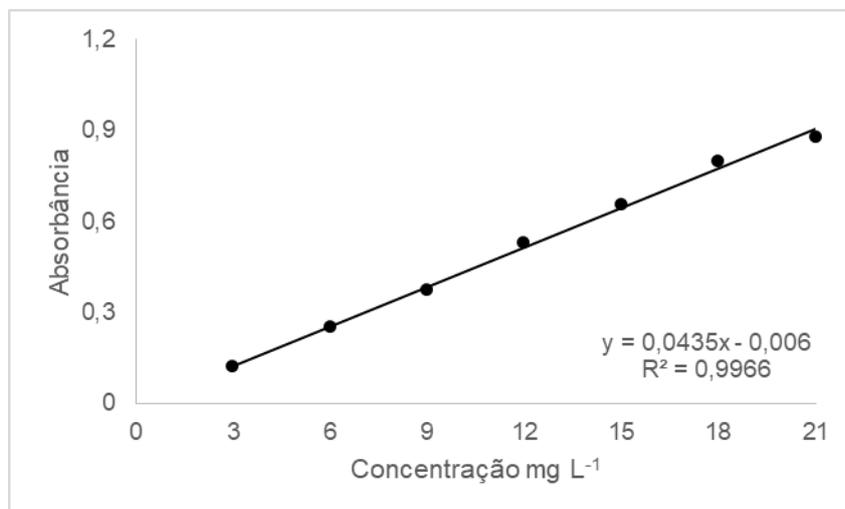


Figura 5 – Representação visual das folhas de *Echinodorus floribundus* e *Echinodorus subalatus* em cada disponibilidade hídrica (capacidade de campo – CC e 50% da água disponível – 50AD) para fins de análise foliar no software ImageJ

