



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

YASMIM MARIA DE ALBUQUERQUE MOURA

**MODULAÇÃO BIOMÉTRICA, BIOQUÍMICA E OXIDATIVA EM *Lippia alba*
SUBMETIDA A ELICITAÇÃO FOLIAR COM QUITOSANA**

**RECIFE
2025**

YASMIM MARIA DE ALBUQUERQUE MOURA

**MODULAÇÃO BIOMÉTRICA, BIOQUÍMICA E OXIDATIVA EM *LIPPIA ALBA*
SUBMETIDAS A ELICITAÇÃO FOLIAR COM QUITOSANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof. Dr. Marcus Vinícius Loss Sperandio

Coorientador (a): Me. Mirella Larissa Lima da Silva

RECIFE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

M929m Moura, Yasmim Maria de Albuquerque.
Modulação biométrica, bioquímica e oxidativa em *Lippia alba* submetidas a elicitação foliar com Quitosana / Yasmim Maria de Albuquerque Moura. – Recife, 2025.
42 f.

Orientador(a): Marcus Vinícius Loss Sperandio.
Co-orientador(a): Mirella Larissa Lima da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado
em Ciências Biológicas, Recife, BR-PE, 2025.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais. 2. Compostos orgânicos. 3. Metabólitos. I. Sperandio, Marcus Vinícius Loss, orient. II. Silva, Mirella Larissa Lima da, coorient. III. Título

CDD 574

YASMIM MARIA DE ALBUQUERQUE MOURA

**MODULAÇÃO BIOMÉTRICA, BIOQUÍMICA E OXIDATIVA EM *LIPPIA ALBA*
SUBMETIDAS A ELICITAÇÃO FOLIAR COM QUITOSANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Data da apresentação: 04/08/2025

BANCA EXAMINADORA

Orientador: _____

Prof. Dr. Marcus Vinicius Loss Sperandio (Orientador)

Examinadora: _____

Bruna Monaiza Silva de Oliveira (Examinador Interno)

Examinador: _____

Me. Rodrigo José da Silva (Examinador Externo)

RECIFE

2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo o apoio durante estes 5 anos de graduação, por celebrarem minhas vitórias, me consolar durante os momentos difíceis, e sempre acreditarem em mim. Em especial, agradeço à minha mãe, minha grande amiga que esteve sempre ao meu lado.

Obrigada às minhas grandes amigas, Bruna, Suellen, Victória e Emília, pelas risadas e momentos felizes que compartilhamos, e pelo consolo nos momentos difíceis. Mesmo que a vida nos empurre para longe, vocês sempre estarão em um cantinho especial no meu coração.

Não poderia escrever esta sessão sem mencionar o Programa de Educação Tutorial (PET), que me proporcionou tantas oportunidades para crescer. Agradeço ao Prof. Dr. Mauro de Melo Jr., que me auxiliou e orientou durante a minha experiência no programa, à Juju, que eu admiro muito, à Layanne, Gabriel, Luciana, Maria Xavier, Victória, e a todos que me acompanharam durante esta jornada.

Obrigada ao LFP por me permitir ter esta oportunidade, ao Prof. Dr. Marcus Vinícius Loss Sperandio por me orientar e me mostrar como a botânica pode ser incrível, à nossa coorientadora Mirella pela sua imensa paciência e modo divertido de ensinar, e todos os integrantes do laboratório.

Agradeço também aos meus amigos de longa distância, que apesar de não estarem presentes fisicamente, sempre estiveram do meu lado em todos os altos e baixos da vida.

Finalmente, quero agradecer à Deus, ao Universo, por me permitir a graça de estar celebrando aqui hoje com saúde e vida; e a mim mesma, por nunca desistir diante das dificuldades.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
é senão uma gota de água no mar, mas o mar
seria menor se lhe faltasse uma gota”
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

A *Lippia alba* é uma espécie de arbusto aromático amplamente utilizada na medicina popular no tratamento de distúrbios gastrointestinais e respiratórios devido às suas propriedades terapêuticas. Esse potencial farmacológico é resultante do acúmulo de metabólitos secundários no interior de suas folhas, o que também confere seu aroma cítrico característico. Na agricultura, uma das principais ferramentas para potencializar a produção de metabólitos específicos é a elicitação, sendo a quitosana um dos compostos mais estudados atualmente. No presente trabalho, foram analisados parâmetros como a altura, número de folhas, diâmetro do caule e biomassa, além da atividade proteica e enzimática. Foram obtidas 24 estacas a partir do banco de germoplasma da UFRPE/SEDE e cultivadas em sistema hidropônico, seguida por aclimação em areia e substrato comercial (1:1). As plantas foram transferidas para vasos e submetidas à elicitação após 30 dias. O experimento utilizou três tratamentos: controle com água destilada, ácido acético a 0,5% e quitosana a 4,0 g/L⁻¹. A coleta das plantas foi realizada 15 dias após a elicitação. As folhas e raízes foram separadas e armazenadas para posteriores análises bioquímicas, incluindo a quantificação dos pigmentos foliares e a determinação das concentrações de malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Adicionalmente, foram analisadas a atividade de enzimas antioxidantes catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD). Os resultados obtidos apontam que a elicitação com quitosana teve efeito modulador positivo em parâmetros de crescimento, tais como altura e massa fresca. Houve uma visível redução nos teores de pigmentos fotossintéticos. Adicionalmente, apesar das plantas elicidadas apresentarem teores elevados de MDA, os níveis de H₂O₂, a atividade enzimática e a concentração de proteínas mantiveram-se estáveis entre os tratamentos. Também foi observado que o ácido acético isolado teve efeitos moduladores nas plantas elicidadas. Dessa forma, a elicitação com quitosana continua como uma potencial ferramenta para melhoramento do rendimento de culturas vegetais, apresentando resultados positivos em plantas de *L. alba*.

Palavras-chave: planta medicinal; elicitores; metabólitos.

ABSTRACT

Lippia alba is a species of aromatic shrub widely used in folk medicine for the treatment of gastrointestinal and respiratory diseases due to its therapeutic properties. This pharmacological potential results from the accumulation of secondary metabolites in its leaves, which also gives it its characteristic citrus aroma. In agriculture, one of the main tools for increasing the production of specific metabolites is elicitation, with chitosan being one of the most studied compounds today. This study analyzed parameters such as height, number of leaves, stem diameter and biomass, as well as protein and enzyme activity. The 24 cuttings used were obtained from the UFRPE/SEDE germplasm bank and grown in a hydroponic system, followed by acclimatization and in sand and commercial substrate (1:1). The plants were then transferred to pots and subjected to elicitation after 30 days. The experiment used three treatments: control with distilled water, 0.5% acetic acid and 4.0 g/L⁻¹ chitosan. The plants were harvested 15 days after elicitation. The leaves and roots were separated and stored for later biochemical analysis, including the quantification of leaf pigments and the determination of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H₂O₂) concentrations. In addition, the activities of the antioxidant enzymes such as catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) were analyzed. The results obtained indicate that chitosan elicitation had a positive modulating effect on growth parameters such as height and fresh mass. There was a visible reduction in photosynthetic pigment levels. Although the elicited plants showed high levels of MDA, H₂O₂ levels, enzyme activity and protein concentration remained stable between treatments. It was also observed that acetic acid alone had modulating effects on the elicited plants. Elicitation with chitosan remains a potential tool for improving the yield of plant crops, showing positive results in *L. alba* plants.

Keywords: medicinal plant; elicitors; metabolites.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Aspecto morfológico de um ramo da espécie *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown da família Verbenaceae. Reparar no formato arredondado e distribuição oposta das lâminas foliares, além da presença de inflorescências do tipo capítulo na sua região axilar. É possível visualizar pilosidade no caule e lâminas foliares. Fonte: Leal (2013) 16
- Figura 2.** Representação das moléculas de quitina (A) e quitosana (B). Fonte: Teixeira-Costa e Andrade (2021) 20
- Figura 3.** Foto das plantas de *L. alba* sendo cultivadas em casa de vegetação. As plantas tinham aproximadamente 20 dias de cultivo no momento da fotografia..... 23
- Figura 4.** Foto de três indivíduos representativos de *L. alba* para cada um dos tratamentos: Controle, Ácido acético a 0,5% e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹. A fotografia foi retirada logo após a coleta de forma a ajudar a visualização das plantas como estavam na casa de vegetação. Paquímetro = 15cm..... 26
- Figura 5.** Parâmetros de crescimento obtidos em *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). (A) Número de folhas; (B) Altura (em centímetros); (C) Diâmetro do caule (em centímetros). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais..... 28
- Figura 6.** Parâmetros de crescimento obtidos em *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). (A) Massa fresca de folha (em gramas); (B) Massa fresca da raiz (em gramas); (C) Massa fresca do caule (em gramas); (D) Razão entre raiz e folhas. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais..... 29
- Figura 7.** Concentração de Pigmentos Fotossintéticos obtidos em folhas de *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido Acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). (A) Clorofila *a*; (B) Clorofila *b*; (C) Clorofila total; (D) Carotenoides. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais..... 30
- Figura 8.** Marcadores oxidativos teor de malondialdeído (MDA) (A) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (B) em folhas de *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido Acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de

letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais..... 31

Figura 9. Atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD) (A), Ascorbato peroxidase (APX) (B), Catalase (CAT) (C) e Concentração de proteínas (D) em folhas de *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido Acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais..... 31

Figura 10. T1 = Controle; T2 = Tratamento com Ácido Acético a 0,5%; T3 = Tratamento com Quitosana a 4,0 g/L⁻¹; NF = Número de folhas; Altura = Comprimento da parte aérea; Razão_RF = Razão entre raiz e folhas; DC = Diâmetro do caule; MF_Folha = Massa fresca das folhas; MF_raiz = Massa fresca da raiz; MF_caule = massa fresca do caule; Ca = Clorofila a; Cb = Clorofila b; Ct = Clorofila total; Car = Carotenoides; H₂O₂ = Concentração de peróxido de hidrogênio; MDA = Malondialdeído; SOD = Atividade da superóxido dismutase; APX = Atividade da ascorbato peroxidase; CAT = Atividade da catalase; Ptn = Proteínas solúveis totais..... 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados da análise ANOVA.....	27
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Ácido Acético
APX	Ascorbato Peroxidase
ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
HCA	Análise de Cluster Hierárquico (“Hierarchical Cluster Analysis”)
MDA	Malondialdeído
MF	Massa Fresca
PAMP	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PRR	Receptores de Reconhecimento de Padrão
QUI	Quitosana
SOD	Superóxido Dismutase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	<i>Lippia alba</i>	16
2.2	Elicitação	17
2.3	Quitosana	19
3	OBJETIVOS	22
3.1	Objetivo geral	22
3.2	Objetivos específicos	22
4	METODOLOGIA	23
4.1	Material vegetal e condução do experimento	23
4.2	Análise dos pigmentos foliares	24
4.3	Determinação da concentração de MDA e H ₂ O ₂	24
4.4	Análise enzimática e proteínas	25
4.5	Análise estatística	25
5	RESULTADOS	26
5.1	Parâmetros de crescimento	28
5.2	Pigmentos Fotossintéticos	29
5.3	Análise oxidativa e enzimática	30
5.4	Análise multivariada	32
6	DISCUSSÃO	33
7	CONCLUSÃO	36
8	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia* Linn., pertencente à família Verbenaceae abrange mais de 200 espécies de diferentes hábitos (Munir, 1993). Dentre elas, a espécie *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, destaca-se por seu papel significativo na medicina tradicional brasileira. Trata-se de um arbusto aromático que pode atingir 2m de altura, com folhas opostas e inflorescências do tipo capítulo (Matos, 1998). O seu aroma característico é resultante da produção de metabólitos que estão presentes em seus óleos essenciais. Estes compostos podem variar quanto à sua qualidade e quantidade, de acordo com fatores climáticos e estado de desenvolvimento da planta (Tavares *et al.*, 2005; Tubay-Bermúdez *et al.*, 2024). Estudos comprovam que os componentes do seus óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana, antioxidante e nefroprotetora (Aguiar *et al.*, 2008; Farias *et al.*, 2019; Cavalcanti *et al.*, 2023). Desta forma, a *L. alba* apresenta notável importância farmacológica, o que estimula a busca por estratégias que otimizem a produção de seus compostos bioativos. Entre essas estratégias, destaca-se o uso de elicitores, como a quitosana, substância capaz de modular a biossíntese de metabólitos secundários (Li *et al.*, 2020).

A elicitação é uma técnica que consiste na utilização de componentes, chamados elicitores, capazes de induzir respostas fisiológicas em vegetais. Dentre estes compostos, a quitosana recebe destaque principalmente devido a sua biodegradabilidade e disponibilidade no ambiente (Dash *et al.*, 2011). Trata-se de um biopolímero derivado da quitina presente em crustáceos e utilizado na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia, entre outras. No âmbito da agricultura, a quitosana é utilizada principalmente na proteção das plantas contra microrganismos, cobertura de tecidos vegetais, estimulação da germinação e crescimento (Solgi, 2018). Além disso, suas nanopartículas são empregadas na indústria agroquímica para otimizar a eficiência e redução da toxicidade de diversos compostos (Gumelar *et al.*, 2020). Estudos indicam que sua aplicação pode promover alterações em parâmetros biométricos, como altura, biomassa e desenvolvimento foliar, configurando-a como um bioestimulante natural (Tovar *et al.*, 2018; Martínez *et al.*, 2024).

Pesquisas recentes demonstram que a quitosana possui ação moduladora de processos metabólicos e otimizadora de síntese de compostos secundários

(Menéndez; Rodríguez; Hernández, 2020), evidenciando seu potencial na indução de respostas de defesa e adaptação. Como elicitador, a quitosana atua promovendo a ativação de vias metabólicas específicas, o que resulta no aumento da biossíntese de metabólitos de interesse, como flavonoides, terpenos e alcaloides (Silva *et al.*, 2022). Em síntese, sua aplicação favorece o desenvolvimento das culturas, aumentando a biomassa, a resistência ao estresse e a eficiência fotossintética, contribuindo para a melhoria da adaptação a condições adversas e para a produção de metabólitos de interesse econômico.

Cabe ressaltar que a aplicação de quitosana teve resultados positivos no desenvolvimento das culturas, contribuindo para o aumento da biomassa, resistência e eficiência fotossintética. Estas respostas são essenciais para garantir uma melhor adaptação às condições adversas e para otimizar a produção de compostos bioativos. No entanto, apesar dos benefícios observados em outras culturas, há uma escassez de estudos que investiguem os efeitos da elicitação em plantas de *L. alba* (Silva-Santos *et al.*, 2023).

A crescente demanda por terapias naturais, em conjunto com a utilização de plantas medicinais nas indústrias farmacêutica, cosmética, entre outras, evidencia a importância de estudos que explorem formas de otimizar a produção de compostos bioativos (Rahman *et al.*, 2022). Neste contexto, o uso de elicitores surge como uma alternativa promissora para aliar produtividade, qualidade e sustentabilidade no cultivo de plantas medicinais.

Trabalhos anteriores evidenciam a capacidade da quitosana de modular processos metabólicos em diversos cultivos, estimulando a biossíntese de metabólitos secundários de interesse, como flavonoides, terpenos e alcaloides (Stasińska-Jakubas; Hawrylak-Nowak, 2022). Além disso, sua natureza biodegradável e de baixa toxicidade, torna-a uma ferramenta promissora para aprimorar a produção de metabólitos secundários.

Assim, o presente estudo se fundamenta no princípio de que o estímulo adequado, por meio de agentes elicitores, pode representar uma alternativa viável para intensificar a produção de metabólitos de interesse econômico em plantas de *L. alba*. Ademais, parte da hipótese de que a elicitação por quitosana como agente elicitador será capaz de promover alterações fisiológicas e bioquímicas em *L. alba*, potencializando o seu rendimento.

Espera-se que a elicitação estimule vias metabólicas específicas responsáveis pela produção de compostos secundários, além de favorecer o crescimento vegetal por meio da modulação de parâmetros biométricos, como altura, número de folhas e massa fresca. Dessa forma, o uso da quitosana pode configurar-se como uma estratégia eficaz para potencializar a produtividade e a qualidade fitoquímica desta espécie de interesse medicinal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Lippia alba*

Publicada pela primeira vez em 1925 pelo botânico Philip Miller (1691–1771), a *L. Alba* é um arbusto aromático de morfologia variável pertencente à família Verbenaceae. Pode atingir cerca de dois metros de altura, com ramos finos e flexíveis. Apresenta pilosidade foliar, folhas opostas de formato arredondado ou lanceolado, com margem serrilhada e ápice agudo (Figura 1). É nativa das regiões da América do Norte, Central e Sul, e foi introduzida artificialmente em algumas regiões da Europa, Ásia e Austrália (Matos, 2000; Flora do Brasil, 2020).

Figura 1. Aspecto morfológico de um ramo da espécie *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown da família Verbenaceae. Reparar no formato arredondado e distribuição oposta das lâminas foliares, além da presença de inflorescências do tipo capítulo na sua região axilar. É possível visualizar pilosidade no caule e lâminas foliares.



Fonte: Leal (2013).

O nome popular “erva-cidreira” é utilizado para denominar espécies de arbustos aromáticos de distintas famílias botânicas, como a “melissa” (*Melissa*

officinalis) e a “erva-luísia” (*Aloysia citriodora*), além da própria *L. alba*. Seu aroma é resultante da presença de compostos químicos (terpenos) em seu óleo essencial (Castro *et al.*, 2004). Os óleos essenciais são uma mistura de compostos voláteis de metabólitos secundários aromáticos, como terpenos, ésteres e hidrocarbonetos saturados e insaturados (Sousa *et al.*, 2022). Quando absorvidos pelo organismo, esses compostos possuem propriedades farmacológicas, antimicrobianas, cardioprotetoras e nefroprotetoras, entre outras (Aguiar *et al.*, 2008; Batista *et al.*, 2018; Cavalcanti *et al.*, 2023).

No Brasil, essa espécie é amplamente utilizada pela população brasileira para o tratamento de sintomas de gripes, resfriados e bronquite. As partes aéreas das plantas são as mais utilizadas, principalmente na forma de infusão, chás e decoctos (Oliveira *et al.*, 2006). Tendo em vista a sua importância na medicina tradicional, muitas espécies do gênero *Lippia*, particularmente a *L. alba*, têm sido investigadas do ponto de vista farmacológico, buscando compreender as propriedades que as levaram a serem utilizadas como medicamento por gerações.

Em relação a sua fitoquímica, foram realizados estudos visando a avaliação da composição química de partes aéreas da *L. alba*. O trabalho de Teixeira de Oliveira *et al.*, (2018) revelou a presença de flavonoides e ácidos fenólicos, além do ácido clorogênico e isorhamnetina, compostos que possuem reconhecidas propriedades que contribuem para os efeitos terapêuticos observados na medicina tradicional.

A *L. alba* é comumente cultivada para a fabricação de remédios naturais, particularmente por comunidades tradicionais e famílias residentes de zonas rurais. Com o avanço da medicina moderna, medicamentos tradicionais derivados de espécies como a erva-cidreira terminam por ser substituídos por fármacos industrializados, porém, as propriedades das biomoléculas oriundas dessa espécie chamam a atenção da indústria farmacológica moderna (Castro *et al.*, 2020).

2.2 Elicitação

Uma das técnicas mais promissoras para o aumento da produção dos metabólitos secundários é a elicitação, que consiste no tratamento de plantas com agentes químicos ou físicos, naturais ou sintéticos, capazes de induzir ou intensificar o sistema de defesa em vegetais, sendo estes agentes chamados de elicitores

(Radman *et al.*, 2003). Ademais, pode-se induzir a produção de biomoléculas de interesse, aumentar taxas de germinação, entre outros (Ramirez-Estrada *et al.*, 2016). Quando há presença de elicitores, as plantas intensificam a expressão de genes específicos e iniciam respostas de estresse, o que resulta em maior produção de compostos secundários ou alteração destes (Narayani; Srivastava, 2017).

Elicitores são classificados de acordo com sua origem. Elicitores abióticos são agentes físicos ou químicos, a exemplo da radiação UV e íons metálicos, já os bióticos incluem biopolímeros como a quitosana e polissacarídeos microbianos (Medeiros *et al.*, 2023). Também podem ser divididos em exógenos, substâncias originadas de fora da planta, e endógenos, que são produzidos dentro das plantas.

Os efeitos de elicitores abióticos exógenos, particularmente da intensidade luminosa e fotoperíodo, foram avaliados no trabalho de Murthy *et al.*, (2024), no qual várias fontes de luz e seus efeitos no tecido vegetal foram comparados. Foram considerados parâmetros como comprimentos de onda, intensidade e duração do fotoperíodo. Luzes ultravioleta (UV), azuis, vermelhas e fluorescentes resultaram no aumento do acúmulo de bioativos em culturas de células. Em relação aos elicitores bióticos, são exemplos notáveis a pectina e extratos de leveduras. Em um experimento conduzido por Kanthaliya *et al.*, (2023), onde culturas de *Pueraria tuberosa* receberam tratamento com estes elicitores apresentaram um aumento significativo na concentração de metabólitos como a clorofila, proteínas, carboidratos, flavonóides e isoflavonóides.

No caso de moléculas sinalizadoras, a exemplo dos fitohormônios metiljasmonato e ácido salicílico, estão ligadas tanto às respostas para estresse biótico quanto abiótico em plantas, podendo induzir a produção de flavonóides, compostos fenólicos e polifenóis (Mendonza *et al.*, 2018). Já foi comprovado que a utilização de elicitores, independente de natureza biótica ou abiótica para a produção de substâncias específicas é uma técnica eficaz para diminuição do tempo de processamento, aumento da concentração de produtos e, conseqüentemente, melhor produtividade (Selwal *et al.*, 2023).

A importância da elicitação como método de aumento de produção de metabólitos secundários de interesse foi amplamente comprovada. No trabalho desenvolvido por Anamika Paul (2022), extratos derivados de fungos foram utilizados como elicitores em cultivos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Ao final do experimento, a elicitação intensificou a produção de metabólitos secundários,

estimulando duas vias metabólicas simultaneamente. Pode-se afirmar, portanto, que o metabolismo secundário de culturas vegetais é alterado de forma significativa de acordo com o tipo de elicitores as quais são expostas, particularmente em culturas *in vitro* (Narayani; Srivastava, 2017).

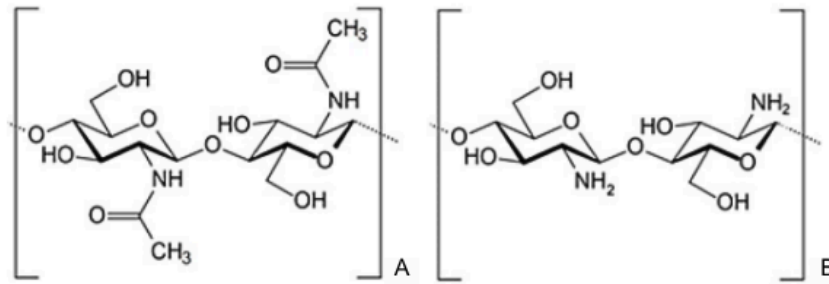
Contudo, elicitores devem ser manuseados e aplicados cuidadosamente, já que sua aplicação irregular pode resultar em estresse excessivo, perda de produtividade, inviabilidade, entre outros. Ademais, a efetividade de elicitores pode variar significativamente de acordo com a espécie cultivada, tipo de tecido que está sendo tratado, e condições ambientais, gerando resultados inconsistentes de um tratamento para outro (Humbal; Pathak, 2023). Uma vantagem dos elicitores abióticos é a possibilidade de serem precisamente regulados em um ambiente de laboratório, facilitando a obtenção de resultados mais regulares (Caicedo-López *et al.*, 2021).

Apesar desta vantagem, elicitores abióticos podem apresentar riscos à saúde humana e ambiental, particularmente quando são empregados em larga escala (Thakur; Sohal, 2013). Assim, elicitores de origem biótica são alvo de inúmeras pesquisas para utilização em cultivos, visando sua relativa baixa toxicidade e reduzido risco de contaminação do meio ambiente.

2.3 Quitosana

A quitosana é um biopolímero derivado da quitina que possui um histórico muito positivo como elicitador exógeno. Além de sua atividade iniciadora, a quitosana tem inúmeras aplicações na agricultura, biomedicina e biotecnologia devido à sua biodegradabilidade, disponibilidade no ambiente, baixa toxicidade e biocompatibilidade com organismos vivos. (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009). A quitina é uma das substâncias mais presentes na natureza, logo abaixo da glicose, composta por unidades de N-acetil-d-glucosamina ligadas por ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$. A quitosana, sua derivada, é extraída pela desacetilação da quitina na carapaça de crustáceos, principalmente camarões, com uma solução alcalina como o hidróxido de sódio (Figura 2) (Giri *et al.*, 2021).

Figura 2. Representação das moléculas de quitina (A) e quitosana (B).



Fonte: Teixeira-Costa e Andrade (2021).

As propriedades da quitosana são atribuídas à presença de três grupos funcionais em sua estrutura molecular e à sua solubilidade em ambientes ácidos (Fideles *et al.*, 2008). Adicionalmente, o caráter catiônico de grupo NH_2 livre em sua porção GlcN potencializa propriedades como sua atividade antimicrobiana (Morin-Crini *et al.*, 2019). Portanto, inibe o crescimento de fungos e bactérias, além de formar coberturas comestíveis que podem ser utilizadas na agricultura, medicina e cosméticos. É aplicada em torno de frutas, vegetais e até medicamentos, visando prolongar o seu tempo de armazenamento ao retardar a ação de fitohormônios relacionados à maturação e ação de microrganismos (Romanazzi *et al.*, 2018). É um biopolímero seguro e de baixo custo de produção, sendo comumente utilizado como alternativo para elicitores sintéticos devido à sua capacidade de estimular o sistema imune vegetal e a biossíntese de moléculas (Liu *et al.*, 2023).

Ao ser aplicada de forma exógena, a quitosana interage com componentes da parede celular e da membrana plasmática, particularmente com glicoproteínas, desencadeando sinais de estresse para o vegetal (Pavinatto, 2010). Ela promove a imunidade e resistência a fitopatógenos, além de estimular a produção de metabólitos secundários relacionados a respostas de defesa (Suwanchaikasen *et al.*, 2024). No artigo elaborado por Samaneh Kahromi e Jalil Khara (2020), foi visto que a elicitação por quitosana em culturas de *Dracocephalum kotschy* aumentou significativamente a concentração de peróxido de hidrogênio nas plantas elicitadas, possibilitando maior atividade enzimática e melhor absorção de nutrientes. Outras substâncias não enzimáticas como fenóis e flavonóides também obtiveram aumento em relação ao grupo controle.

Estudos indicam que a efetividade da quitosana como elicitador está relacionada à sua capacidade de estimular vias de sinalização relacionadas ao metabolismo, estresse e crescimento vegetal (Turk, 2019). Assim, pode-se deduzir que a quitosana poderia ser utilizada como protetor agrícola e bioestimulante vegetal em cultivos em larga escala, particularmente em culturas voltadas para a produção de alimentos. Muitos elicitores apresentam um certo risco quanto a sua utilização em campos, além de não serem completamente seguros para o consumo humano, existe um risco de contaminação do ambiente na qual a cultura está inserida, podendo acumular-se e apresentar um risco à saúde humana e ambiental (CAICEDO-LÓPEZ *et al.*, 2021). Tendo isso em vista, a natureza biodegradável e não tóxica, torna a quitosana uma alternativa sustentável aos produtos agroquímicos convencionais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da elicitação com quitosana nos parâmetros biométricos, alterações bioquímicas e respostas oxidativas de *Lippia alba*.

3.2 Objetivos específicos

- Mensurar os parâmetros biométricos e fisiológicos relativos ao crescimento, altura das plantas, número de folhas, diâmetro do caule e comprimento das raízes;
- Examinar processos bioquímicos e proteínas em folhas de *L. alba*;
- Analisar a resposta oxidativa com análise dos teores de MDA, H₂O₂ e atividade enzimática;
- Realizar análises multivariadas para relacionar os efeitos da elicitação, a modulação morfológica e bioquímica.

4 METODOLOGIA

4.1 Material vegetal e condução do experimento

As plantas de *L. alba* foram adquiridas a partir do banco de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e o experimento foi realizado na casa de vegetação do Departamento de Biologia (Área de Botânica). As estacas com aproximadamente 25 cm foram cultivadas durante 23 dias em um sistema hidropônico com uma solução nutritiva descrita por Hoagland (Hoagland; Arnon, 1950). Após a emissão do sistema radicular, foram selecionados ramos contendo 3 segmentos nodais como explantes. As estacas selecionadas foram plantadas em tubetes contendo mix de substrato comercial e areia (1:1), visando a aclimação das plantas. O período de aclimação teve duração de 14 dias. Em seguida, as plantas foram transferidas para sacos de polietileno com capacidade de 5,0 L contendo o mesmo mix da etapa anterior. As plantas foram regadas diariamente e o monitoramento da umidade foi medido utilizando o sensor de umidade do solo HydroSense II CS 658, visando manter o substrato com aproximadamente 70% de umidade. 30 dias após a aclimação, foi realizada a aplicação dos elicitores (Figura 3).

Figura 3. Foto das plantas de *L. alba* sendo cultivadas em casa de vegetação. As plantas tinham aproximadamente 20 dias de cultivo no momento da fotografia.



O experimento utilizou 24 plantas, distribuídas em três tratamentos distintos: (1) controle, com aplicação exclusiva de água destilada; (2) tratamento com ácido acético a 0,5%; e (3) tratamento com quitosana a 4,0 g/L⁻¹. Devido à insolubilidade da quitosana em água, o ácido acético a 0,5% foi utilizado para a sua dissolução (Silva-Santos *et al.*, 2023). Adicionalmente, um grupo foi elicitado apenas com ácido acético para verificar se este por si só impactaria o desenvolvimento das plantas, já que foi empregado na diluição da quitosana. Para otimizar a adesão das soluções às folhas, foi adicionado Tween 20 emulsionado, na proporção de 1 gota para cada 500 mL de solução. O processo de elicitação das plantas foi feito de aspersão manual até ser atingido o ponto de escorrimento, estimados aproximadamente 70 ml de solução por indivíduo.

Após 45 dias, as plantas foram coletadas e suas raízes e partes aéreas foram separadas, sendo parte do material congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -20 °C para as análises bioquímicas. As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fisiologia de Plantas (LFP) da UFRPE. Durante todo o período experimental, foram efetuadas mensurações quinzenais da altura das plantas (em centímetros), número de folhas, número de inflorescências e diâmetro do caule (em milímetros). Ademais, foram registrados o comprimento das raízes (em centímetros) e a massa fresca das raízes e da parte aérea das plantas.

4.2 Análise dos pigmentos foliares

A determinação dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foi realizada conforme descrito por Bezerra Neto e Barreto (2011). Para isso, as amostras foram submetidas à extração com acetona a 80%. Após a extração, os extratos foram filtrados e, quando necessário, centrifugados para a remoção de impurezas. As concentrações dos pigmentos foram calculadas com base nas equações de Lichtenthaler (1987).

4.3 Determinação da concentração de MDA e H₂O₂

A quantificação das concentrações de MDA e H₂O₂ foi baseada nos métodos descritos por Bradford (1976), Heath e Packer (1968) e Alexieva *et al.*, (2001). Foram macerados 200 mg de material vegetal da folha em 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. O material foi, então, centrifugado a 10.000 x g por 15

minutos. Após a centrifugação, foram coletados 500 µL do sobrenadante em um tubo de vidro com tampa contendo 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,5 em TCA 20%.

4.4 Análise enzimática e de proteínas

A avaliação da atividade das enzimas antioxidantes: catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD) foi feita de acordo com os protocolos estabelecidos por Havir e McHale (1987), Nakano e Asada (1981) e Giannopolitis e Ries (1977) respectivamente. O extrato para a condução do experimento foi o mesmo utilizado na determinação da atividade proteica solúvel, na qual seguiu o protocolo de Bradford (1976).

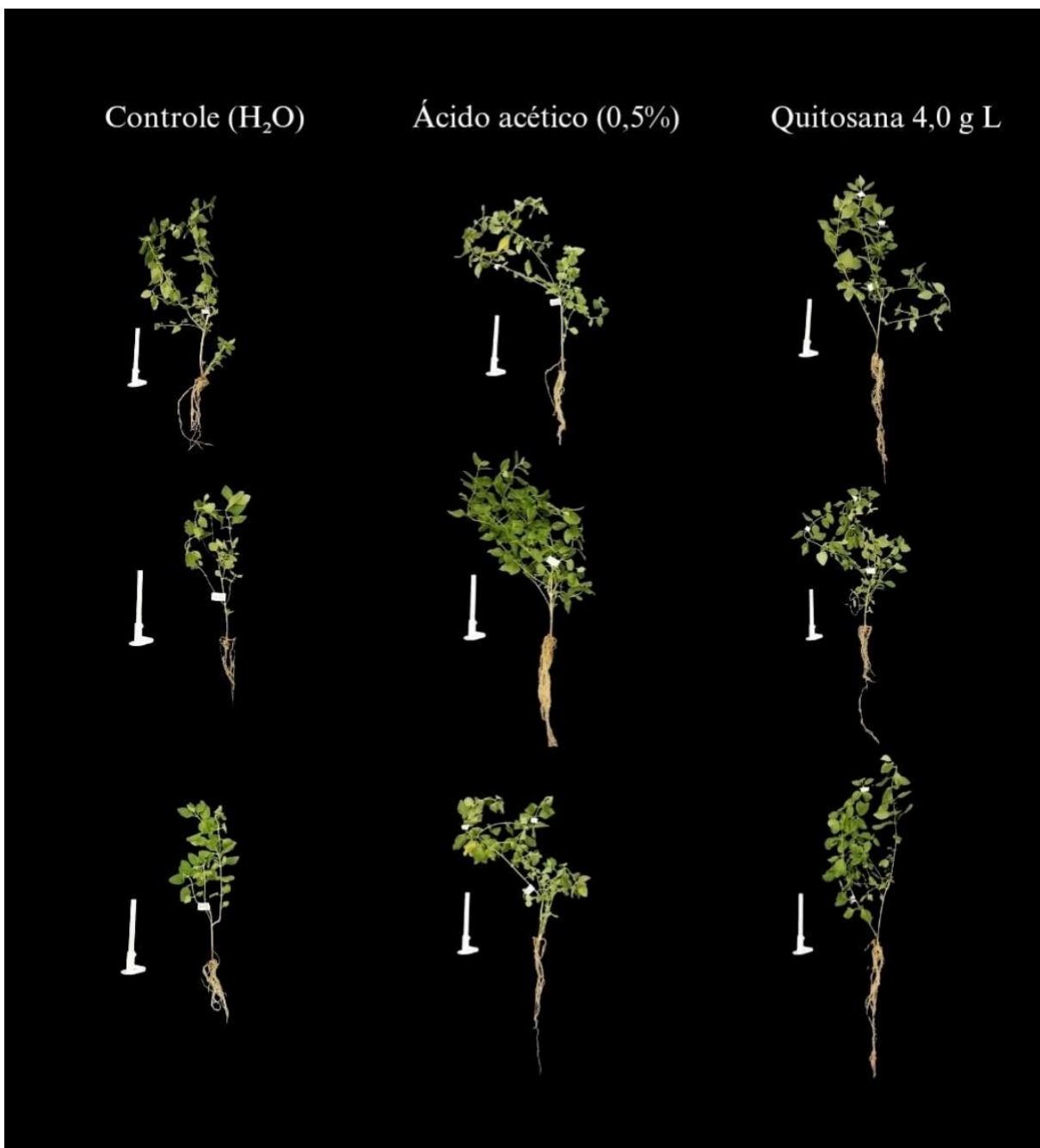
4.5 Análises estatísticas

Os dados quantitativos foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias finais foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, utilizando nível de significância de 5%. Adicionalmente, foi realizada uma análise de cluster hierárquico (AHC) com todos os resultados obtidos. Todas as análises estatísticas foram executadas utilizando o Software RStudio (R Core Team, 2023).

5 RESULTADOS

Os resultados indicam que o tratamento com elicitores promoveu aumento significativo no desenvolvimento morfológico (Figura 4) e respostas bioquímicas em *L. alba*, como evidenciado pela Tabela 1.

Figura 4. Foto de três indivíduos representativos de *L. alba* para cada um dos tratamentos: Controle, Ácido acético a 0,5% e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹. A fotografia foi retirada logo após a coleta de forma a ajudar a visualização das plantas como estavam na casa de vegetação. Paquímetro = 15cm.



Os resultados indicam que o tratamento com elicitores promoveu aumento significativo no desenvolvimento morfológico e respostas bioquímicas em *L. alba*, como evidenciado pela Tabela 1. Os parâmetros de crescimento apresentaram, em grande parte, divergências entre os tratamentos, com a massa fresca da raiz, massa fresca do caule e a razão entre raiz e folhas apresentando $p < 0,05$. Já a massa fresca foliar e altura obtiveram $p < 0,001$. Não houveram divergências significativas no número de folhas e no diâmetro do caule. Em relação aos pigmentos fotossintéticos, a clorofila *a* obteve resultados significativos, com um $p < 0,01$. Em contrapartida, a clorofila *b*, total e carotenóides mantiveram um $p < 0,05$. Quanto aos marcadores oxidativos, apenas o MDA obteve divergências, com um $p < 0,01$. Por fim, nenhuma das enzimas estudadas apresentaram variância significativa em seus resultados. Detalhes sobre as divergências de cada parâmetro serão melhor elucidados nos tópicos seguintes.

Tabela 1. Resultados da análise ANOVA.

Variáveis	Elicitores
MF_folha	***
MF_raiz	*
MF_caule	*
Razão_RF	*
NF	ns
A	***
DC	ns
Ca	**
Cb	*
Ct	*
Car	*
MDA	**
H ₂ O ₂	ns
SOD	ns

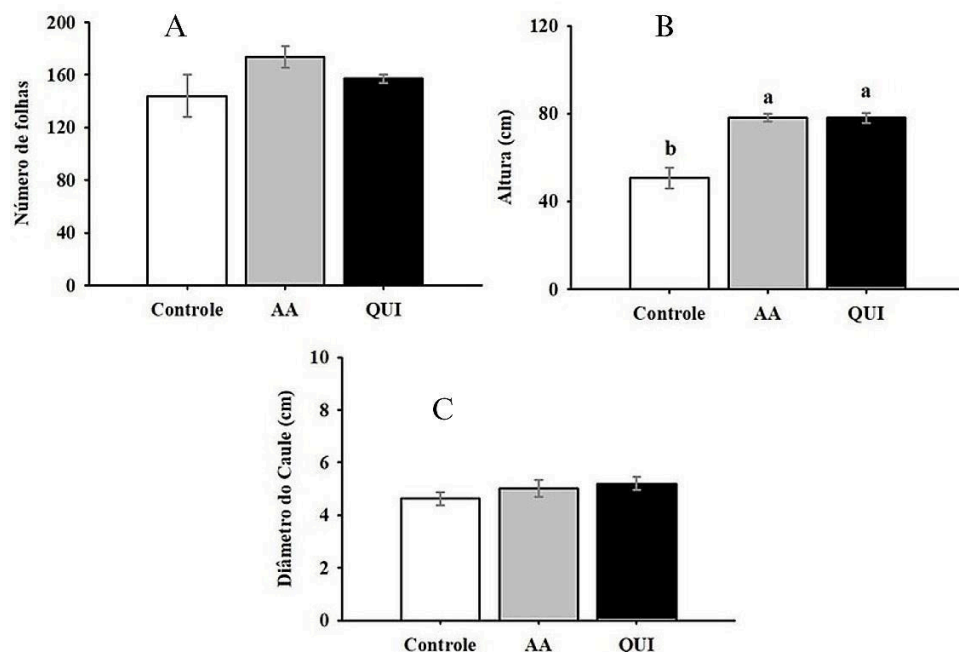
CAT	ns
APX	ns
Ptn	ns

MF_folha = Massa fresca das folhas; MF_raiz = Massa fresca da raiz; MF_caule = Massa fresca do caule; Razão_RF = Razão entre raiz e folhas; NF = Número de folhas; A = Altura da parte aérea; DC = Diâmetro do caule; Ca = Clorofila *a*; Cb = Clorofila *b*; Ct = Clorofila total; Car = Carotenóides; MDA = Malondialdeído; H₂O₂ = Concentração de peróxido de hidrogênio; SOD = Atividade de superóxido dismutase; CAT = Atividade da catalase; APX = Atividade da ascorbato peroxidase; Ptn = Proteínas solúveis totais; ns = Diferença não significativa; p<0,05 = *; p<0,01 = **; p<0,001 = ***.

5.1 Parâmetros de Crescimento

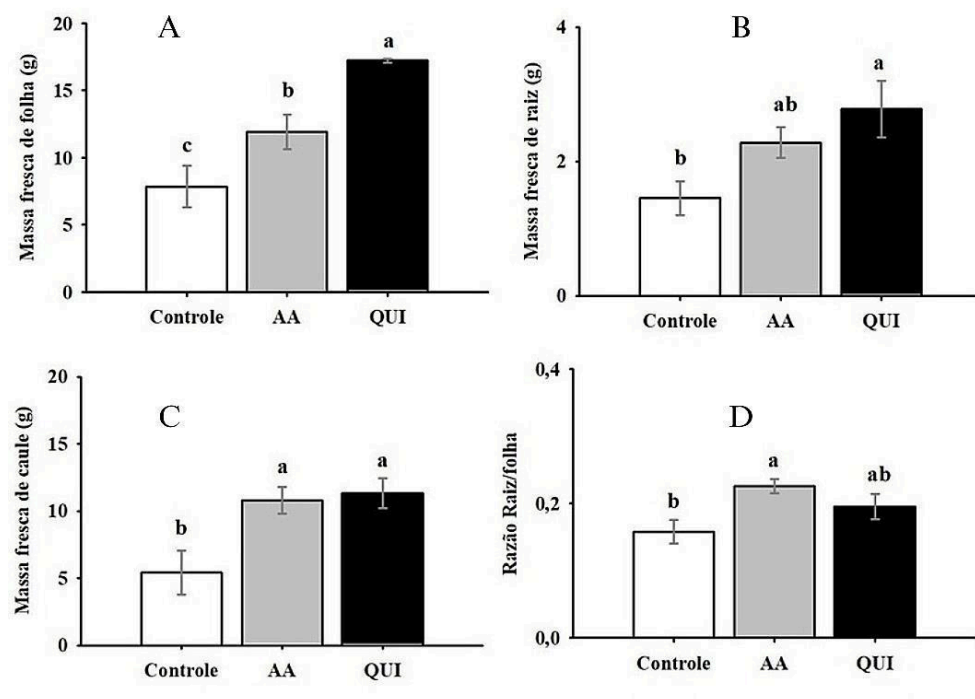
Embora não se tenham observado diferenças significativas no número de folhas e no diâmetro do caule, a elicitação induziu um aumento no comprimento da parte aérea das plantas, conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5. Parâmetros de crescimento obtidos em *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). (A) Número de folhas; (B) Altura (em centímetros); (C) Diâmetro do caule (em centímetros). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais.



Adicionalmente, observou-se um incremento na massa fresca foliar após a elicitação, com destaque para o efeito da quitosana. Os parâmetros da massa fresca da raiz, do caule, bem como a razão entre a raiz e as folhas, também apresentaram efeitos positivos pela elicitação em relação ao tratamento controle (Figura 6).

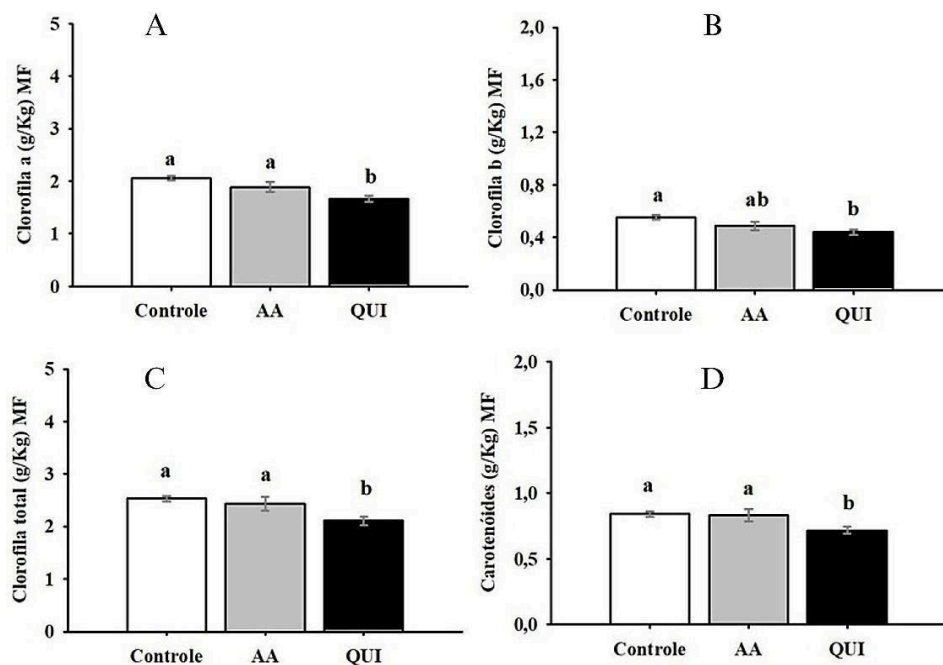
Figura 6. Parâmetros de crescimento obtidos em *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). (A) Massa fresca de folha (em gramas); (B) Massa fresca da raiz (em gramas); (C) Massa fresca do caule (em gramas); (D) Razão entre raiz e folhas. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais.



5.2 Pigmentos Fotossintéticos

A análise dos teores de pigmentos foliares revelou uma redução significativa nas concentrações de pigmentos fotossintéticos no grupo submetido ao tratamento com quitosana. Em contraste, o ácido acético isolado não demonstrou efeito modulador substancial sobre esses pigmentos, com exceção da clorofila *b*, para a qual se observou uma discreta diminuição em sua concentração (Figura 7).

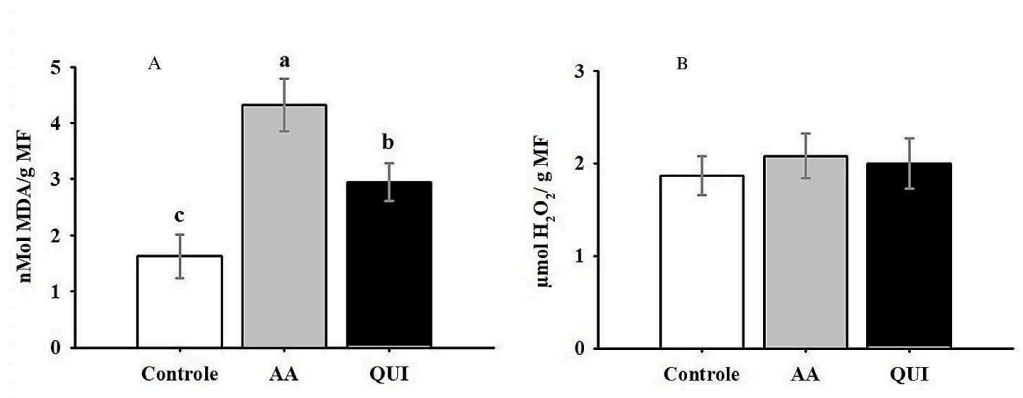
Figura 7. Concentração de Pigmentos Fotossintéticos obtidos em folhas de *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido Acético a 0,5% (AA) e Quitosana a 4,0 g/L⁻¹ (QUI). (A) Clorofila a; (B) Clorofila b; (C) Clorofila total; (D) Carotenóides. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais.



5.3. Análise oxidativa e Enzimática

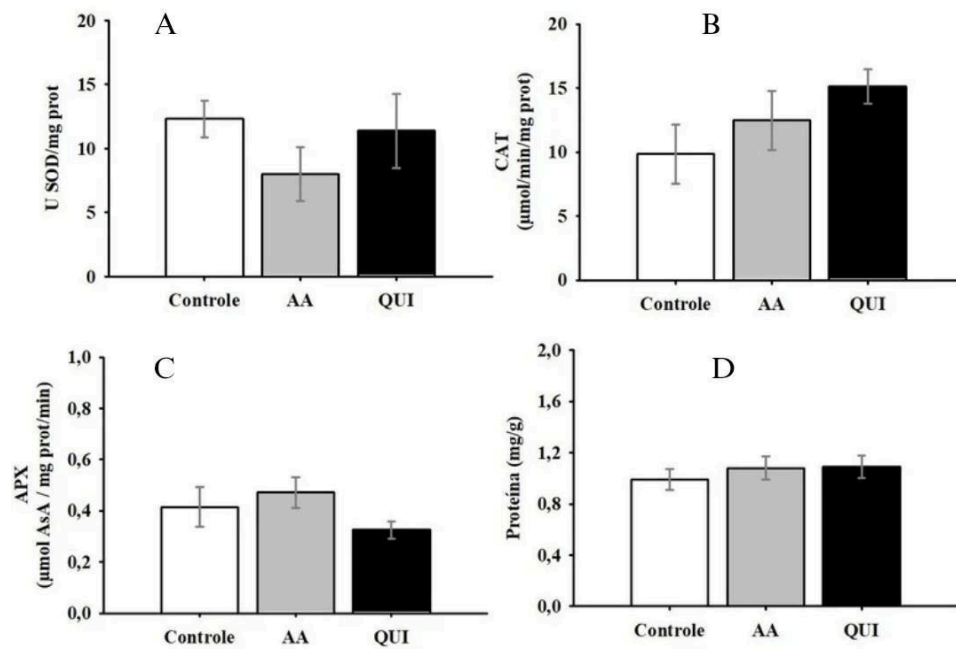
O teor de MDA aumentou significativamente com a elicitação, sendo a maior concentração encontrada no tratamento com AA (Figura 8A). Em contrapartida, os níveis de H₂O₂ estavam em equilíbrio e não demonstraram ter sido afetados pela elicitação (Figura 8B).

Figura 8. Marcadores oxidativos teor de malondialdeído (MDA) (A) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (B) em folhas de *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido Acético a 0,5% (AA) e Quitosana a $4,0\text{ g/L}^{-1}$ (QUI). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais.



Em relação à atividade enzimática, não houveram divergências significativas entre ambos os tratamentos e o controle. As atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX mantiveram-se semelhantes entre todos os grupos. Adicionalmente, a concentração de proteínas não sofreu alterações entre todos os tratamentos (Figura 9)

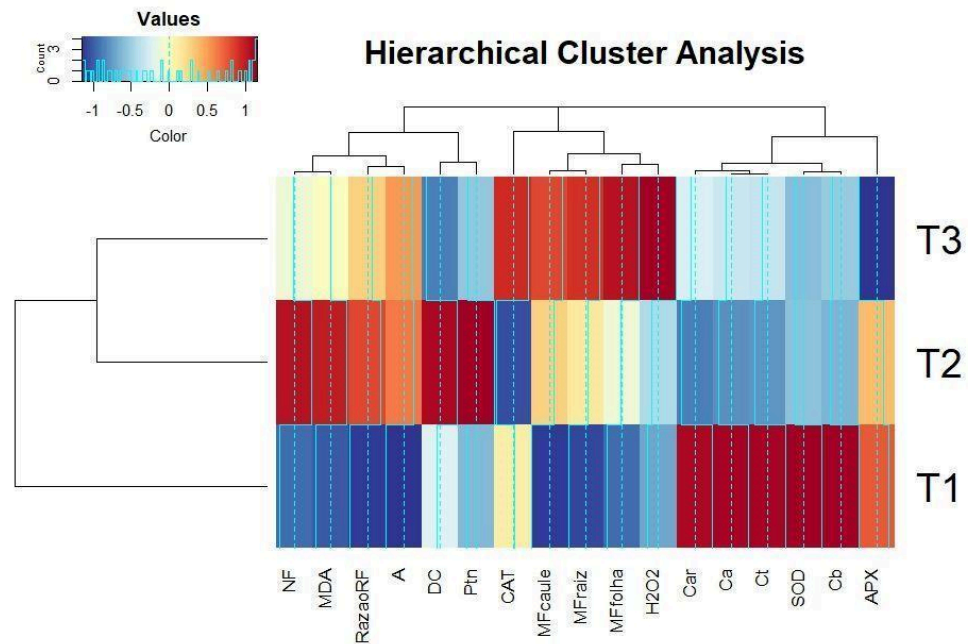
Figura 9. Atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD) (A), Ascorbato peroxidase (APX) (B), Catalase (CAT) (C) e Concentração de proteínas (D) em folhas de *L. alba* para os tratamentos: Controle, Ácido Acético a 0,5% (AA) e Quitosana a $4,0\text{ g/L}^{-1}$ (QUI). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, enquanto a ausência de letras indica falta de diferença. Intervalo de confiança representado pelas barras verticais.



5.4. Análise Multivariada

A análise de cluster hierárquico (HCA) organizou os tratamentos em grupos (clusters), fundamentando-se nas similaridades e discrepâncias entre eles, conforme evidenciado pelos dendrogramas dispostos verticalmente na Figura 10. Os tratamentos com ácido acético e quitosana, representados por T2 e T3, respectivamente, foram agrupados em um único cluster segregados do tratamento controle (T1).

Figura 10. Análise de Cluster Hierárquico.



T1 = Controle; T2 = Tratamento com Ácido Acético a 0,5%; T3 = Tratamento com Quitosana a 4,0 g/L⁻¹; NF = Número de folhas; Altura = Comprimento da parte aérea; Razão_RF = Razão entre raiz e folhas; DC = Diâmetro do caule; MF_Folha = Massa fresca das folhas; MF_raiz = Massa fresca da raiz; MF_caule = massa fresca do caule; Ca = Clorofila *a*; Cb = Clorofila *b*; Ct = Clorofila total; Car = Carotenóides; H₂O₂ = Concentração de peróxido de hidrogênio; MDA = Malondialdeído; SOD = Atividade da superóxido dismutase; APX = Atividade da ascorbato peroxidase; CAT = Atividade da catalase; Ptn = Proteínas solúveis totais.

Segundo o mesmo princípio de similaridades e divergências para os clusters mencionados anteriormente, a HCA também formou agrupamentos baseados nos parâmetros estudados. A análise formou três grupos com subdivisões secundárias entre eles. O primeiro cluster inclui as seguintes variáveis: número de folhas, MDA, razão entre raiz e folhas, altura, diâmetro do caule e concentração de proteínas; o segundo cluster englobou a atividade da CAT, massa fresca do caule, massa fresca da raiz, massa fresca da folha e H₂O₂; por fim, o terceiro cluster agrupou os carotenóides, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, SOD e APX (Figura 10).

6 DISCUSSÃO

Trabalhos anteriores comprovam a eficácia da elicitação com quitosana na modulação do metabolismo de compostos relacionados com respostas de defesa em vegetais. Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com achados anteriores, demonstrando o poder deste biopolímero no metabolismo e crescimento de *L. alba*. O preparo da quitosana como elicitor necessita da solubilização em ácido acético 0,5%. Dessa forma, foi incluído no experimento o tratamento com aplicação do ácido acético 0,5% isolado para verificar o potencial efeito dessa molécula nas respostas morfológicas e bioquímicas em *L. alba*.

Apesar dos parâmetros morfológicos de crescimento, em sua maioria, manterem-se consistentes entre os tratamentos, a elicitação induziu um aumento na massa fresca em geral. Apesar da quitosana ter sido mais eficiente de forma geral, plantas elicidadas com ácido acético também demonstraram maior crescimento quando comparadas às do tratamento controle, sugerindo que o ácido acético isolado teve efeito modulador no metabolismo vegetal. No estudo realizado por Rahman *et al.*, (2020), plantas de soja elicidadas com 30 mL de ácido acético apresentaram maior altura, biomassa foliar e radicular, corroborando com os resultados obtidos com *L. alba*.

O trabalho de Santos-Silva *et al.* (2023) mostra o efeito positivo no crescimento de *L. alba* com a aplicação de quitosana, que foi acompanhado por um aumento significativo na massa fresca foliar, radicular, do caule e na razão entre raízes e folhas. Novamente, é possível visualizar que o ácido acético também induziu o acúmulo de biomassa, obtendo resultados ligeiramente maiores do que a quitosana na razão entre raízes e folhas. O ácido acético pode ser utilizado como substrato pela enzima acetil-CoA sintetase e aumentar a formação de acetil-CoA, sendo usado do ciclo de Krebs para geração de energia (ATP) e intermediários metabólicos para o crescimento vegetal (Rasheed *et al.*, 2018). Dessa forma, a aplicação de elicitor contendo ácido acético forneceu uma fonte de carbono externa que pode ter sido utilizado para formação de energia e crescimento, explicando o aumento da massa fresca.

A produção de acetil-CoA promovido pelo ácido acético pode ser substrato no citosol da enzima acetil-CoA carboxilase gerando malonil-CoA, sendo substrato para

formação de hormônios em plantas (Ferre; Fougelle, 2007). O aumento da massa fresca com aplicação de elicitores contendo ácido acético 0,5% indica que pode ter ocorrido produção hormonal. A modulação bioquímica promovida pelo ácido acético pode também ter modulado o crescimento radicular, visto que hormônios e intermediários do ciclo de Krebs usados em biossíntese vegetal podem ser translocados via floema das folhas para as raízes.

O maior crescimento vegetal com a elicitação não foi promovido pelo aumento dos pigmentos relacionados com a fotossíntese (clorofila e carotenóides), visto que a elicitação com quitosana reduziu a concentração dos pigmentos fotossintéticos, já o ácido acético não alterou teores de pigmentação. Trabalhos anteriores relataram um aumento na taxa de clorofila *a* e carotenóides em plantas submetidas a elicitação por quitosana, já que induz a expressão de proteínas ligadas ao metabolismo de carbono e fotossíntese (Silva-Santos *et al.*, 2023).

É possível que a redução dos pigmentos foliares ocorreu devido à natureza da quitosana como elicitor associado a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Ao ligar-se a receptores de reconhecimento de padrão (PRRs), estimula o sistema imunológico inato vegetal e desencadeia respostas de defesa. Adicionalmente, quando aplicada por pulverização foliar, a quitosana tem ação redutora na transpiração e abertura estomática (Iriti *et al.*, 2009). Ao serem submetidas a estresse por patógenos, as plantas demonstram uma tendência a reduzir seu teor de clorofilas totais (Shishir *et al.*, 2025), explicando a redução na atividade fotossintética das plantas no presente estudo. Acerca do ácido acético, a aplicação deste por aspersão foliar possui capacidade de modulação da atividade hormonal das plantas, resultando em maior tolerância ao estresse, absorção de nutrientes e atividade fotossintética, evitando que seus teores fossem reduzidos diante do estresse (Mirfattahi; Eshghi, 2023).

Já foi comprovado que a quitosana desencadeia nas plantas a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), moléculas instáveis produzidas em grandes quantidades durante o estresse oxidativo (Silva-Santos *et al.*, 2023; Chies *et al.*, 2013). Uma destas moléculas é o H₂O₂, uma ERO moderadamente reativa com alta mobilidade entre a membrana celular, atuando como mensageiro celular (Karuppanapandian *et al.*, 2011). O aumento da formação de EROs pode promover aumento da produção de malondialdeído (MDA), sendo um composto formado pela

peroxidação lipídica das membranas celulares e um indicador bioquímico de dano celular.

Apesar dos valores de H_2O_2 obtidos em *L. alba* foram semelhantes entre os tratamentos, enquanto o nível de MDA apresentou aumento nas plantas elicitadas. A produção de H_2O_2 e EROs pode ser ativado por condições de estresse a partir de elétrons na cadeia transportadora de elétrons do cloroplasto ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$) ou a partir da enzima NADPH oxidase (Majumdar; Kar, 2018). A aplicação de elicitores, particularmente o ácido acético, pode ter modulado a atividade da NADPH oxidase e promovido aumento da formação de EROs, evidenciado pelo aumento significativo do teor de MDA. No entanto, o aumento do teor de MDA não afetou o crescimento vegetal após a elicitação.

Adicionalmente, a atividade das enzimas antioxidantes CAT, SOD e APX e a concentração de proteínas mantiveram-se relativamente semelhantes entre os tratamentos, não havendo diferenças significativas quando comparados ao grupo controle. Como mencionado anteriormente, a aplicação de quitosana geralmente possui efeito modulador nas defesas antioxidantes, incluindo a redução da concentração de MDA e intensificação da atividade enzimática. Porém, é possível que tenha ocorrido uma mobilização de H_2O_2 e enzimas logo após a elicitação e estes níveis foram reduzidos após o estresse oxidativo. Já a concentração de MDA está relacionada com danos na membrana celular e requer um maior período de tempo para atingir uma homeostase. Conseqüentemente, seus efeitos continuam visíveis em análises oxidativas até que as células danificadas sejam renovadas. Como as plantas foram coletadas com 15 dias após a aplicação dos elicitores, elas foram capazes de ativar sua resposta antioxidante, mas não de renovar todas as suas células danificadas. Adicionalmente, é possível justificar os teores mais elevados de MDA estarem presentes no tratamento com AA, já que sua acidez poderia ter causado mais danos celulares do que a solução com quitosana.

7 CONCLUSÃO

O presente trabalho buscou fazer uma investigação dos efeitos da elicitação com quitosana a 4.0 g/L^{-1} em plantas de *L. alba* cultivadas em casa de vegetação no Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE/SEDE). Foi necessária a utilização de ácido acético a 0,5% para a dissolução de quitosana em água, portanto, foi adicionado um tratamento com ácido acético isolado.

Através de análises biométricas, bioquímicas e oxidativas, foi possível verificar que a quitosana foi capaz de modular o metabolismo e crescimento de plantas de *L. alba*, aumentando significativamente sua altura e massa fresca. Também foi observado que o ácido acético isolado alcançou resultados semelhantes à quitosana em alguns dos parâmetros observados, sugerindo que este possui efeito modulador do metabolismo nesta espécie.

Os resultados obtidos demonstram a eficácia da elicitação para otimizar o crescimento vegetal e a produção de compostos bioativos em *L. alba*, ainda sendo necessárias mais análises para verificar a ação do ácido acético como possível elicitor.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. S. *et al.* Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 436–440, 2008.
- ALEXIEVA, V. *et al.* The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337–1344, 2001.
- BATISTA, E. D. *et al.* *Lippia alba* essential oil as anesthetic for tambaqui. **Aquaculture**, v. 495, p. 545–549, 2018.
- BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. **Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas**. Recife: Editora Universitária da UFRPE, p. 262, 2011.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the determination of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- BRAZIL FLORA G (2014): Brazilian Flora 2020 project - Projeto Flora do Brasil 2020. v393.147. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Dataset/Checklist. doi:10.15468/1mtkaw.
- CAICEDO-LÓPEZ, L. H. *et al.* Elicidores: implicaciones bioéticas para la agricultura y la salud humana. **Revista Bioética**, v. 29, n. 1, p. 76–86, 2021.
- CASTRO, H.G. *et al.* **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2.ed. Visconde do Rio Branco: UFV, p. 113, 2004.
- CASTRO, K. M. *et al.* Water deficit modulates growth, morphology, and the essential oil profile in *Lippia alba* L. (Verbenaceae) grown in vitro. **Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 141, n. 1, p. 55–65, 2020.
- CAVALCANTI, M. M. *et al.* Essential Oil of *Lippia alba* Protects Against Ischemic-Reperfusion Acute Kidney Injury. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, 2023.
- CHIES, C. *et al.* Antioxidant Effect of *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 194–205, 2013.
- DASH, M. *et al.* Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.
- FARIAS, P. K. S. *et al.* Antioxidant activity of essential oils from condiment plants and their effect on lactic cultures and pathogenic bacteria. **Ciência Rural**, v. 49, n. 2, 2019.
- FERRÉ, P.; FOUFELLE, F. SREBP-1c Transcription Factor and Lipid Homeostasis: Clinical Perspective. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 68, n. 2, p. 72–82, 2007.
- FIDELES, T. B. *et al.* Characterization of Chitosan Membranes Crosslinked by Sulfuric Acid. **Open Access Library Journal**, v. 5, n. 1, 2008.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977.

GIRI, S.; DUTTA, P.; KUMARASAMY, D.; GIRI, T. K. Natural polysaccharides: Types, basic structure and suitability for forming hydrogels. In *Plant and Algal Hydrogels for Drug Delivery and Regenerative Medicine*. **Woodhead Publishing Series in Biomaterials**. p. 1–35, 2021.

GUMELAR, M. D. *et al.* Utilization of Chitosan as Coating Material in Making NPK Slow Release Fertilizer. **Macromolecular Symposia**, v. 391, n. 1, p. 1900188, 2020.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–455, 1987.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1968.

HOAGLANG, D. R.; ARNON, D. I. The Water-Culture Method of Growing Plants without Soil. **College of Agriculture**, University of California, 1950.

HUMBAL, A.; PATHAK, B. Influence of exogenous elicitors on the production of secondary metabolites in plants: A review. **Plant Stress**, v. 8, p. 100166–100166, 2023.

IRITI, M. *et al.* Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 493–500, 2009.

KANTHALIYA, B. *et al.* Effect of Biotic Elicitors on the Growth, Antioxidant Activity and Metabolites Accumulation in In Vitro Propagated Shoots of *Pueraria tuberosa*. **Plants**, v. 12, n. 6, p. 1300–1300, 2023.

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

LEAL, A. F., Condiciones de colecta de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Quimiotipos Citral y Carvona) que potencializan su citotoxicidad contra un linaje leucémico. **Nemours Children's Health System**, v. 1, 2013.

LI, K. *et al.* Chitin and Chitosan Fragments Responsible for Plant Elicitor and Growth Stimulator. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 44, p. 12203–12211, 4 nov. 2020.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350–382, 1987.

LIU, Y. *et al.* Eco-friendly and non-toxic lysozyme immobilised on chitosan bacteriostatic agent for strawberry and fresh *Tremella fuciformis* preservation. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 6, p. 2985–2994, 2023.

- MARTÍNEZ L. A. *et al.* Contribution of QuitoMax® to the hormonal and enzymatic metabolism in tomato under saline stress. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 48, 2024.
- MATOS, F.J. A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3.ed. Fortaleza: Editora da UFC, 1998.
- MATOS, F.J. A. **Plantas Medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2000. 346 p.
- MAJUMDAR, A.; KAR, R. K. Congruence between PM H⁺-ATPase and NADPH oxidase during root growth: a necessary probability. **PROTOPLASMA**, v. 255, n. 4, p. 1129–1137, 2018.
- MEDEIROS, A. P. *et al.* Application of natural elicitors to promote growth, photosynthetic pigments, and the content and composition of essential oil in *Melissa officinalis* L. **Industrial Crops and Products**, v. 208, p. 117885–117885, 2023.
- MENDOZA, D. *et al.* Effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the production of phenolic compounds in plant cell suspension cultures of *Thevetia peruviana*. **Biotechnology Reports**, v. 19, p. e00273–e00273, 2018.
- MENÉNDEZ, D. C.; RODRÍGUEZ, A.; HERNÁNDEZ, L. T. Efecto de la masa molecular de quitosanos en la germinación y el crecimiento *in vitro* de soya. **Cultivos Tropicales**, v. 41, n. 1, 2020.
- MIRFATTAHI, Z.; ESHGHI, S. Acetic Acid Alleviates Salinity Damage and Improves Fruit Yield in Strawberry by Mediating Hormones and Antioxidant Activity. **Erwerbs-Obstbau**, v. 65, n. 5, p. 1403–1412, 2023.
- MORIN-CRINI, N. *et al.* Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, 2019.
- MUNIR, A. A taxonomic revision of the genus *Lippia* [Houst. Ex] Linn. (Verbenaceae)* in Australia. **Journal of the Adelaide Botanic Gardens**, v. 15, n. 2, p. 129–145, 1993.
- MURTHY, H. N. *et al.* Light as an elicitor for enhanced production of secondary metabolites in plant cell, tissue, and organ cultures. **Plant growth regulation**, v. 104, p. 31-49, 2024.
- NARAYANI, M.; SRIVASTAVA, S. Elicitation: a stimulation of stress in in vitro plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production. **Phytochemistry Reviews**, v. 16, n. 6, p. 1227–1252, 27 2017.
- NAKANO, Y. & ASADA, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, 1981.
- OLIVEIRA, D. R. *et al.* Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n. 1, p. 103–108, 2006.

- PAUL, A. *et al.* Twin effects of fungal elicitor produced from *Alternaria alternata* on induced systemic resistance and secondary metabolites production in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Plant Stress**, v. 6, p. 100124–100124, 2022.
- PAVINATTO, F. J. Interaction between chitosan and cell membrane models: Langmuir and Langmuir-Blodgett (LB) films. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 8, 2010.
- R CORE TEAM (2023). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.
- RADMAN, R. *et al.* Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 37, n. 1, p. 91, 2003.
- RAHMAN, M. *et al.* Acetic acid improves drought acclimation in soybean: an integrative response of photosynthesis, osmoregulation, mineral uptake and antioxidant defense. **Physiologia Plantarum**, v. 172, n. 2, p. 334–350, 2020.
- RAHMAN, M. D. M. *et al.* Natural therapeutics and nutraceuticals for lung diseases: Traditional significance, phytochemistry, and pharmacology. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 150, p. 113041, 2022.
- RAMIREZ-ESTRADA, K. *et al.* Elicitation, an Effective Strategy for the Biotechnological Production of Bioactive High-Added Value Compounds in Plant Cell Factories. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 182, 2016.
- RASHEED, S. *et al.* The modulation of acetic acid pathway genes in Arabidopsis improves survival under drought stress. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.
- RODRÍGUEZ-PEDROSO, A. T. *et al.* Chemical-structural properties and biological activity of chitosan on phytopathogenic microorganisms. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. XV, n. 3, p. 309–317, 2009.
- ROMANAZZI, G.; FELIZIANI, E.; SIVAKUMAR, D. Chitosan, a Biopolymer With Triple Action on Postharvest Decay of Fruit and Vegetables: Eliciting, Antimicrobial and Film-Forming Properties. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.
- SAMANEH KAHROMI; KHARA, J. Chitosan stimulates secondary metabolite production and nutrient uptake in medicinal plant *Dracocephalum kotschyi*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 9, p. 3898–3907, 2020.
- SELWAL, N. *et al.* Enhancing secondary metabolite production in plants: Exploring traditional and modern strategies. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 14, p. 100702–100702, 2023.
- SHISHIR, R. *et al.* Physio-Biochemical changes in lentil genotypes under biotic stress induced by *Stemphylium botryosum* Wallr. **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, 2025.
- SILVA, P. T. DE S. *et al.* Effect of biotic elicitors on the physiology, redox system, and secondary metabolite composition of *Lippia alba* cultivated in vitro. **South African Journal of Botany**, v. 147, p. 415–424, 2022.

- SILVA-SANTOS L. *et al.* Yeast extract and chitosan elicitation improves essential oil, regulates plant growth and antioxidative system in *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (Verbenaceae). **South African Journal of Botany**, v. 163, p. 756-769, 2023.
- SOLGI, M. The application of new environmentally friendly compounds on postharvest characteristics of cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). **Brazilian Journal of Botany**, v.41, p.515-522, 2018.
- SOUSA, V. I. *et al.* Microencapsulation of Essential Oils: A Review. **Polymers**, v. 14, n. 9, p. 1730, 2022.
- STASIŃSKA-JAKUBAS, M.; HAWRYLAK-NOWAK, B. Protective, Biostimulating, and Eliciting Effects of Chitosan and Its Derivatives on Crop Plants. **Molecules**, v. 27, n. 9, p. 2801–2801, 2022.
- SUWANCHAIKASEM, P. *et al.* The Impacts of Chitosan on Plant Root Systems and Its Potential to be Used for Controlling Fungal Diseases in Agriculture. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 43, 2024.
- TAVARES, E. S. *et al.* Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 1–5, 2005.
- TEIXEIRA, G. *et al.* Phytochemical characterisation and bioprospection for antibacterial and antioxidant activities of *Lippia alba* Brown ex Britton & Wilson (Verbenaceae). **Natural Product Research**, v. 32, n. 6, p. 723–731, 2018.
- TEIXEIRA-COSTA, B. E.; ANDRADE, C. T. Chitosan as a Valuable Biomolecule from Seafood Industry Waste in the Design of Green Food Packaging. **Biomolecules**, v. 11, n. 11, p. 1599, 2021.
- THAKUR, M.; SOHAL, B. S. Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. **ISRN Biochemistry**, v. 2013, p. 1–10, 2013.
- TOVAR, J. *et al.* Extracción biotecnológica de quitina del desecho de camarón para la producción de quitosano como bioestimulante en semillas de melón. **Agronomía Tropical**, v. 68, n. 2, p. 71–86, 2018.
- TUBAY-BERMÚDEZ, C. T. *et al.* Physical-Chemical Characterisation and Biological Activities of the Essential Oil of *Lippia alba* (Mill) NE Br Ex Britton Obtained in Ecuador. **Journal of Herbal Medicine**, v. 48, 2024.
- TURK, H. Chitosan-induced enhanced expression and activation of alternative oxidase confer tolerance to salt stress in maize seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 141, p. 415–422, 2019.