



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS

GENÉTICOS VEGETAIS

EDVAN ASSIS DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO ECOGEOGRÁFICA, MORFOAGRONÔMICA
E GENÉTICO MOLECULAR DE *Medusantha martiussi* (Benth)
HARLEY & J.F.B PASTORE**

Feira de Santana – BA

2025

CARACTERIZAÇÃO ECOGEOGRÁFICA, MORFOAGRONÔMICA E GENÉTICO MOLECULAR DE *Medusantha martiussi* (Benth) HARLEY & J.F.B PASTORE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade
Estadual de Feira de Santana como requisito para
obtenção do título de Doutor em Recursos Genéticos
Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira

Coorientadora: Prof.^a Dra. Angélica Maria Lucchese

Coorientador: Prof. Dr. Cassio Van der Berg

Feira de Santana – BA

2025

Ficha Catalográfica

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Oliveira, Edvan Assis de
O46c Caracterização ecogeográfica, morfoagronômica e genético molecular de
Medusantha martiussi (Benth) Harley & J.F.B Pastore / Edvan Assis de
Oliveira. – 2025.
127 f.; il.

Orientador: Lenaldo Muniz de Oliveira

Coorientadores: Angélica Maria Lucchese, Cassio Van der Berg

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Feira de
Santana, 2025.

1.Plantas medicinais. 2.Ecogeografia. 3.Genotipagem. 4.Fenotipagem.
I.Oliveira, Lenaldo Muniz de, orient. II.Lucchese, Angélica Maria, coorient.
III.Berg, Cassio Van der, coorient. IV.Universidade Estadual de Feira de
Santana. V.Título.

CDU: 582.929.4

Maria de Fátima de Jesus Moreira - Bibliotecária - CRB-5/1120

BANCA EXAMINADORA

Lucas Kennedy Silva Lima

Prof. Dr. Lucas Kennedy Silva Lima
(Universidade Estadual de Feira de Santana)

Adriana Rodrigues Passos

Profa. Dra. Adriana Rodrigues Passos
(Universidade Estadual de Feira de Santana)

Manuela Oliveira de Souza

Profa. Dra. Manuela Oliveira de Souza
(Universidade Federal do Recôncavo da Bahia)

Ariana Reis Messias Fernandes de Oliveira

Profa. Dra. Ariana Reis Messias Fernandes de Oliveira
(Instituto Federal Baiano)

Lenaldo M. de Oliveira

Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira
(Universidade Estadual de Feira de Santana)
Orientador e presidente da banca.

AGRADECIMENTOS

- Obrigado *Senhor* por sempre me fazer acreditar e me fortalecer mesmo nos mais difíceis momentos deste projeto. Muita Gratidão!
- Agradeço, imensamente, a família e, em especial, aos meus pais Sr. Lourival Moura e Sra. Edelvite Assis pelos ensinamentos e exemplo de dignidade, trabalho e honestidade.
- Agradeço aos Professores do Programa de Pós-graduação
- Gratidão ao Prof. Dr. Lenaldo Muniz pela credibilidade, confiança e as importantes orientações nessa jornada. Muito Obrigado!
- Aos meus coorientadores Profa. Angélica e Prof. Cássio, meus agradecimentos;
- Aos Coordenadores e colaboradores do LAPRON e LAGER, meu muito obrigado!
- Aos Analistas e Técnicos do LAMOL pela fundamental ajuda, orientação e apoio.
- Aos colaboradores de campos do Horto Florestal. Pelo zelo, cuidado e atenção aos experimentos de campo.
- Aos amigos e colegas de turma, muito obrigado pela amizade e compartilhamento dos conhecimentos.
- A Profa. Clíssia Barbosa pelas contribuições, orientações e viabilização das análises de sementes.
- Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – pelo incentivo e apoio.
- Aos amigos pelo incentivo e coragem, agradeço.
- O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil - CAPES - Finance Code 001)"

Muito obrigado!

RESUMO GERAL

Medusantha martiusii (Benth)Harley & JFP Pastore é uma espécie vegetal da família Lamiaceae e é endêmica do Brasil. É um arbusto perene com floração globosa com aroma característico, frequentemente encontrada no semiárido no bioma Caatinga e Cerrado. A espécie habita ambientes marcados pelo estresse, resultado das temperaturas altas, forte radiação solar, elevadas taxas de evapotranspiração, balanço hídrico negativo e solos de baixa fertilidade, além da escassez e irregularidades das chuvas e secas cíclicas. Alfazema de caboclo, como é conhecida pelas comunidades, tem relevância social e econômica. O chá de suas folhas é amplamente usado em tratamentos de inflamação na garganta. Ensaios farmacológicos do óleo essencial comprovaram a riqueza química dos seus compostos constituintes, como cineol, careno e cariofileno com atividades biológicas e propriedades citotóxicas e antimicrobiana, além de inseticida contra o mosquito *Aedes aegypti* e *Bemisia argentifolii* (mosquito da dengue e mosca das frutas, respectivamente). O objetivo deste trabalho foi caracterizar populações de *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, por meio da análise ecogeográfica dos ambientes de ocorrência, da avaliação morfo-agronômica de seus acessos, do perfil físico-químico de suas sementes e da investigação da diversidade genético-molecular, visando gerar subsídios para conservação, manejo e uso sustentável desta espécie de alto valor fitoterápico localizadas no estado da Bahia-Brasil. O Capítulo I – ESTUDOS ECOGEOGRÁFICOS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore (Lamiaceae) caracterizou o ambiente de 18 sítios de ocorrência natural da espécie quanto aos aspectos climáticos, geográficos e edáficos e, também, a produção de óleo essencial nestes ambientes. O estudo indicou que *Medusantha martiusii* tem predominância de ocorrência em regiões semiáridas, com solos de baixa fertilidade, e ampla faixa de adaptação térmica com ocorrências que vai desde regiões montanhosas de relevos elevados até regiões de baixa altitude em zonas climáticas de poucas chuvas e mal

distribuídas. A média de teor de óleo encontrado foi de 2,08% e uma correlação forte positiva com Fe e negativa com Zn foi registrada. O Capítulo II – IMAGEM MULTIESPECTRAL E ANÁLISE MULTIVARIADA NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore - teve como objetivo caracterizar sementes de 11 populações dessa espécie através do uso de Raio X e da técnica de imagem multiespectral. O estudo indicou que sementes desta espécie apresentaram heterogeneidade, tanto nos aspectos físicos quanto químicos, com identificação de importantes diferenças nos atributos de tamanho e textura, além de indicadores de qualidade fisiológica, de maturação, vigor e viabilidade. No Capítulo III - MARCADORES ISSR NA CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore - foram caracterizados 165 loci com nove marcadores moleculares. As populações AMD (América Dourada), UMB (Umburanas), ITU (Ituaçu), MDC (Morro do Chapéu) e SAB (Seabra) apresentaram a maior diversidade genética (Nei e Shannon) enquanto as JRB (Jeremoabo) e MRC (Maracás) as menores. Os indivíduos das populações ITU (Ituaçu) e SDE (Saúde) são os mais similares geneticamente (0,148) enquanto MRC e JGR (Jaguarari) os mais distantes. O CAPÍTULO IV- CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore, aborda a diversidade fenotípica de 13 populações com base em descritores qualitativos e quantitativos que podem auxiliar em ações de coleta e conservação do germoplasma da espécie. Alguns descritores foram importantes para separar as populações em grupos de acordo com as suas semelhanças e diferenças como a área foliar, número de perfilhos e peso seco da folha. Este tópico identificou as populações MRC e ABA como as de maiores distâncias genéticas e MDC e JCB como as de menores distâncias genéticas segundo a matriz de distância de Mahalanobis. Os genótipos coletados em ABA, RDC, JGR, SAB e CSC apresentam características agrônômicas superiores, sendo, por isso, indicadas para uso em programas de melhoramento.

Palavras-chave: Plantas Medicinais, ecogeografia, genotipagem, fenotipagem.

GENERAL SUMMARY

Medusantha martiusii (Benth) Harley & JFP Pastore is a plant species of the Lamiaceae family and is endemic to Brazil. It is a perennial shrub with globose flowers and a characteristic aroma, often found in the semiarid regions of the Caatinga and Cerrado biomes. The species inhabits environments characterized by stress, resulting from high temperatures, strong solar radiation, high evapotranspiration rates, negative water balance, and low-fertility soils, in addition to scarce and irregular rainfall and cyclical droughts. Alfazema de caboclo, as it is known by the communities, has social and economic importance. Tea made from its leaves is widely used to treat sore throats. Pharmacological tests of the essential oil have demonstrated the chemical richness of its constituent compounds, such as cineole, carene, and caryophyllene, with biological activities and cytotoxic and antimicrobial properties. It also acts as an insecticide against the *Aedes aegypti* mosquito and *Bemisia argentifolii* (dengue mosquito and fruit fly, respectively). The objective of this study was to characterize populations of *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & JFB Pastore through ecogeographic analysis of their habitats, morpho- and genomic evaluation of their accessions, physical and chemical profile of their seeds, and investigation of their genetic and molecular diversity. This study aimed to generate support for the conservation, management, and sustainable use of this species of high phytotherapeutic value located in the state of Bahia, Brazil. Chapter I – ECOGEOGRAPHIC STUDIES AND ESSENTIAL OIL PRODUCTION OF *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & JFB Pastore (Lamiaceae) – characterized the environment of 18 natural occurrence sites of the species regarding climatic, geographic, and edaphic aspects, as well as essential oil production in these environments. The study indicated that *Medusantha martiusii* occurs predominantly in semiarid regions with low-fertility soils and a wide range of thermal adaptations, ranging from mountainous regions with high relief to low-altitude regions in climate zones with little and poorly distributed rainfall. The average oil content found was 2.08%, and a strong positive correlation with Fe and a negative correlation with Zn was recorded. Chapter II – MULTISPECTRAL IMAGING AND MULTIVARIATE ANALYSIS IN THE CHARACTERIZATION OF SEEDS OF *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore - aimed to characterize seeds of 11 populations of this species through the

use of X-ray and the multispectral imaging technique. The study indicated that seeds of this species presented heterogeneity, both in physical and chemical aspects, with identification of important differences in size and texture attributes, in addition to indicators of physiological quality, maturity, vigor, and viability. In Chapter III - ISSR MARKERS IN THE GENETIC CHARACTERIZATION OF POPULATIONS OF *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore - 165 loci were characterized with nine molecular markers. The AMD (América Dourada), UMB (Umburanas), ITU (Ituaçu), MDC (Morro do Chapéu) and SAB (Seabra) populations presented the greatest genetic diversity (Nei and Shannon) while JRB (Jeremoabo) and MRC (Maracás) the lowest. Individuals from the ITU (Ituaçu) and SDE (Saúde) populations are the most genetically similar (0.148) while MRC and JGR (Jaguarari) are the most distant. CHAPTER IV - MORPHOAGRONOMIC CHARACTERIZATION OF GENOTYPES OF *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore, addresses the phenotypic diversity of 13 populations based on qualitative and quantitative descriptors that can assist in actions of collection and conservation of the species' germplasm. Some descriptors were important for separating the populations into groups based on their similarities and differences, such as leaf area, number of tillers, and leaf dry weight. This topic identified the MRC and ABA populations as having the greatest genetic distances, and MDC and JCB as having the smallest genetic distances, according to the Mahalanobis distance matrix. The genotypes collected in ABA, RDC, JGR, SAB, and CSC exhibit superior agronomic characteristics and are therefore recommended for use in breeding programs.

Keywords: Medicinal plants, ecogeography, genotyping, phenotyping.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1 : Dados de localização e número de voucher da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore identificados no estado da Bahia – Brasil28

TABELA 2 : Dados ecogeográficos dos 17 sítios de ocorrência da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, identificados no estado da Bahia.....29

TABELA 3 : Valores médios dos atributos físicos e químicos do solo nos 17 sítios de ocorrência natural da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, identificados no Estado da Bahia – Brasil.....32

CAPÍTULO III

TABELA 1: Localização, coordenadas geográficas e número de depósito da exsiccata no herbário (HUEFS) dos locais de coleta das populações de *Medusantha martiusii* (ex Benth) Harley & J.F.B Pastore no estado da Bahia-Brasil.....73

TABELA 2 : Nome do primer, sequência nucleotídica, temperatura de anelamento (°C), N° de bandas polimórficas (*NBp*) e conteúdo informativo de cada marcador ISSR utilizado na caracterização de 15 populações de *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley e J.F.B.Pastore, localizados no estado da Bahia - Brasil.....77

TABELA 3 : Número de indivíduos genotipados (*N*), número de bandas polimórficas (*NBp*) porcentagem bandas polimórficos (*%Bp*), Índice de diversidade de Nei (*He*), Índice de Shannon (*I*) e locus exclusivos (*Le*) identificados com marcador ISSR em 15 populações de *Medusantha martiusii*(ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore no estado da Bahia-Brasil.....78

TABELA 4 : Identidade genética de Nei(1978) (abaixo da diagonal) e índice de Jaccard (acima da diagonal) entre 15 populações de *Medusantha martiusii* (ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore coletados no estado da Bahia-Brasil.....79

CAPÍTULO IV

TABELA 1: Local de coleta, código identificação, coordenadas geográficas e meso região dos sítios de ocorrência natural dos 13 genótipos de <i>Medusantha martiussi</i> (ex Benth) Harley & J.B.F. Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2021.....	94
---	----

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

FIGURA1: Prancha com destaque das estruturas vegetativas, reprodutivas e radiculares de <i>Medusantha martiusii</i> (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore cultivadas na estação experimental do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana – Bahia. Brasil.....	8
---	---

CAPÍTULO I

FIGURA 1: Mapas com caracterização de solo (A), tipo de clima(B), bioma(C) e gradiente de chuva (D) dos 17 sítios de ocorrência da espécie <i>Medusantha martiusii</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore identificados no Estado na Bahia.....	31
---	----

FIGURA 2 : -Análise dos Componentes Principais (PC1 e PC2) e análise da similaridade das populações (Dendograma) com base em 14 atributos do solo em 17 locais de ocorrência natural de <i>Medusantha martiussi</i> (Benth) & J.F.B Pastore, coletadas no estado da Bahia.....	35
---	----

FIGURA 3 : Teor de óleo essencial de acessos coletados em 17 sítios de ocorrência de <i>Medusantha martiusii</i> (Benth) Harley & JFB Pastore no estado da Bahia.....	36
--	----

FIGURA 4 : Correlação entre variáveis edáficas x teor de óleo essencial x Macro nutrientes e Micronutrientes de solos coletados em 17 localidade de ocorrência natural de <i>Medusantha martiusii</i> (Benth) Harley & JFB pastore.....	37
--	----

CAPÍTULO II

FIGURA 1: Descrição geográfica dos locais de coleta de semente de <i>Medusantha martiussi</i> (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore, destacando as 11 localidades de coleta das sementes no estado da Bahia, Brasil.....	52
--	----

FIGURA 2: Raio X de sementes; B - Área das semente cheias e C- Área das sementes vazias de lotes de sementes em cinco populações (MCG, SDB, JRB, BNN e ABA) de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.P Pastore coletadas no estado da Bahia. Médias ($\pm$ DP) seguidas por mesma letra não diferem entre si ($P > 0,05$).....57

FIGURA 3: Descritores de cor em cinco lotes de sementes no espaço de cor CIE $L^* a^* b^*$ de diferentes populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.Pastore, coletadas em diferentes regiões do estado da Bahia, Brasil.....58

FIGURA 4 : Descritores de textura obtidos por imagens multiespectrais em cinco lotes de sementes de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Halley & J.F. Pastore coletados no estado da Bahia, Brasil.....59

FIGURA 5 : (A) Assinatura espectral dos dados de reflectância em 19 comprimentos de onda (365-970 nm), (B) percentagem de contribuição das componentes, e (C) análise de significância dos valores médio em 5 comprimentos de ondas em lotes de sementes de cinco populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore, coletados em municípios do estado da Bahia, Brasil.....61

FIGURA 6 : . Análise multifatorial (MFA) dos resultados obtidos para área, cor, textura, reflectância e autofluorescência das sementes de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore, coletada em municípios do estado da Bahia, Brasil (A); explicação em cada componente (B); Contribuição das variáveis dimensões 1(B) e 2(C) e Fator de contribuição dos indivíduos (D).....62

CAPÍTULO III

FIGURA 1: Descrição geográfica dos locais de coleta de semente de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore, destacando as 11 localidades de coleta das sementes no estado da Bahia, Brasil.....52

FIGURA 2: Dendrograma obtido pelo método de Neighbor-Joining a partir da matriz de distância genética de Nei de 15 populações de *Medusantha martiussi*(ex Benth) Halley & J.F.B.Pastore coletadas no estado da Bahia-Brasil.....80

FIGURA 3:Dendrograma obtido pelo método de Neighbor-Joining a partir da matriz de distância genética de Nei de 15 populações de *Medusantha martiusii*(ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore coletadas no estado da Bahia-Brasil.

.....81

FIGURA 4:A - Adesão dos indivíduos de cada população nos grupos genéticos formados pelo modelo Bayesiano de Markov Chain Monte Carlo (MCMC estimada a partir de 239 acessos de *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & J.F.Pastore. C -Valores de ΔK (Evanno - 2005) para 15 populações.....84

CAPÍTULO IV

FIGURA 1: Distribuição dos descritores qualitativos em 13 populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore coletados no estado da Bahia-Brasil.....97

FIGURA 2: Valores médios dos descritores morfológicos de populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.B.F Pastore coletadas em 13 localidades no estado da Bahia- Brasil. (A) Altura, (B) Diâmetro caule, (C) N° Perfilhos, (D) Diâmetro copa, (E) Area foliar, (F) Comprimento folha, (G) Comprimento pecíolo, (H) Relação comprimento/Largura, (I) Peso seco folha.....100

FIGURA 3: A -Dendrograma de dissimilaridade fenotípica formado a partir de 12 descritores morfológicos usando método UPGMA. B – Contribuição relativa - SINGH (1981), de dez descritores morfológicos na análise da diversidade fenotípica de 13 populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore coletadas no estado da Bahia-Brasil.....101

FIGURA 4 : A- Pontos de agrupamento de populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & JBF Pastore em duas componentes principais (CP1 e CP2). B - Vetores de contribuição de cada variável na formação dos componentes com base em dados morfológicos quantitativos de 13 populações.....102

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
1 Diversidade de Plantas Medicinal da Caatinga.....	6
2 Plantas da FamíliaLamiaceae.....	6
3 <i>Medusantha martiusii</i> (Benth) Harley & JFB Pastore.....	7
4 Caracterização Recursos Genéticos Vegetais.....	9
5Caracterização Morfológica e Agronômica.....	10
6 Caracterização Molecular.....	11
7 Estudos Ecogeográficos.....	13
8 Referência.....	13
CAPÍTULO I:ESTUDOS ECOGEOGRÁFICOS E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Medusantha martiusii</i> (BENTH) HARLEY&J.F.B.PASTORE(LAMIACEAE).....	21
1 Resumo.....	21
2 Resumo Gráfico.....	22
3 Introdução.....	23
4 Material e Métodos.....	25
5 Resultado.....	27
6 Discussão.....	38
7 Conclusão.....	40
8 Referência.....	40
CAPÍTULO II:IMAGEM MULTIESPECTRAL E ANÁLISE MULTIVARIADA NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Medusantha martiusii</i>(BENTH) HARLEY &J FB PASTORE	48
1 Resumo.....	48
2 Resumo Gráfico	49
3 Introdução.....	50
4 Material e Métodos....	51

5 Resultado	57
6 Discussão	63
7 Conclusão	66
8 Referência	66
CAPÍTULO III: MARCADORES ISSR NA CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE <i>Medusantha martiusii</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	70
1 Resumo	70
2 Resumo Gráfico.....	70
3 Introdução.....	71
4 Material e Métodos.....	71
5 Resultado.....	76
6 Discussão	84
7 Conclusão.....	86
8 Referência.....	86
CAPÍTULO IV CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE <i>Medusantha martiusii</i> BENTH) HARLEY & JF.B PASTORE.....	90
1 Resumo.....	90
2 Resumo Gráfico.....	91
3 Introdução.....	92
4 Material e Métodos	94
5 Resultado	96
6 Discussão.....	103
7 Conclusão.....	106
8 Referência.....	106
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110
APÊNDICE.....	113

1.0 INTRODUÇÃO GERAL

O uso de plantas medicinais atingiu importância fundamental em todo o mundo, tanto no caso de plantas (Rehman et al., 2020), quanto na saúde humana (Ali et al., 2021). Para cuidados primários de saúde, cerca de 2/3 da população mundial recorre ao uso de plantas medicinais, segundo dados da OMS (Organização Mundial da Saúde). A melhor adaptabilidade e compatibilidade das plantas medicinais ao corpo humano, ou seja, ter menos efeitos colaterais e melhor aceitabilidade cultural, dá grande importância às plantas medicinais na atualidade. Entre as famílias botânicas existentes que se destacam pela aptidão de uso medicinal está a Lamiaceae. Nesta família encontra-se a espécie *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JFB Pastore, uma planta endêmica do Brasil e de ocorrência muito frequente no bioma Caatinga. Nos sítios de ocorrência natural, este vegetal é conhecido pelas comunidades locais como Alfazema de caboclo. É uma planta de porte arbustivo, cujas folhas apresentam um aroma característico que facilita a sua identificação na colheita, de forma extrativista, para uso em tratamentos de inflamações de garganta e dores estomacais na forma de chás de macerado de folhas.

Estudos comprovaram a relevante importância dos seus óleos essenciais pela sua rica composição química, com várias atividades biológicas e de amplo campo de aplicação, como na agricultura e na saúde humana. Quimicamente seus bioativos possuem atividades citotóxica (Araujo et al., 2066), antimicrobiana (Coutinho et al., 2008) além do potencial inseticida contra *Aedes aegypti* L. e a mosca branca - *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Araujo, et al., 2003), uma praga que causa danos a diversas culturas de importância econômica para o Brasil.

Para essas espécies silvestres, com grande potencial de uso e elevado grau de endemismo, o processo de domesticação é importante e necessário, para viabilizar a sua conservação além de ampliar a forma de uso. No entanto, para que o processo de domesticação ocorra, é necessário o prévio conhecimento das características do ecossistema de crescimento e desenvolvimento da espécie alvo o que torna a ecogeografia uma importante ferramenta para esse fim. Estudos ecogeográficos têm possibilitado o levantamento de dados e informações dos locais de ocorrência de espécies medicinais importantes, contribuindo na definição de práticas de manejo, uso

e estratégias sustentáveis, promovendo condições favoráveis à exploração de uma espécie (Parra-Quintano et al., 2012). Estudos ecogeográficos têm permitido analisar graus de risco de erosão genética, estratégias de conservação dos recursos genéticos além da formação de dados para utilização em programas de melhoramento de espécies medicinais nativas importantes, como erva baleeira (*Verronica curassavica* Jaque. Boraginaceae) (Mendes et al., 2015), *Lippia rotundifolia* Cham (Meira, 2017 e *Eplingiella fruticosa* (Salzm. ex Benth.) Harley & J.F.B. Pastore (Oliveira et al., 2021).

Da mesma forma, tornam-se importantes estudos de caracterização do germoplasma da espécie, com ênfase nas sementes, pois, além de subsidiar ações de coleta e conservação, permite identificar e preservar a variabilidade genética existente nas diferentes populações. Atualmente, os testes de qualidade de sementes ainda dependem de inspeções visuais ou químicos que geralmente são dispendiosas e demoradas, bem como subjetivas (Boelt, Birtt et. al., 2018). A técnica de imagem multiespectral tem sido proposta na análise de sementes, por ser um método rápido, preciso, não destrutivo e que considera as especificidades de cada espécie (Boelt, Birtt et al., 2018). O princípio da técnica da imagem multiespectral se baseia na reflectância/absorbância da energia luminosa das amostras. A forma como um feixe de luz interage com um material depende de suas características espectrais e do comprimento de onda incidente (Xia Yiu et al., 2019). As estruturas teciduais, como a cor e componentes químicos, conferem especificidade do material analisado gerando dados úteis para prever a resposta da planta a diferentes condições, além de informar sobre a adaptação da espécie a diferentes ambientes por meio de aspectos relacionados ao tempo de germinação e dormência, por exemplo.

Conhecer a variabilidade genética de uma espécie permite entender quais os fenômenos ecológicos e genéticos atuantes no seu processo evolutivo. Através da caracterização genético molecular, tornam-se possíveis o conhecimento de parâmetros como a variabilidade genética populacional, sua diversidade, polimorfismos, gargalos populacionais, deriva genética entre outros, cujo conhecimento é fundamental na elaboração de estratégia de conservação eficazes (Yildirin et al., 2024), além de contribuir para o enriquecimento de informações para programas de melhoramento genético eficiente e bem-sucedido (CRUZ et al., 2020). Para isso, marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados em estudos de genética de populações (Mohebi Anabat et al. 2020). São técnicas importantes e

frequentemente aplicadas no estudo de diversidade genética, porque são mais eficientes, confiáveis e insensíveis às variações ambientais do que caracteres fenotípicos (Ray et al., 2019; Ismail et al., 2019). A caracterização de plantas medicinais por meio do uso de marcadores moleculares tem sido útil no fornecimento de informações para embasar estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* e direcionar programas de melhoramento genético.

Considerando que a espécie é explorada de forma extrativista, aliado à rápida destruição dos seus habitats, estudos sobre o grau de variação de suas populações remanescentes são fundamentais e essenciais. Variações populacionais frequentemente têm implicações importantes para adaptação da espécie, favorecendo o entendimento dos mecanismos e fatores de adaptação das espécies vegetais (Zhang et al., 2022). Além disso, entender a diversidade fenotípica de uma planta medicinal agrega valor a esse recurso genético de forma que os dados gerados aumentem a sua utilização e facilite o seu manejo (Paiva et al., 2019). Descritores morfológicos e agronômicos são, sem dúvida, um valioso instrumento que podem contribuir para uma análise mais abrangente da diversidade genética em várias plantas (Long et al., 2020). A caracterização da diversidade fenotípica de uma espécie se fundamenta em descritores visualmente acessíveis, como cor, formato, peso e hábitos de crescimento (Zhao et al., 2021). Dados de diversidade em vegetais, auxiliam na distinção de ecótipo ou variedades locais possibilitando a escolha de plantas com características agronômicas importantes como, tolerância a estresse bióticos e abióticos (Roughani et al., 2018). Estudos assim permitiram a identificação da variabilidade genética existente em *Lippia origanoides* Kum., (Silva Feijó et al., 2024) e *Eplingiella fruticosa* (Carvalho Silva et al., 2024), espécies vegetais de importância medicinal com aptidão na produção de óleos essenciais.

Desse modo, esta pesquisa teve como objetivo a investigação sobre os aspectos ambientais, físico-químicos, genético molecular e morfo agronômicos de acessos de *Medusantha martiusii* coletados em diferentes regiões do estado da Bahia.

2.0 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diversidade de plantas medicinais da Caatinga

Composto por 1.477 municípios (IBGE, 2022), dos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Minas Gerais e Espírito Santo (IBGE, 2022), o semiárido é caracterizado pela baixa pluviosidade e escassez de recursos hídricos, abrangendo uma vasta área no nordeste do país, onde se encontra um dos biomas mais emblemáticos e importantes da região (Aguiar et al, 2019). Dentro desse contexto, destaca-se a Caatinga, único e exclusivo no território brasileiro, com uma área aproximada de 844.453 km² e, representando cerca de 11% do território nacional (Aguiar et al, 2019).

Com uma vegetação predominantemente xerófila, suas espécies apresentam morfologias adaptadas ao estresse hídrico e às altas temperaturas. Os solos, com exceções, são pouco desenvolvidos, mineralmente ricos, pedregosos e pouco espessos e com fraca capacidade de retenção da água, tornam-se fator limitante a produção primária nessa região (Alves et al, 2009). Este bioma, apesar da adversidade, abriga uma rica biodiversidade, com uma variedade impressionante de plantas adaptadas às condições de estresse do clima semiárido, permitindo, dessa forma, a sua sobrevivência aos longos períodos de falta d'água, elevadas temperaturas e luminosidade (Kill et al, 2019). São mais de 1.000 espécies de plantas identificadas na Caatinga, das quais aproximadamente 318 (EMBRAPA, 2007) são endêmicas e com potenciais fornecedoras de diferentes produtos que podem ser utilizados como fonte de renda para os agricultores locais (Kill et al, 2019). Outro aspecto é o valor econômico da Caatinga, pois oferece oportunidades para o desenvolvimento de atividades sustentáveis, como a produção de plantas medicinais e fitoterápicos, fundamentais recursos para a subsistência de milhões de pessoas que habitam esse bioma.

Nas últimas décadas observou-se um crescente aumento da exploração do potencial biológico das plantas medicinais no Brasil e no mundo, impulsionado graças as modernas tecnologias aplicadas à descoberta de novos compostos, e nos diferentes estudos etnobotânicos e farmacobotânicos (Freitas et al, 2012; Alves et al, 2016).

A Caatinga brasileira é heterogênea, principalmente em relação às espécies vegetais, possibilitando à população dessa região diversas possibilidades de uso de plantas para fins terapêuticos e, em decorrência disso, o interesse em se pesquisar plantas com esta capacidade tem crescido neste bioma nos últimos anos (BRASIL, 2023; Guedes, 2014). Este bioma possui um imenso potencial para a conservação de serviços ambientais, uso sustentável e bioprospecção. A sua biodiversidade ampara diversas atividades econômicas voltadas para fins agrosilvopastoris e industriais, especialmente nos ramos farmacêutico, de cosméticos, químico e de alimentos que, se bem aproveitado, será decisivo para o desenvolvimento da região e do país (BRASIL, 2023).

2.2 Plantas da Família Lamiaceae

Entre as famílias de destaque está a Lamiaceae que é uma família de vegetais de flores com distribuição cosmopolita, contendo 236 gêneros, abrangendo entre 6.900 e 7.200 espécies (Tomokou, 2017). Tem ocorrência em áreas tropicais a temperadas em todo o mundo, salvo na Antártida. No Brasil, segundo Harley, (2012); Harley e Pastore, (2012), existem aproximadamente 500 espécies nativas, com alguns gêneros e espécies introduzidos e naturalizados. Esta família está dividida em nove subfamílias, com seis delas ocorrendo no continente Sul Americano - Viticoideae, Ajugoideae, Scutellarioideae, Lamioideae, Callicarpoideae e Nepetoideae (Li e Olmstead, 2017).

As espécies da subfamília Nepetoideae, que ocorrem na América tropical, estão distribuídas em duas tribos: Mentheae, grupo predominantemente temperado, e Ocimeae, grupo tropical no qual está incluída a subtribo Hyptidinae. Esta subtribo abrange, aproximadamente, 400 espécies que ocorrem principalmente na região Neotropical (região que vai do México Central ao sul do Brasil, incluindo a América Central, as Ilhas do Caribe e quase toda a América do Sul) (Antonelli e Sanmartín, 2011). Anteriormente, foram distribuídas em nove gêneros, dos quais o maior era o gênero *Hyptis*, com mais de 300 espécies (Harley & Pastore, 2012).

Uma nova reclassificação filogenética foi realizada através da técnica da biologia molecular. Este estudo apontou a necessidade de alteração na classificação do táxon, onde 12 novos gêneros foram reconhecidos, aumentando a subtribo para 19 gêneros Harley e Pastore (2012), ficando assim distribuídos: gênero *Hyptis* com

aproximadamente 144 espécies, os gêneros *Eriopse*, *Condea*, *Mesosphaerum*, *Cyanocephalus* e *Hyptendya*, com 20 – 30 espécies. Já os gêneros *Hyptidendron* e *Oocephalus*, incluindo cerca de 20 espécies cada uma. Os demais gêneros possuem menos de 10 espécies: *Medusanthus* (oito espécies), *Gymneia*(seis espécies), *Marsypianthes*(cinco espécies), *Leptohyptis* (cinco espécies), *Martianthus*(quatro espécies), *Asterohyptis*(e *Eplingiella* (3 - 4 espécies) e *Physomintje*, com duas espécies (Harley e Pastore, 2012).

Uma particular característica deste táxon é a presença de tricomas glandulares que produzem e armazenam óleos essenciais (Bridi et al., 2021). Devido ao aroma, típico destes óleos, as plantas são muito populares nas comunidades dos locais de sua ocorrência, onde são utilizadas como repelentes de pragas e no tratamento de distúrbios respiratórios e gastrointestinais(Agra et al, 2008). Atividade antinociceptiva, antimicrobiana e inseticida tem sido relatada, endossando o uso tradicional de algumas espécies. Avaliações fitoquímicas realizadas com espécies de Hyptidinae mostraram a presença de monoterpenos, diterpenos, triterpenos e sesquiterpenos compondo os óleos essenciais, além da presença de flavonoides, lignanas, ácidos fenólicos e alfa pironas, sendo que muito dos efeitos biológicos exibidos por estas espécies têm sido atribuídos a presença destas classes de metabólitos especializados (Bridi et al., 2021).

2.3 A espécie *Medusanthus martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore

Medusanthus martiusii (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore apresenta porte arbustivo, com crescimento verticalizado e bastante ramificado, com altura podendo chegar a 2,5 metros. O caule apresenta ramos pouco pubescente, folhas com base levemente arredondada e formato ovalado com a presença de pecíolo (Figura 01). Inflorescências com bractéolas filiformes(Soares; 2023).É uma espécie endêmica da flora brasileira, de ocorrência nas regiões Nordeste, Centro-oeste e Sudeste nos domínios fitogeográfico do Cerrado e Caatinga(Soares; 2023). No Nordeste é encontrada nos estados da Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Piauí (Soares; 2023). É conhecida pelas comunidades das regiões de sua ocorrência como erva cidreira do mato, erva cidreira brava, alfazema de crioulo, alfazema de caboclo (Agra et al,2008). A espécie ocorre desde a zona da mata até a Caatinga. Suas folhas possuem importantes atividades medicinais, com uso tradicional pela população na

prevenção e tratamento, na forma de macerados, contra doenças intestinais e estomáticas (Agra et al.,2008).

O óleo essencial extraído da espécie *Medusantha martiussi* é rico em cineol, careno, biciclogermacreno e o beta cariofileno. Araújo et al. (2003) e Costa-Latuf et al. (2004) verificaram atividade antitumoral e Araújo et al.(2006) citam ação citotóxica, além da atividade antimicrobiana citado por Coutinho et al. (2008).



Figura 1: Prancha com destaque das estruturas vegetativas, reprodutivas e radiculares de *Medusantha martiussi* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore cultivadas na estação experimental do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana – Bahia. Brasil. 1-Planta adulta; 2- Inflorescência globosa; 3- Tronco/caule com destaque para crescimento horizontal do caule e formação de perfilhos; 4 – Ramos laterais com formação de raízes adventícias a partir de gemas axilares; 5 – Folhas, pecíolos e bordas crenadas; 6 – estaca com germinação das gemas laterais; 7 – Semente (visualização em lupa eletrônica).

Araújo et al.(2003) relataram que o óleo essencial extraídos das folhas e inflorescências de *M. martiussi* Benth apresentou atividade inseticida contra mosca branca (*Bemisia argentifólia*) e o mosquito da dengue (*Aedes aegypti*), além do potencial como agentes antineuroinflamatório(Assis et al., 2024).

2.4 Caracterização dos recursos genéticos Vegetais

O Brasil corresponde a 17% de todo o território terrestre dos trópicos e abriga cerca de 46.000 espécies botânicas do mundo (BRASIL, 2023). Com esse cenário, é cada vez mais essencial e importante a caracterização dessa riqueza genética com perfil e vocação para uso e elevada importância econômica, objetivando a customização do potencial de exploração e promovendo ganhos de rendimento econômico vegetal. Em um cenário mundial pelo aumento da procura de alimentos, fibras e combustível exige a necessidade de quebrar as barreiras de rendimento existentes em muitas culturas. Em décadas recentes, século XXI, assistimos a descobertas rápidas e a um desenvolvimento tecnológico transformador, associados a uma diminuição dos custos das tecnologias. Em anos recentes, o campo voltou-se para a compreensão da vasta quantidade de informação genômica e, subsequentemente, avançou para a previsão precisa de associações entre genes e fenótipos e para a adaptação de plantas para a resiliência climática e a segurança alimentar global (Thudiet al.,2021).

A agricultura é muito dependente da diversidade genética das plantas, principalmente das silvestres ou não domesticadas. É cada vez mais sedimentado o conhecimento de que por meio da biodiversidade vegetal está a fonte de soluções para vários problemas dos agrocultivos, seja através da busca de resistência a pragas ou doenças, seja na incorporação de características de tolerância aos mais diversos estresses ambientais (Salgotra e Chauhan, 2023)

Segundo Azevedo et al. (2019) todas as espécies vegetais de valor econômico, científico, social ou ambiental, seja este valor atual ou potencial define-se como Recurso Genético Vegetal e, são detentores da variabilidade genética que constituem matéria prima para programas de melhoramento que visam ao aumento da produtividade e da qualidade na agricultura através da produção de novas cultivares e raças através do uso de material genético (cromossomo e genes) contidos em disseminulos como sementes, estacas, bulbos, pólen, embrião, tecidos, células, esporos ou cepas as quais são conceituados como germoplasma (PAIVA et al, 2019).

As várias interações gênicas entre as espécies resultam na formação de indivíduos cada vez mais adaptados e aptos a se desenvolver aos mais variados ecossistemas, resultando em grande variabilidade genética, o que demanda estudos

de caracterização. Segundo Oliveira (2008), o processo de caracterização consiste na coleta e sistematização de dados que descreve, identifica e diferencia genótipos vegetais pertencentes à mesma espécie. O *Biodiversity International*, órgão de pesquisa para o desenvolvimento, uso e proteção da diversidade agrícola, conceitua o processo de caracterização de germoplasma como conjunto de características consideradas ambientalmente estáveis, altamente herdáveis, qualitativa ou quantitativa e facilmente manipuláveis no processo de melhoramento. Estas características podem ser morfológicas, fenológicas, reprodutivas, bioquímicas, citogenéticas e moleculares.

2.5 Caracterização morfológica e agronômica

A caracterização morfo agronômica é realizada com o levantamento de dados e informações descritivas dos acessos de uma coleção de germoplasma, utilizando descritores de interesse morfológico, agrônomico e funcional(Oliveira, 2008). Segundo Burle e Oliveira,(2010) o processo de caracterização morfo agrônomico de uma população deve facilitar uma diferenciação entre fenótipos e permitir estimativas de variabilidade dentro da coleção.

Para Ferraz et al.(2016), é na caracterização morfológica e agronômica de genótipos que se encontra a base e o suporte para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético e, dessa forma, contribuem para o processo de domesticação e melhoramento da espécie, pois, torna-se possível a determinação, quantificação e qualificação da variabilidade genética de uma comunidade de plantas (Galate et al, 2012).Dessa forma, é cada vez mais frequente trabalhos de caracterização morfo agrônomicos envolvendo pesquisas com plantas medicinais, com o propósito na escolha de genótipos de elevados potencial na síntese de bioativos, para apoiar os programas de melhoramento genético na criação de cultivares ou espécies superiores, como o estudo promovido por Carvalho et al, (2024), no uso de 16 marcadores morfoagronômicos relacionados em *Eplingiella fruticosa* (Salzm, ex Benth.) Harley & JFB Pastore (Lamiaceae) identificando genótipos de bom potencial para utilização em programas de melhoramento visando produção de biomassa foliar.

O objetivo principal dos dados de caracterização agronômica é agregar valor aos recursos genéticos conservados *in situ* e *ex situ*. As informações geradas podem

ser aplicadas na identificação de novos materiais para enriquecer bancos de germoplasma, bem como contribuir na estimativa da diversidade genética das coleções e identificação de genes de interesse agro econômico (Paiva et al, 2019). Ainda segundo Paiva et al. (2019), descritores são atributos mensuráveis ou subjetivos que qualificam o recurso vegetal com dados morfológicos, anatômicos, fisiológicos, bioquímicos ou moleculares utilizados na identificação de um recurso genético e/ou seu germoplasma associado, com o propósito de aumentar e/ou manter a diversidade genética, bem como seu uso por parte da sociedade. A seleção de descritores sensíveis que definem uma caracterização morfoagronômica é a base fundamental na definição de um fenótipo como, por exemplo, o reconhecimento de dois fenótipos em 100 árvores caracterizadas de *Matisia cordata* Bonpl avaliadas a partir de 28 descritores morfoagronômica na Colômbia Álvarez-Ozório et al. (2020).

2.6 Caracterização Molecular

A caracterização de recursos genéticos vegetais baseados em marcadores moleculares têm sido frequente nos últimos anos. Para compreender corretamente a base molecular da variação fenotípica, acelerar os programas de melhoramento e explorar os recursos genéticos de uma determinada cultura, é necessário explorar o genoma da cultura (Dar, 2019).

Entre os objetivos da utilização dos marcadores moleculares estão a identificação da variação genética na sequência de DNA que pode ocorrer dentro e/ou entre espécies. Nas duas últimas décadas foram utilizados diferentes marcadores moleculares para a análise genética das culturas. Estes marcadores incluem marcadores baseados na hibridação (RFLP), marcadores baseados na PCR (RAPD, AFLP, SSR, ISSR) e marcadores baseados na sequência (SNP, DAT, NGS)(Dar, 2019). Uma ampla gama de marcadores aplicados em centenas de espécies de plantas são a base teórica para inferir a diversidade genética para propor estratégias de melhoramento e conservação de espécies vegetais (Laurentin, 2009).

O princípio de utilização desses marcadores é baseado no dogma central da Biologia Molecular e na pressuposição de que diferenças genéticas no DNA significam, na maioria das vezes, diferenças fenotípicas (Faleeiro, 2007). Marcadores ISSR são marcadores dominantes, amplificados pela técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e possui as vantagens de não requerer conhecimento prévio do

DNA do germoplasma, o que se aplica a espécie alvo deste estudo, além de serem sensíveis na identificação de polimorfismos, simples de usar e de baixo custo(Nadeen et al., 2018).

Acessos de doze populações de *Euphorbia resinífera*, uma planta medicinal da família das euforbiaceae, coletadas e com distribuição geográfica no Marrocos, foram submetidas a análise da diversidade e estrutura genética. Os autores desse estudo usaram 14 primers ISSR que detectaram 74,81 % de polimorfismos nos germoplasmas analisados (Abd-Dada et al.,2023). Pesquisadores do departamento de Biotecnologia Agrícola da Adnan Menderes Universite - Aydin, na Turquia, realizaram estudo de caracterização molecular de populações de *Dittrichia viscosa* L. (Asteraceae) com base em 10 iniciadores ISSR. O objetivo foi averiguar a estrutura genética dessa espécie. Nesta análise, foi obtido um total de 70 bandas com taxa de polimorfismo determinado em 94,28%.(Sevindick et al., 2023).

Trabalhos assim mostram além da importância dessa ferramenta na caracterização de germoplasma de espécies não domesticadas, como também evidencia a capacidade desse marcador na geração de muitas bandas informativas, que podem orientar esforços nas estratégias de coleta, conservação e, futuramente, no melhoramento genético.

2.7 Estudos Ecogeográficos

Estudos ecogeográficos têm possibilitado a caracterização dos locais de ocorrência de muitas espécies medicinais importantes, contribuindo na definição de formas de manejo da cultura, de modo a garantir as condições favoráveis ao estímulo à produção de compostos bioativos, geralmente muito afetados por fatores ambientais (Gobbo-Netto, 2007). Foi através desses estudos que Oliveira et al (2021) concluiu importantes observações sobre a ambiência de crescimento e desenvolvimento da *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth. Harley& JFB Pastore.O estudo identificou que a espécie ocorre predominantemente em ambientes com solos arenosos, baixa fertilidade, além de elevada concentração de Alumínio (Al^{+3}) contribuindo, dessa forma, com valiosas informação na elaboração de estratégias de coleta e programas de conservação da espécies.

2.8REFERÊNCIAS

ABD-DADA, HASSANE et al. **Use of ISSR markers to assess the genetic diversity of an endemic plant of Morocco (Euphorbia resinifera O. Berg).** Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, v. 21, n. 1, p. 91, 2023.

AGUIAR, LUANE CONCEIÇÃO; DELGROSSI, MAURO EDUARDO; OLIVEIRA, LUIZ GUILHERME DE; ÁVILA, MÁRIO LÚCIO DE. **AS POLÍTICAS PÚBLICAS NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO: uma revisão de literatura.** Revista Econômica do Nordeste, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 9–22, 2019. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/revista/ren/article/view/968>. Acesso em: 2 abr. 2024.

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. **Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, p. 472-508, 2008.

ÁLVAREZ-OSORIO, VERÓNICA M.; MURIEL-RUÍZ, Sandra B.; COTES-TORRES, José M. **Caracterización morfológica de Matisia cordata Bonpl. en un bosque seco tropical de Antioquia,** Colombia. 2020.

ALVES, C. A. B. et al. **Comercialização de plantas medicinais: um estudo etnobotânicos na feira livre do município de Guarabira.** Paraíba, nordeste do Brasil. Gaia Scientia, v. 10, ed. 4, p. 390-407. 2016

ALVES, JOSE JAKSON AMÂNCIO; DE ARAÚJO, Maria Aparecida; DO NASCIMENTO, Sebastiana Santos. **Degradação da Caatinga: uma investigação ecogeográfico.** Revista Caatinga, v. 22, n. 3, p. 126-135, 2009.

ANTONELLI, ALEXANDRE; SANMARTÍN, ISABEL. **Why are there so many plant species in the Neotropics?** Táxon, v. 60, n. 2, p. 403-414, 2011.

ARAÚJO, E.C.; LIMA, M. A.; MONTENEGRO, R. C.; NOGUEIRA, M.; COSTA LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R. **Cytotoxic**

abietane diterpenes from Hyptis martiusii Benth. Z Naturforsch **C**, v. 61, p. 177-183, 2006.

ARAÚJO, E. C. C.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; NETO, M. A.; ANDRADE, I. L.; LIMA, M. A. A.; SANTIAGO, G. P. S.; MESQUITA, A. L. M. **Insecticidal activity and Chemical composition of volatile oils from Hyptis martiusii Benth.** J Agric Food Chem, v. 51, p. 3760-3762, 2003.

ASSIS, EDILEUZA B. de et al. Abietane Diterpenes from Medusantha martiusii and Their Anti-Neuroinflammatory Activity. **Molecules**, v. 29, n. 12, p. 2723, 2024.

BAKKALI, FADIL et al. **Biological effects of essential oils—a review.** Food and chemical toxicology, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Meio Ambiente. **Biodiversidade e Ecossistemas.** Disponível em: www.gov.br/mma/biodiversidade acessado em: 25.11.23

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente e Mudanças do Clima. **Caatinga** publicado em 28.01.22. atualizado em 08.04.22. disponível em <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/caatinga>> acesso em 19.02.2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agronegócio brasileiro: desempenho do comércio exterior.** 2. ed. Brasília, DF: Mapa, 2006.

BRIDI, HENRIQUE; DE CARVALHO MEIRELLES, GABRIELA; VON POSER, GILSANE LINO. Subtribe Hyptidinae (Lamiaceae): **A promising source of bioactive metabolites.** Journal of ethnopharmacology, v. 264, p. 113225, 2021.

BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de curadores de germoplasma - vegetal: caracterização morfológica.** (Documentos/ Embrapa Recursos

Genéticos e Biotecnologia,378) Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 15 p.

CARVALHO SILVA, ANDERSON DE ET al. **Assessment of the genetic diversity of *Eplingiella fruticosa* (Salzm. ex Benth.) Harley & JFB Pastore (Lamiaceae) based on morpho-agronomic markers and chemical composition of essential oils.** Genetic Resources and Crop Evolution, p. 1-18, 2024.

COSTA-LOTUFO, L. V.; ARAÚJO, E. C.; LIMA, M. A.; MORAES, M. E.; PESSOA, C.; SILVIERA, E. R.; MORAES, M. O. **Antiproliferative effects of abietane diterpenoids Isolated from *Hyptis martiusii* Benth (Labiatae).** Pharmazie, v. 59, p. 78- 79, 2004.

COUTINHO, H. D. M. et al. **In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains.** Rev. Bras. Farmacogn. v. 18, p. 670-675, 2008.

DAR, AEJAZ AHMAD; MAHAJAN, REETIKA; SHARMA, Susheel. **Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources.** Indian Journal of Agricultural Sciences, v. 89, n. 11, p. 1755-1763, 2019.

DE OLIVEIRA, E. et al. **Estudos ecogeográficos de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth. Harley& JFB Pastore): Uma espécie medicinal do semiárido do Brasil.** Research, Society and Development, v. 10, n. 4, p. e37610413963-e37610413963, 2021.

EMBRAPA. **Preservação e uso da Caatinga** / Embrapa Informação Tecnológica; Embrapa Semiárido. – Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 39 p. : il. – (ABC da Agricultura Familiar, 16).Disponível em :<[ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/ item/11_949/2/ 00081410.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11_949/2/00081410.pdf)>. Acesso em 02 abr. 2024.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético- moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007.02 p.

FALKENBERG, M. B; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C.M. O. **Introdução à análise Fitoquímica**. In: SIMÕES, C. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2007. p. 229-245.

FERRAZ, RODRIGO M et al. **Caracterização morfoagronômica preliminar de acessos de pimentas cumari**. Hortic. Bras., Vitoria da Conquista, v. 34, n. 4, p. 498-506, Dec. 2016.

FEIJÓ, EMILY VERÔNICA ROSA DA SILVA et al. **Genetic diversity of *Lippia organoides* Kunth. in natural populations using ISSR markers**. Ciência e Agrotecnologia, v. 46, p. e000822, 2022.

FRANCO, C. M.; et al. **Essential oil composition and variability in *Hyptis fruticosa***. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 21, n. 1, p.24 – 32, 2011b.

FREITAS, A.V.L. et al. **Os raizeiros e a comercialização de plantas medicinais em São Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil**. Revista Brasileira Biociência. Porto Alegre, v. 10, n. 2, p. 147-156,abr./jun. 2012.

GALATE, R. dos S. et al. **Caracterização morfoagronômica de germoplasma de açaizeiro no nordeste paraense**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 34, p. 540-550, 2012.

GUEDES, T. B.; SAWAYA, R. J.; NOGUEIRA, C. **Biogeography, vicariance and conservation of snakes of the neglected and endangered Caatinga region, north-eastern Brazil**. Journal of Biogeography, v.41,n. 5,p. 919-931, 2014.

HARLEY, R. M.; PASTORE, J. F. B. **A generic revision and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence.** Phytotaxa, v. 58, p. 1–55-1–55, 2012.

HARLEY, R. M. **Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon.** Rodriguésia, v. 63 n. 1, p. 129-144, 2012.

KIILL, LÚCIA HELENA et al. **Biodiversidade da Caatinga como potencialidade para a agricultura familiar.** AGRICULTURA FAMILIAR, p. 15, 2019.

LAURENTIN, H. **Análise de dados para caracterização molecular de recursos genéticos vegetais.** Genetic Resources Crop and Evolution 56 , 277–292, 2009.

LI, B.O.; OLMSTEAD, R.G. **Two new subfamilies in Lamiaceae.** Phytotaxa, v. 313, n. 2, p. 222-226, 2017.

NADEEM, Muhammad Azhar et al. **DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing.** Biotechnology & Biotechnological Equipment, v. 32, n. 2, p. 261-285, 2018.

NASS, L.L. **Recursos genéticos vegetais.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

OLIVEIRA, T. C. **Caracterização e comportamento de acessos de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) mantidos em banco ativo de germoplasma em São Cristóvão–SE.** 2008.86 Dissertação (Mestrado em Agro ecossistemas). UFS, São Cristóvão/SE.

PAIVA, S. R. et al. **Recursos genéticos: o produtor pergunta, a Embrapa responde.** 2019.

SALGOTRA,R.K; CHAUHAN, B. S. **Genetic diversity, conservation, and utilization of plant genetic resources**. Genes, v. 14, n. 1, p. 174, 2023.

SEVINDIK, E et al. **Molecular characterization of *Dittrichia viscosa* (L.) greuter (Asteraceae) populations revealed by ISSR markers and chloroplast (CPDNA) tRNL intron sequences**. Genetika, v. 55, n. 1, p. 217-228, 2023.

SOARES, A.S. **Medusantha in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB132621>>.Acesso em: 20 out. 2023.

TAMOKOU, J. D. D.; MBAVENG, A. T.; KUETE, V. **Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables**.Medicinal spices and vegetables from Africa. Academic press, 2017. p. 207-237.

THUDI, M. et al. **Genomic resources in plant breeding for sustainable agriculture**. Journal of Plant Physiology, v. 257, p. 153351, 2021.

TUREK,C.;STINTZING,F.C.**Stability of essential oils: a review**. Comprehensive reviews in food science and food safety, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

XIA, YU et al. **Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review**. Artificial Intelligence in Agriculture, v. 1, p. 35-47, 2019

CAPITULO I:

¹ ESTUDOS ECOGEOGRÁFICOS E PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Medusantha martiussi* (BENTH) HARLEY & J.F.B. PASTORE (LAMIACEAE)

Edvan Assis Oliveira^{ID} · Lenaldo Muniz de Oliveira^{ID} · Angélica Maria Lucchese^{ID}
· Taliane Leila Soares^{ID}

SUMMARY

The semiarid region of Brazil is marked by scarce rainfall and high temperatures. The Caatinga biome, established in this region, has great diversity of plants with economic potential and applications, such as in herbal medicine. Plant representatives include those of the family Lamiaceae, which has 240 genera and 7200 species. The essential oil of the species *Medusantha martiusii*, popularly known as “alfazemas de caboclo”, has often been found to have biological activities, such as cytotoxic, antimicrobial and insecticidal effects, thus making this species economically important. The objective of this study was to characterize the climatic, geographical and edaphic aspects of sites where *M. martiussi* naturally occurs in the state of Bahia in order to understand the possible relationships and interactions between the environment and plant growth, development and production of essential oils. Vector files with climate, geomorphology, phytophysiology, and soil data were examined and the data were systematized and analyzed. The species occurs in semi-arid areas with nutrient-poor, acidic and well-drained soils. The species has broad range of thermal adaptation, occurring from mountainous regions with high relief to low altitudes and in climatic zones characterized by scant and poorly distributed rainfall. The essential oil content showed a quantitative variation across the surveyed sites, with an average of 2.07% by dry weight of leaves and flowers, and a moderate and significant interaction of the essential oil with Fe and Zn concentrations present in the soil were also observed.

Keywords: Native medicinal plants · Diversity · Ecogeographic · Essential oil

¹ Artigo publicado em Resources Genetics Crop and Evolution – Setembro de 2024.

CAPÍTULO I

ESTUDOS ECOGEOGRÁFICOS E PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Medusantha martiussi* (BENTH) HARLEY & J.F.B. PASTORE (LAMIACEAE)

Edvan Assis Oliveira¹, Lenaldo Muniz de Oliveira², Angélica Maria Lucchese³

²Doutorando em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: eo4001@gmail.com;

³Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lenaldo.uefs@gmail.com;

⁴Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Departamento de ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: angelica.lucchese@gmail.com.

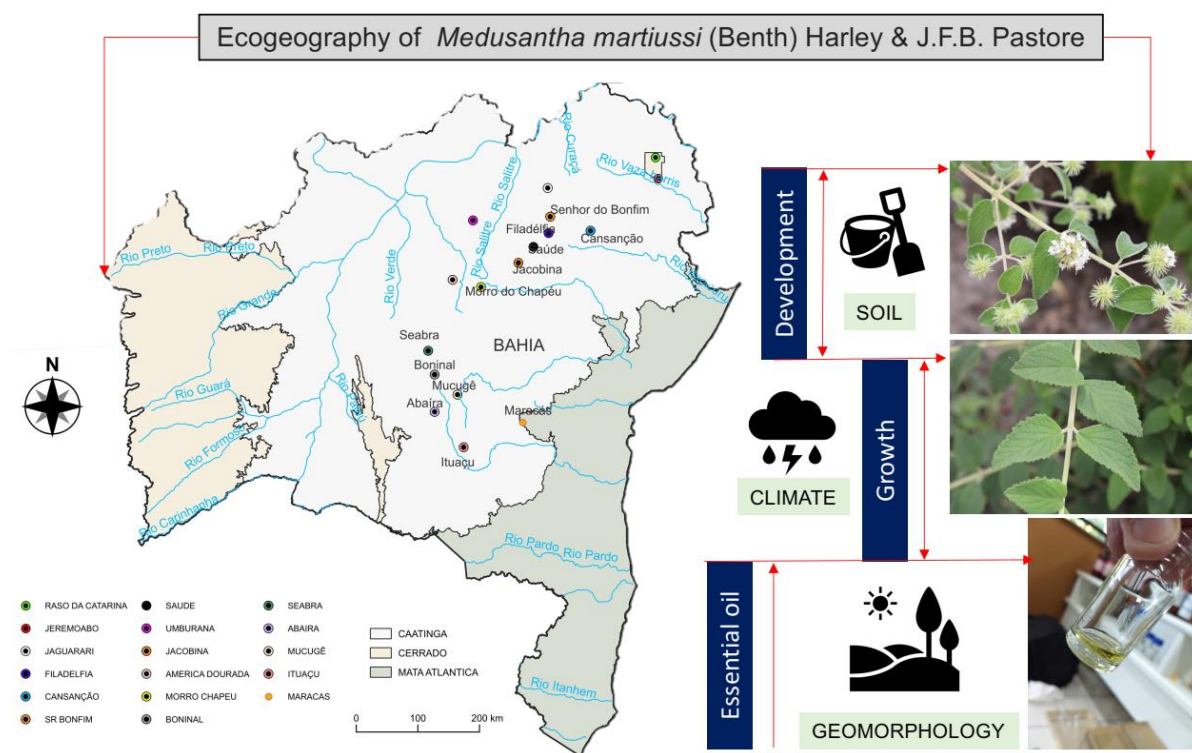
1.0 RESUMO:

O semiárido é marcado por escassez de chuva e temperaturas elevadas. Nestas condições, está inserido o bioma Caatinga com sua grande biodiversidade vegetal com potencial econômico e diversas aplicações, como o uso fitoterápico das plantas medicinais. Entre os representantes vegetais estão as plantas da família Lamiaceae, que inclui 240 gêneros e 7200 espécies. A espécie *Medusantha martiussi* (Benth.) & J.F.B. Pastore, conhecida popularmente como alfazemas de caboclo, frequentemente é vinculada a atividades biológicas do seu óleo essencial que, entre outras, possui efeito citotóxico, antimicrobiano e inseticida, dando-lhe assim, importância econômica. O objetivo desse trabalho foi caracterizar o ambiente quanto aos aspectos climáticos, geográficos e edáficos dos sítios de ocorrência natural da espécie coletados no Estado da Bahia, buscando-se entender as possíveis relações e interações do ambiente, relacionados ao crescimento, desenvolvimento e produção de óleos essenciais. Arquivos vetoriais com dados de clima, geomorfologia, fitofisionomia e solos foram levantados e os dados sistematizados e analisados. A espécie tem ocorrência em regiões de clima semiárido, em solos de baixa fertilidade, ácidos e bem drenados. Possui ampla faixa de adaptação térmica, ocorrentes desde regiões montanhosas de relevos elevados até de geomorfologia da baixa altitude e em zonas climáticas caracterizadas por pouca chuva e mal distribuídas. O teor de óleo

essencial apresentou variação quantitativa nas localidades pesquisadas, com média de 2,07 %. em relação ao peso seco das folhas, e mostrou uma possível interação moderadamente positiva em solos ricos em Fe e negativa a concentrações de Zn.

Palavras-Chaves: Plantas medicinais nativas; Diversidade; Ecogeografia.

2.0 RESUMO GRÁFICO



3.0 INTRODUÇÃO

O semiárido brasileiro é marcado pela escassez e irregularidade das chuvas, elevadas temperaturas e aridez (Pinheiro & Nair, 2019). Nessa região, o Bioma predominante é a Caatinga, com sua grande diversidade florística, composta por plantas adaptadas ao clima seco (Morais et.al., 2021). Ocupando 13% do território nacional, seu padrão morfológico de vegetação depende das condições edafoclimáticas locais, podendo apresentar-se desde um porte arbóreo e denso até formas arbustivas abertas (Francisco et al, 2020). Apresenta uma elevada diversidade de plantas, em torno de 3.150 espécies, distribuídas em 950 gêneros e 150 famílias, com uma elevada taxa de endemismo (Oliveira, C.B. S et al., 2021). Porém, o bioma tem apresentado perdas contínuas de sua vegetação nativa, tendo a ação antrópica como causa principal (IBGE, 2020).

Entre as aptidões e potenciais da caatinga, resultantes da sua grande diversidade, temos as plantas medicinais, amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais (Santos et al., 2018), não obstante poucos compostos ativos, decorrentes do metabolismo secundário dessas plantas e sua interação com o ambiente, terem sido adequadamente estudados ou caracterizados como fontes promissoras para o desenvolvimento de novos bioativos (Oliveira, C.B. S, et al., 2021).

Entre as diversas famílias botânicas presentes neste bioma, com propriedades medicinais, destaca-se a família Lamiaceae, que inclui cerca de 240 gêneros e 7.200 espécies, com distribuição cosmopolita, sendo a maior família dentro da ordem Lamiales (Harley 2012). Nessa família, os gêneros mais abundantes são *Salvia* (900 espécies), *Scutellaria* (360), *Stachys* (300), *Plectranthus* (300), *Hyptis* (280), *Teucrium* (250), *Vitex* (250), *Thymus* (220) e *Nepeta* (200) (Karpinki, T.M⁷, 2020). O gênero *Medusantha* é derivado do gênero *Hyptis*, após revisão combinações taxonômicas (Harley, R. M.; Pastore, J. F. B, 2012). Esse novo gênero reúne oito espécies, sendo facilmente reconhecido por apresentar flores em capítulos esféricos e bractéolas involucrais e lobos do cálice filamentosos (Harley, R.M., & Pastore J.F.B., 2012; Silva - Luz et al. 2012).

Medusantha martiusii (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, anteriormente descrita como *Hyptis martiussi* Benth, é conhecida pelas comunidades locais como alfazema de caboclo e cidreira do campo (AGRA et al, 2008). É endêmica do Brasil, ocorrendo

nos estados da Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Minas Gerais (SiBBR, 2023), frequentemente vinculada a ambientes de Caatinga e Cerrado (BFG, 2018). Morfologicamente, possui lâminas foliares ovais e capítulos esféricos, dispostos em panículas (Harley, R.M., & Pastore J.F.B., 2012; Silva-Luz et al., 2012). Ensaaios farmacológicos comprovaram atividades biológicas do óleo essencial da espécie, com propriedade citotóxica (Da Cruz Araújo et al., 2006), antimicrobiana (Coutinho et al., 2008) e inseticida contra o mosquito *Aedes aegyptie Bemisia argentifolii* (Araújo E.C. et al., 2003) e, também, contra larva *Culex quinquefasciatus*, agente transmissor da filariose (Costa J.G.M et al., 2005), o que a torna cada vez mais importante estudos e pesquisas no desenvolvimento de estratégias de domesticação, conservação e de melhoramento dessa espécie.

Para essas espécies silvestres, com grande potencial fitoquímico e elevado grau de endemismo, o processo de domesticação é urgente, de modo a viabilizar a conservação *ex situ* do germoplasma existente e o cultivo, minimizando os danos às populações naturais das espécies, provocados pelo extrativismo. No entanto, para que o processo de domesticação ocorra, é necessário o prévio conhecimento das características do solo e do ambiente a qual a espécie está adaptada, sendo a ecogeografia uma importante ferramenta para esse fim.

Estudos ecogeográficos têm possibilitado a caracterização dos locais de ocorrência de espécies medicinais importantes, contribuindo na definição de práticas de manejo quando em cultivo, de modo a garantir as condições favoráveis à exploração sustentável da espécie (Parra-Quintano et al., 2012). Estudos ecogeográficos têm permitido analisar graus de risco de erosão genética, estratégias de conservação dos recursos genéticos, bem como, a formação de dados para utilização em programas de melhoramento de espécies medicinais nativas importantes, como erva baleeira (*Verronica curassavica* Jaque. Boraginaceae) (Mendes et al., 2015), *Lippia rotundifolia* Cham (Meira, 2017) e *Eplingiella fruticosa* (Salzm. ex Benth.) Harley & J.F.B. Pastore (Oliveira et al., 2021).

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi caracterizar o ambiente, quanto aos aspectos climáticos, geográficos e edáficos dos sítios de ocorrência natural da espécie alfazema de caboclo (*Medusantha martiussi* (Benth.) & J.F.B. Pastore), coletados no Estado da Bahia, buscando-se entender as possíveis relações e interações entre a

espécie e o ambiente, relacionando-os com crescimento, desenvolvimento e produção de óleos essenciais.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Identificação dos sítios de ocorrência da espécie

Dados de localização dos sítios de ocorrência da espécie no Estado da Bahia foram obtidos no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), a partir de coletas já realizadas, e no herbário virtual - speciesLink (<https://specieslink.net>). A partir da identificação dos locais de ocorrência foram realizadas expedições para coleta de dados de vegetação, abrangência, amostras de solo e material biológico para confecção de exsiccatas e extração de óleos essenciais. As exsiccatas foram enviadas ao Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), onde foram tombadas e identificadas (Tabela 01). A coleta encontra-se cadastrada no SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado) sob cadastro nº A1C1DEB.

4.2 Caracterização dos locais de ocorrência natural da espécie

A partir das coordenadas geográficas (latitude e longitude) dos sítios de ocorrência da espécie, coletados *in situ*, foram realizados levantamentos de informações climáticas (altitude, temperaturas, precipitação, Irradiação solar), bioma, fitofisionomia e dados geomorfológicos. Arquivos vetoriais com dados de clima, geomorfologia, fitofisionomia e solos foram obtidos dos sites do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) e EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e, em seguida, processados e sistematizados pelo software QGIS (Geographic Information System - GIS) versão 10.6, Sistema de coordenadas Datum South American (1969) (Figura 01).

Para caracterização do solo, em cada local de ocorrência, foram coletadas três amostras compostas, constituídas de três amostras simples, coletadas em uma profundidade de 0 - 20 cm. Usou-se, nessa etapa, para melhor uniformização e padrão das coletas, uma sonda extratora graduada. As amostras foram analisadas no

Laboratório FULLIN – LABORATÓRIO DE ANÁLISE AGRONÔMICA E AMBIENTAL, credenciado e certificado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, localizado em Linhares, Espírito Santo. Foram quantificados os parâmetros físicos (percentuais de silte, argila e areia) e químicos (pH em água, acidez potencial (H + Al), soma das bases (SB), saturação de bases (V%), teor de macro nutrientes, relação entre os macros nutrientes (Ca:Mg, Ca:K, Mg:K), capacidade de troca catiônica (CTC), além do teor de matéria orgânica (MO) e dos micronutrientes (Cl, Fe, Cu, Zn, B, Mo e Mn). As quantificações foram realizadas de acordo com o manual de métodos de análise de solo (Embrapa, 2007).

4.3 Extração dos óleos essenciais

Para quantificação do teor dos óleos essenciais de cada população, foram coletadas folhas e flores de diferentes indivíduos nos locais de ocorrência. Após identificação, foram acondicionados em sacos de rafia e, em seguida, encaminhados para secagem em temperatura ambiente. As extrações foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON), da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação em aparelho de Clevenger. Amostras constituídas por 50g de material vegetal seco (folhas e flores) foram submetidas a um triturador (marca Wallita) com três lâminas de corte. Posteriormente, todo material foi misturado com água destilada em um balão de vidro (volume 3.000 ml) na proporção de 1:20 (uma parte da amostra para 20 de água) e submetido a uma manta elétrica por um período de 2 horas, contados a partir da condensação da primeira gota do óleo no tubo graduado. Ao final da extração o volume foi medido na coluna graduada do aparelho e, em seguida, com auxílio de uma pipeta (tipo Pasteur), o óleo foi coletado e tratado com Sulfato de Sódio Anidro – Na_2SO_4 , para eliminar possíveis traços de água (H_2O) e, posteriormente, embalado em frasco de 5 ml e envolvido, para proteção contra a luz, em papel alumínio e armazenado em câmara fria a 5°C. Cada extração foi realizada em triplicata por população. O teor de óleo essencial foi calculado pela relação entre o volume de óleo obtido e a biomassa vegetal utilizada, subtraída da umidade existente na amostra, sendo expressa em g/100g (Santos et al., 2004).

4.4 Análise Estatística dos Dados

Os testes estatísticos serão realizados para identificação e quantificação da variabilidade existente através da análise de variância utilizando-se o teste de média * SkotKnot) a 5 % de probabilidade. Identificadas as variáveis que apresentarem significância no teste foram submetidas ao teste de agrupamento(UPGMA).A divergência genética foram determinadas pela análise multivariadas através da técnico de agrupamento e de variáveis canônicas. Na análise de agrupamento utilizou-se a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) como medida de dissimilaridade e na formação dos grupos, sendo o agrupamento das amostras realizado pelo método hierárquico Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average (UPGMA), citado por Rao (1952) .Para determinação das variáveis genéticas utilizou modelo proposto por Sing (1981). No dendograma, o ponto de corte foi definido pelo modelo proposto por Mojena(1977), que aponta a formação de grupos através de métodos hierárquicos – como o UPGMA, por exemplo. Os métodos de agrupamentos hierárquicos foram testados e calculados através do coeficiente de correlação cofenética(CCC). As análises foram realizadas através do software R utilizando os pacotes Multivariate Analysis, Facto Extra e FactoMineR

5.0 RESULTADOS

Para coleta dos dados *in situ* foram percorridos 10.300 km, com latitudes que variaram entre 9° 47' 49" S a 13 27" 58" S e longitude de 38° 29' 32" W a 41° 23' 57" W, totalizando 17 sítios de ocorrência. Os sítios de ocorrência encontrados estão situados nos municípios de Maracás (MRC), Ituaçu (ITU), Mucugê (MCG), Abaíra (ABA), Seabra (SAB), Boninal (BNN), Morro do Chapéu (MDC), América Dourada (AMD), Jacobina (JCB), Umburana (UMB), Saúde (SDE), Senhor do Bonfim (SDB), Cansanção (CSÇ), Filadélfia (FDF), Jaguarari (JGR), Jeremoabo (JRB) e na Estação Ecológica Raso da Catarina em Paulo Afonso (RDC), todos no Estado da Bahia (Tabela 01).

Tabela 01: Dados de localização e número de voucher da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore identificados no estado da Bahia – Brasil.

Local/Código	Coordenadas Geográficas		Meso região	Voucher
	Latitude	Longitude		
Maracás - MRC	13° 27' 630"	40° 30' 754"	Centro sul Baiano	HUEFS 259265
Ituaçu -ITU	13° 46' 459"	41° 18' 359"	Centro sul Baiano	HUEFS 259266
Mucugê - MCG	12° 56' 818"	41° 23' 072"	Centro sul Baiano	HUEFS 259264
Abaíra - ABA	13° 15' 755"	41° 40' 762"	Centro sul Baiano	HUEFS 259267
Seabra -SAB	12° 25' 850"	41° 47' 863"	Centro sul Baiano	HUEFS 259268
Boninal - BNN	12°42'07"	41°49'40"	Centro sul Baiano	HUEFS 259269
Morro do Chapéu- MDC	11°38'03"	40°58'54"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259270
América Dourada - AMD	11°26'22"	41°26'22"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259271
Jacobina - JCB	11°05'02"	40°41'23"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259272
Umburana - UMB	10°41'59"	41°17'40"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259273
Saúde - SDE	10°55'40"	40°24'50"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259274
Senhor do Bomfim - SDB	10°30'49"	40°12'31"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259275
Cansanção - CSÇ	10°39'47"	39°32'6"	Nordeste Baiano	HUEFS 259276
Filadélfia - FDF	10°32'22"	40°08'17"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259277
Jaguarari - JRG	10°24'09"	40°19'54"	Centro Norte Baiano	HUEFS 259278
Jeremoabo - JRB	09° 56' 44"	38° 17' 38"	Nordeste Baiano	HUEFS 259279
Esec Raso Catarina - RDC	09° 47' 49"	38° 29' 32"	Nordeste Baiano	HUEFS 136683

As latitudes variaram entre 09°47'49", na estação ecológica Raso da Catarina (RDC), e 13° 46' 45" no município de Ituaçu (ITU). Para a longitude os extremos foram de 38° 17' 38", em Jeremoabo(JRB), e 41°49'40" em Boninal (BNN). A espécie *M. martiusii* ocorre preferencialmente em altitudes acima de 300 m, com amplitude que vai de 352 m (CSÇ) até 1.135 m (BNN), em relevo plano suavemente ondulado – MRC, ITU, SAB, CSÇ e FDF a regiões marcadas por fortes ondulações e cadeias

montanhosas, a exemplo de MDC e MCG, em relevo plano suavemente ondulado – MRC, ITU, SAB, CSÇ e FDF a regiões marcadas por fortes ondulações e cadeias montanhosas, a exemplo de MDC e MCG (Tabela 02).

Tabela 02: Dados ecogeográficos dos 17 sítios de ocorrência da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, identificados no estado da Bahia.

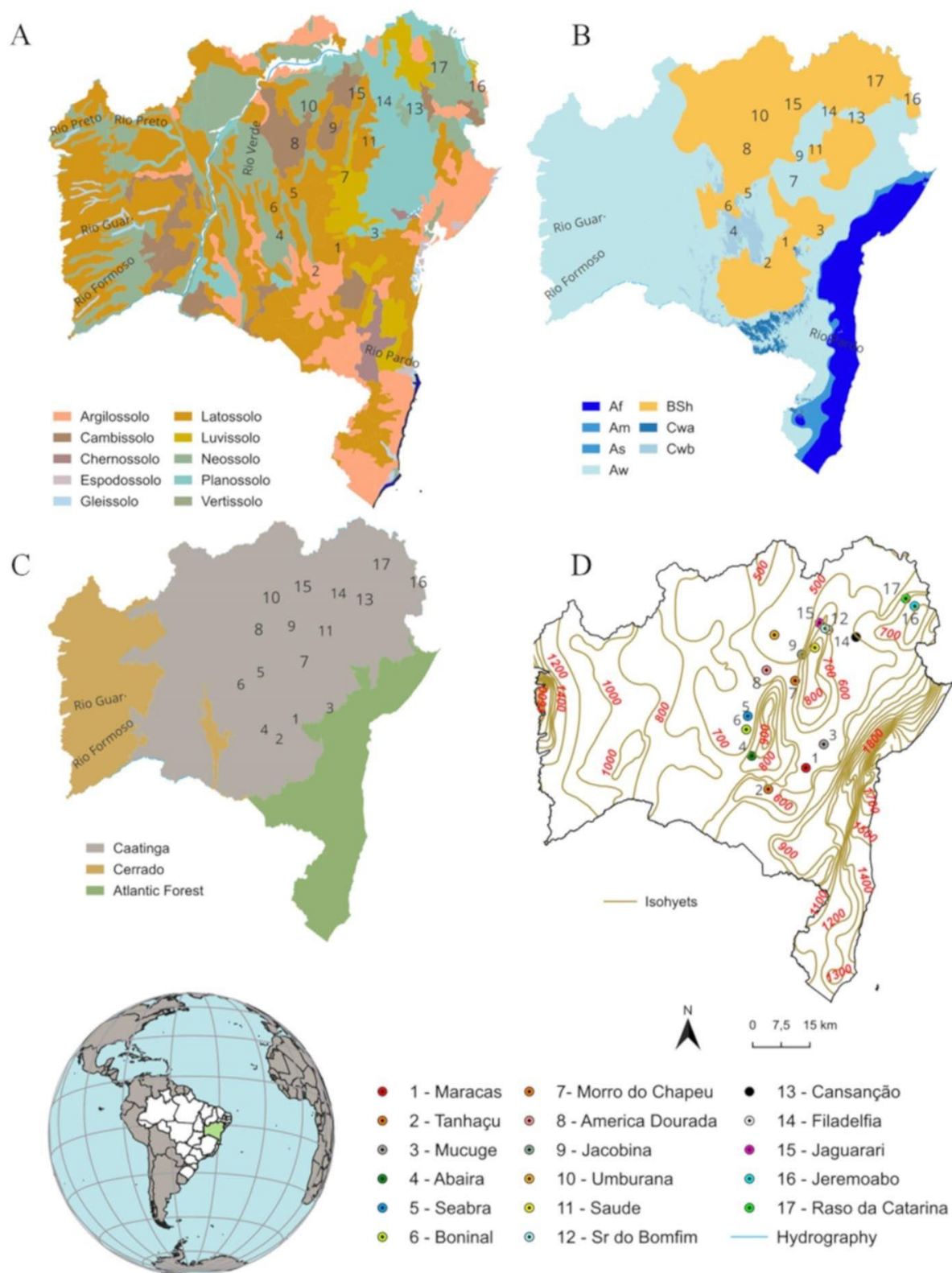
Cód. Localidade	Altitude	Precipitação	Temperatura	Topografia
	m	mm/ano	°C	Relevo
MRC	600	654	22,5	Plano - suave ondulado
ITU	727	651	21,9	Plano - suave ondulado
MCG	1115	892	19,9	Forte ondulado -montanhoso
ABA	961	873	20,8	Ondulado
SAB	913	687	20,6	Plano - suave ondulado
BNN	1135	725	19,9	Suave ondulado
MDC	857	660	21,7	Forte ondulado
AMD	770	621	22,3	Ondulado - forte ondulado
JCB	605	683	23,1	Suave ondulado
UMB	790	492	22,3	Suave ondulado
SDE	545	840	23,5	Suavemente ondulado
SDB	498	680	23,8	Suave ondulado
CSÇ	352	523	24,5	Plano - suave ondulado
FDF	422	694	24,2	Plano - suave ondulado
JGR	527	532	23,7	Suave ondulado
JRB	470	566	23,6	Suave ondulado
RDC	620	480	25	Suave ondulado

A precipitação anual variou entre 480 mm/ano e 892 mm/ano em RDC e MCG, respectivamente. Mais da metade das populações (64,71%) encontra-se em uma faixa onde a ocorrência de chuvas (média) não passa dos 800 mm/ano – SAB, BNN, AMB, JCB, MDC, AMD, JCB, UMB, SDE, SDB, CSÇ, FDF, JGR, JRB e RDC e, em apenas

duas localidades (11,76 %), chove acima de 800 mm, com destaque para MCG que ultrapassa os 890 mm/ano (Tabela 2).

Pela classificação climática de Koppen-Geiger(Fogaça,2018), que leva em consideração a temperatura, a precipitação e a distribuição da vegetação, 52,94 % dos sítios de ocorrência apresentam clima do tipo BSh – clima quente de estepe e semiárido, 35,29 % do tipo Aw - clima tropical de savana com estação seca no inverno e chuvas de verão e, por fim, 11,76 % do tipo Cwb – clima mesotérmico, úmido em todas as estações e verões quentes(Figura 1B). A temperatura média nos sítios de ocorrência varia entre 19,9 °C e 25 °C, indo, portanto, de clima mais ameno (39 % das localidades) (MRC, ITU, MCG, ABA, SAB, BNN e MDC), até locais com temperaturas entre 23°C – 25°C, como em AMD, JCB, UMB, SDE, SDB, CSC, FDF, JGR, ERC e JRB (69 % das localidades amostradas) (Tabela 02).

Nos 17 sítios foram encontrados quatro ordens de solos (Figura 1A), sendo mais frequente os Latossolo (47% - MRC,ITU,MDC,JCB,SDE,SDB,FDF,JGR) e os Neossolo, (36 % - SAB, BNN,AMD,UBM,JRB,RDC). As amostras coletadas apresentaram pH variando entre 4,53 – 6,40 em SDE e FDF, respectivamente. A soma das bases trocáveis (Ca, Mg, K) apresentou um valor médio de 1,94 cmol/dm³. O complexo de trocas catiônicas (CTC) ficou entre 0,93 e 3,90 cmolc/cm³ em RDC e SDE, nessa ordem. A Saturação das bases (V%) - um importante indicador da fertilidade do solo -, teve um valor mínimo de 20,93% e o máximo de 75,10% em SDE e FDF, respectivamente, mostrando-se substratos de crescimento do vegetal bastante heterogêneo. O valor médio da saturação de Al⁺³ (m%) foi de 22,60 %, com destaque para as localidades de ABA, RDC e JCB, que apresentaram valores de 44,00 %, 49,50 % e 50,50 %, respectivamente (Tabela 03).



.Figura 01 – Mapas com caracterização de solo (A), tipo de clima(B), bioma(C) e gradiente de chuva (D) dos 17 sítios de ocorrência da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore identificados no Estado naBahia

Tabela 03: Valores médios dos atributos físicos e químicos do solo nos 17 sítios de ocorrência natural da espécie *Medusantha martiusii* (Benth.)

Harley & J.F.B. Pastore, identificados no Estado da Bahia – Brasil.

Soil attribute	Populations	MRC	ITU	MCG	ABA	SAB	BNN	MDC	AMD	JCB	UMB	SDE	SDB	CSÇ	FDF	JGR	JRB	RDC
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17
pH H ₂ O		5.70	5.70	5.37	6.27	6.70	5.70	5.27	6.37	5.17	5.10	4.53	5.87	6.30	6.40	5.23	5.93	5.27
P		2.00	3.33	4.00	5.33	5.00	4.00	2.00	6.33	4.67	2.33	1.00	10.33	7.00	4.67	2.33	4.00	1.67
K	mg/dm ³	163.33	65.00	20.00	140.00	93.00	59.00	25.67	39.00	32.00	69.67	46.67	71.00	81.67	156.67	65.00	65.67	20.00
S		18.00	5.33	4.66	7.00	5.66	12.00	6.33	5.33	5.66	10.33	3.66	5.33	5.00	5.00	15.66	5.00	5.33
Ca		0.60	0.80	1.33	2.03	2.40	1.13	1.00	2.20	0.73	0.50	1.37	1.47	1.30	2.63	0.83	1.30	0.37
Mg	cmolc/dm ³	0.47	0.23	0.40	0.40	0.27	0.23	0.27	0.73	0.23	0.30	0.93	0.50	0.47	0.70	0.83	0.37	0.13
Al		0.00	0.00	0.27	0.23	0.13	0.13	0.33	0.00	2.57	0.43	1.43	0.10	0.00	0.00	0.57	0.00	0.33
H+Al		2.17	2.70	4.90	1.67	1.47	2.03	2.83	1.10	2.43	2.03	9.30	2.10	1.03	1.17	3.17	1.50	1.90
O.M	dag/Kg	0.90	2.17	3.47	1.17	1.27	1.57	1.53	0.67	0.87	0.87	2.33	1.13	0.97	1.70	0.83	0.97	1.00
SB		1.57	1.20	1.83	2.80	2.90	1.53	1.37	3.03	1.07	1.00	2.47	2.17	2.00	3.77	1.90	1.83	0.60
CEC - efet (t)	cmolc/dm ³	1.57	1.20	2.10	3.03	3.03	1.67	1.70	3.03	1.53	1.43	3.90	2.27	2.00	3.77	2.47	1.83	0.93
CEC (T)		3.70	3.90	6.70	4.46	4.36	3.56	4.20	4.13	3.50	3.00	11.76	4.26	3.03	4.93	5.06	3.33	2.50
Sat Al(m)		0.00	0.00	12.33	44.00	30.00	40.00	20.30	0.00	50.00	30.60	37.00	18.00	0.00	0.00	23.66	0.00	33.00
V		41.63	30.60	27.70	59.27	63.03	41.23	32.13	73.47	30.43	32.80	20.93	51.53	65.97	75.10	37.50	52.40	23.13
Clay	%	46.00	46.00	12.67	4.00	36.00	16.00	14.67	10.00	11.33	13.33	24.00	38.00	18.67	7.33	24.67	32.67	10.67
Sand		41.53	41.53	81.40	89.53	50.60	73.80	75.53	85.73	79.07	75.80	60.67	39.40	71.07	87.60	64.93	28.53	81.47
Silt		12.47	12.47	6.00	6.47	13.40	10.20	9.80	4.27	9.60	10.87	15.80	21.87	10.00	5.07	10.40	38.80	7.87

MRC= Maracás; ITU=Ituaçu; MCG= Mucugê; ABA= Abaíra; SAB= Seabra; BNN=Boninal; MDC= Morro do Chapéu; AMD= América Dourada; JCB= Jacobina; UMB= Umburana; SDE= Saúde; SDB= Senhor do Bomfim; CSÇ= Cansanção; FDF= Filadélfia; JGR= Jaguarari; JRB= Jeremoabo; RDC= Raso da Catarina; P_(x) : População a que se refere a localidade. Fonte: Fullin – Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental Ltd

A Análise dos Componentes Principais dos atributos do solo revelou características físico-químicas similares na grande maioria dos ambientes em que a espécie foi encontrada. A análise de agrupamento, usando o método de Ward (2), separou as populações em 5 grupos: grupo I, com 23% das localidades – (8) AMD, (12) SDB, (13) CSÇ e (16) JRB, encontradas em solos menos ácidos e com maiores valores de fósforo (P); grupo II, com 18% das localidades - (5) ABA, (4) SAB, (14) FDF, presentes em solos com valor de V acima de 50 % e, por isso, Eutróficos e mais férteis, com as maiores concentrações de K^+ , Ca^{+2} e Mg^{+2} ; grupo III, representado por 41 % das localidades – (9) JCB, (3) MCG, (2) ITU, (6) BNN, (7) MDC, (10) UMB e (17) RDC, com solos menos férteis(distróficos) e menor retenção de água (textura arenosa); grupo IV, com 12%, é o grupo formado por apenas duas localidades - (1) MRC e (15) JGR. São locais cujos solos possuem concentrações de S superiores a 10 mg/dm³, valores considerados elevados quando comparados com solos cultivados por espécies convencionais domesticadas; grupo V, com 6% apenas, foi o menor grupo, formado por uma única localidade (11) SDE, apresenta-se com solo de maior acidez trocável ($H^+ + Al^{+3}$), solos mais ácidos (menor valor de pH) e saturação de base (V% - 20,93) o mais baixo entre todas as amostras pesquisadas.

A análise dos componentes principais (ACP) e análise discriminante (Figura 2), para as variáveis físico-químicas, agruparam-se em dois componentes (CP1 e CP2). Esses componentes explicaram 65,60%, da variância dos dados apurados (Figura 02 C). O primeiro componente - CP1, explicou 37,84% da variabilidade (Figura 02 – PCA graph of variables) para as localidades amostradas. Os atributos com maiores percentuais e fatoriais de contribuição no componente 1(Figura 02 D) foram a saturação de base (V % - 18,34%), acidez (pH – 15,36 %) e a concentração de Ca^{+2} (18,31%, com escores de 0,93, 0,92 e 0,92, respectivamente. Os autovalores, neste eixo, intercalaram entre 0,42(Mg) e 0,93(V%). O segundo componente - CP2, explicou 27,32 % e os dois atributos que contribuíram com os maiores percentuais foram a CTC (24,5%)e a acidez trocável ($H+Al^{+3}$ – 17,10 %), com valores de escores 0,98 (CTC) e 0,90 e ($H+Al^{+3}$) (Figura 2 E).

A CP1 mostra separação entre os fatores que tem ligação direta com a fertilidade do solo, como as concentrações de Ca^{+2} , K^{+} , $\text{V}\%$ (Figura 02 – A) e, em contraste, no segundo quadrante, os atributos desfavoráveis de um solo fértil e cultivável, a destacar o $(\text{H}+\text{Al}^{+3})$, Al^{+3} e, a saturação de alumínio ($\text{m}\%$) no complexo CTC).

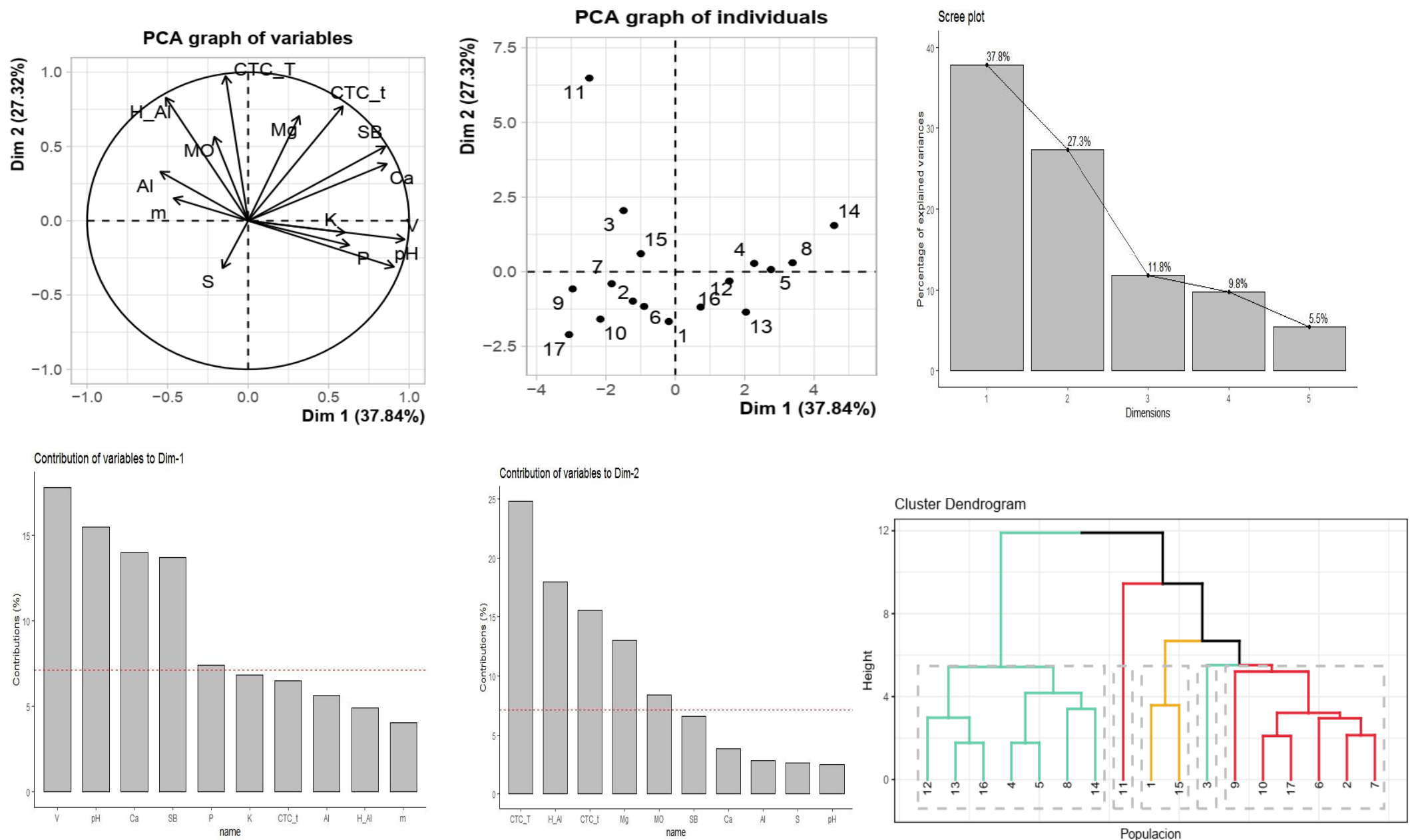


Figura 02 - Análise dos Componentes Principais (PC1 e PC2) e análise da similaridade das populações (Dendograma) com base em 14 atributos do solo em 17 locais de ocorrência natural de *Medusantha martiussi* (Benth) & J.F.B Pastore, coletadas no estado da Bahia

Nos sítios de ocorrência natural de *M. martiussi*, 58% das amostras analisadas apresentaram solos distróficos, com saturação de base (V%) menor que 50% e, também, solos alumínicos, cuja concentração de cátion Al^{+3} variou entre 20,3 e 50%. Elevadas concentrações de Al^{+3} caracterizam solos álicos e, portanto, muito pobres (C.C. RONQUIM, 2010), e que foram encontrados em 53% das localidades pesquisadas, como em ABA, SAB, BNN, MDC, JCB, UMB, SDE, JGR e RDC.

O óleo essencial apresentou grande heterogeneidade de valores (teor) significativos entre as populações. O teor médio encontrado foi 2,07 %, calculado com base do peso seco das folhas e flores (Figura 03 A). O destaque do desempenho foi o observado no material vegetal coletado no município de Ituaçu, com 2,81% , enquanto o menor valor foi o encontrado na localidade de CSÇ (Cansanção) (1,17%). Das dezessete populações analisadas, 47% (oito) delas apresentaram valores de óleo essencial acima da média: MRC (2,49%), JRB (2,44%), MDC 2,37%), FDF (2,20%), JGR (2,20%), JCB (2,13%) e RDC (2,11%). Esses resultados evidenciam uma possível opção para utilização da espécie em programas de melhoramento, considerando que o óleo essencial representa o produto vegetal de maior interesse econômico nessa espécie.

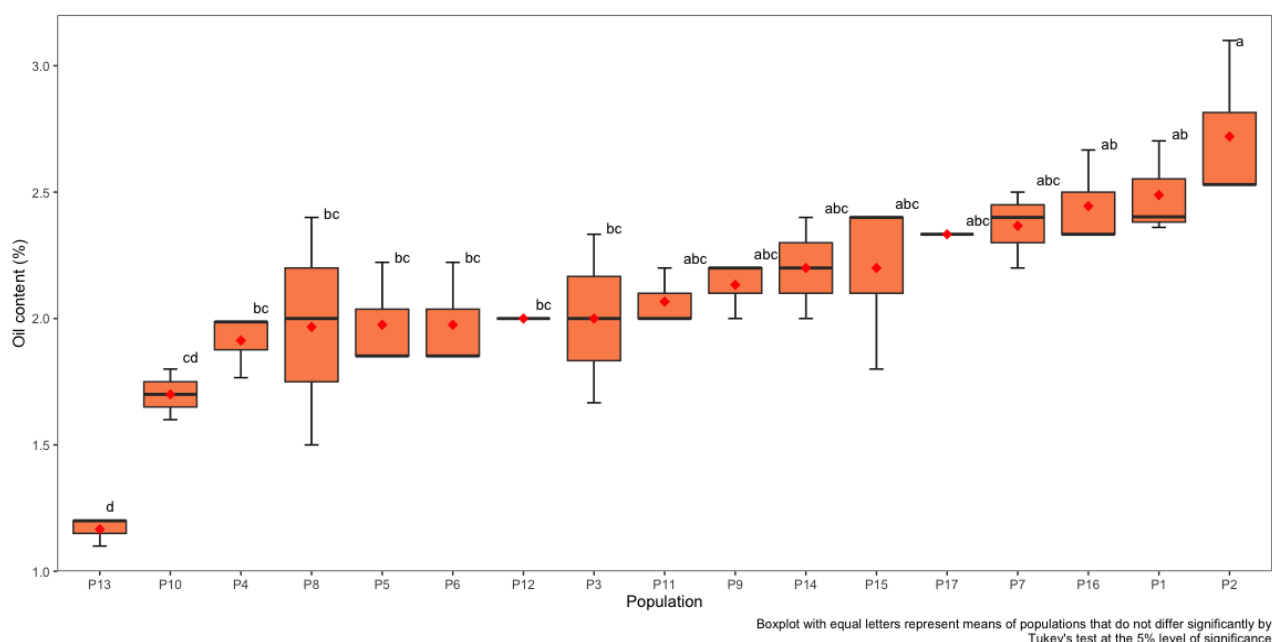


Figure 3 – Essential oil content of accessions collected in the 17 sites of occurrence of *Medusantha martiussi* (Benth) J.F.B. & Pastore (B and C), collected in the state of Bahia-Brazil

Com o objetivo de avaliar prováveis interações entre as variáveis ambientais e os atributos do solo com a produção de óleo essencial, realizou-se uma análise univariada - correlação de Pearson. A relação foi analisada entre 23 variáveis, sendo 3 relacionadas a física do solo (3) e 20 com a fertilidade do solo (macro e micronutrientes): argila, areia, silte, CTC_t, Ca, SB, P, pH, V, Mg, K, S, Al, m, H+Al, CTC_T, M.O, Cl, Zn, Cu, Bo, Mn, Fe. Duas variáveis - temperatura e chuva - estão ligadas ao clima e uma – altitude, a geomorfologia do ambiente (Figura 4).

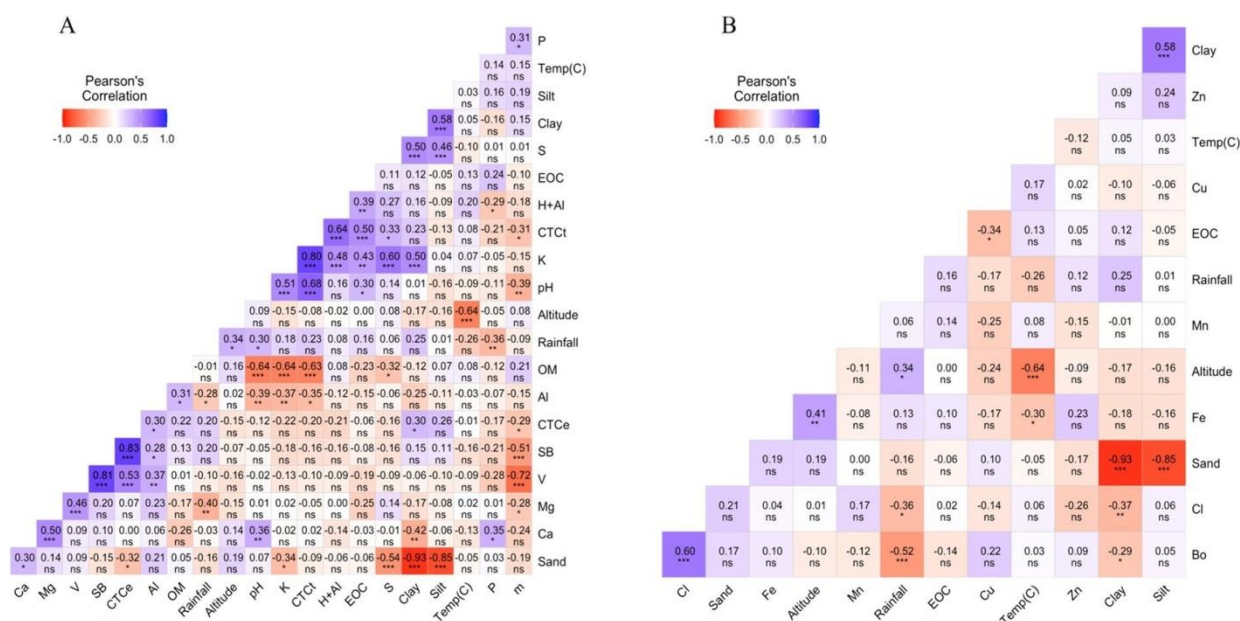


Figure 4 : Estimates of the phenotypic between edaphic variables x oil essential content x macronutrients (A) and edaphic variables x oil essential content x micronutrients (B) for 17 populations of *Medusanthia martius*. The colors of the graphs represent the variation of the value of the correlation coefficient, from red ($r = -1.0$) to green ($r = 1.0$). ns = not significant, *, **, *** = significance at 5%, at 1% and at 0.01%, respectively.

Os dados obtidos mostram que os coeficientes de correlação foram muito baixos (correlação fraca), tanto positivamente quanto negativamente, sugerindo que esses fatores possuem baixa interação com o teor de óleo essencial, no ambiente de coleta e desenvolvimento da espécie. Variáveis que compõem a fertilidade do solo, tanto dos macronutrientes como dos micronutrientes, os coeficientes, em sua maioria, também foram baixos, evidenciando uma correlação fraca a moderadamente fraca, entretanto, observou-se uma relação moderadamente forte entre o teor de óleo e Fe (+ 0,60) e Zn (- 0,59) (Figura 03).

6.0 DISCUSSÃO

Os dados levantados mostram que as populações foram localizadas, em sua maioria, ao longo das rodovias, em locais de atividades agrícolas (pastagens, cultivos), áreas de expansão urbana ou de rodovias. Apresentavam-se com tamanhos e densidades variadas, o que pode ser atribuído a fatores antropogênicos como atividades de manutenção das estradas ou às queimadas que ocorrem nas localidades. Os dezessete sítios de ocorrência natural da espécie identificados nesse estudo estão inseridos em três mesorregiões do estado da Bahia (IBGE 2021) - Centro Norte, Nordeste e Centro Sul do estado da Bahia - Brasil, com 94% delas inserida no bioma Caatinga. Apenas um sítio localizado na cidade de Morro do chapéu (MRC) (6%) encontra-se em uma área de transição (ecótono) de Mata Atlântica (Figura 01C). Contudo, registros de ocorrência da espécie já foram mencionados em outros estados do nordeste (Harley, 2012). A espécie *martiussi* ocorre, portanto, em zonas afastadas do litoral e/ou costeiras e, preferencialmente, em altitudes acima de 300 m.

Pela classificação climática de Koppen-Geiger foi possível identificar a ocorrência da espécie em diversas tipologias climáticas. Os ambientes apresentam desde um ecossistema seco, de elevadas temperaturas (média de 27°C – Figura 1B), baixa nebulosidade; forte insolação, ausência de excedente hídrico promovido pela baixa e irregular distribuição das chuvas (média pluviométrica anual de 480 mm) que é característico de um semiárido quente do tipo (BSh) – como o encontrado no Raso da Catarina (RDC) considerada uma das regiões mais secas do Brasil (RODRIGUES, 1992; CHESF, 2001; CONTI and FURLAN, 2011) -, passando por localidades onde precipitação média anual chega 890 mm, com formação geomorfológica de um ecossistema de clima montanhoso de altitude (Cwa), como em Mucugê (MCG), por exemplo.

A maioria das populações está adaptada, portanto, a ambientes de baixa umidade relativa do ar e índices elevados de evapotranspiração, o que favorecem um balanço hídrico negativo, com predominância de uma vegetação composta por plantas encontradas na Caatinga, com árvores baixas e arbustos profusamente ramificados, frequentemente armados com espinhos ou acúleos, geralmente com folhas pequenas, entremeados com plantas suculentas, geralmente cactos (FERNANDES, 2018). Não obstante, é importante destacar a plasticidade ecológica da espécie, tendo em vista

que a mesma também se estabelece em localidades com índices pluviométrico acima de 900 mm/anuais, elevadas altitudes (+ 1000 m), temperaturas médias anuais de 20°C, em locais como como MCG, ITU, BNN e MDC.

A espécie se desenvolve predominantemente em solos do tipo Latossolo, que segundo Santos et al. (2018) são caracterizados pelo avançado intemperismo, alta condutividade hidráulica (bem drenados), elevada acidez ativa, concentrações de Al elevada e baixa capacidade do complexo de trocas catiônicas. Grande parte das populações está estabelecida em solos de baixa fertilidade, em que os valores de V(%), importante indicador desse parâmetro, encontra-se abaixo de 50%, representando 78% dos locais de ocorrência. Santos et al. (2018) atribuem ao baixo valor de V%, entre outros fatores, a estreita adsorção do Alumínio (mais o H^+) ou, também, a baixa adsorção de cátions na superfície dos colóides do solo. Essa saturação implica ainda, em uma acidez potencial ($H^+ + Al^{+3}$), o que pode indicar uma predileção dessa espécie por solos ácidos, arenosos e com baixa fertilidade, característico de regiões com tipologia climática árida ou semiárida. Um estudo ecogeográfico recente, com a espécie *Eplingiella fruticosa* (Benth) e J.B.F Pastore, uma planta medicinal e da mesma família da *M. martiussi*, também demonstrou que a mesma é comumente encontrada em locais de solos poucos férteis, textura arenosa e presença elevada de alumínio (Oliveira et al., 2019). Trata-se de um ecossistema com o mesmo perfil edáfico do ambiente de crescimento de *M. martiussi*.

Os resultados obtidos evidenciam uma grande variação nos teores de óleo essencial para as populações estudadas. Vários fatores podem influenciar no teor e composição dos óleos essenciais dos vegetais, entre eles, os fatores abióticos, como nutrição, pluviosidade, altitude, temperatura, época e horário de colheita (Paulus et al., 2016). As plantas apresentam alterações relativas de performance em virtude das variações ambientais, conferindo em cada genótipo possibilidades de diferentes respostas (Borém e Miranda, 2020), apesar de a mesma espécie poder apresentar composição diferente em seus óleos essenciais quando cultivadas no mesmo ambiente (Poonam et al., 2021).

A análise de correlação demonstrou interação fraca entre os fatores ambientais – climáticos e edáficos, com o teor de óleo essencial, indicando ser uma resposta complexa e multifatorial. Contudo, uma correlação moderadamente forte e positiva foi

verificada com o micronutriente Ferro e negativa com o Zinco, o que sugere a necessidade de estudos mais aprofundados acerca do fornecimento de formulações com esses micronutrientes em ambiente de cultivo da espécie. Em trabalho com *Ocimum sanctum* L., KANWAL et al. (2016) comprovaram a forte influência da aplicação de Fe e Zn na biossíntese de óleo essencial dessa espécie. Da mesma forma, NAHED (2007), estudando a espécie *S. farinacea* Benth, uma planta medicinal da mesma família (Lamiaceae), verificou resultados semelhantes ao ser submetida ao cultivo com aplicação de zinco. Estudos apontam que a escassez de Fe no solo promove diminuições significativas na atividade fotossintética das plantas, além de comprometer a ativação de enzimas chaves envolvidas no mecanismo de defesa contra estresse oxidativo (HELIN et al., 1995; TRIPATHI, 2018).

7.0 CONCLUSÃO

Medusantha martiussi (Benth) JFB & Pastore tem ocorrência em regiões de clima semiárido, com solos de baixa fertilidade, ácidos e bem drenados. Possui ampla faixa de adaptação térmica, ocorrentes desde regiões montanhosas de relevos elevados até de geomorfologia da baixa altitude e em zonas climáticas com pouca chuva e mal distribuída. O teor de óleo essencial apresentou variação nas localidades pesquisadas, com média de 2,07 % em relação ao peso seco de folhas e flores, e mostrou uma interação moderadamente forte e positiva com a concentração de Fe no solo e negativa com o Zn.

8.0 REFERÊNCIAS

AGRA, MARIA DE FÁTIMA et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.

ALVARES, C.A., STAPE, J.L., SENTELHAS, P.C., GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil Meteorologische Zeitschrift, DOI: <http://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.

ARAÚJO, EDIGÊNIA CC et al. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 13, p. 3760-3762, 2003.

ASHRAF, M.A., IQBAL, M., RASHEED, R., HUSSAIN, I., RIAZ, M., ARIF, M.S., 2018. Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants: An Overview. **Plant Metabolites and Regulation under Environmental Stress**. pp. 153–167.

BFG - The Brazil Flora Group (2018) Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia** 69: 1513-1527.

CAROVIC-STANKO, KLAUDIJA et al. Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods—a review. **Czech journal of food sciences**, v. 34, n. 5, p. 377-390, 2016.

CONTI, JOSÉ BUENO; FURLAN, SUELI ÂNGELO. Geoecologia: o clima, os solos e a biota. **Geografia do Brasil**, 1996.

COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 304-309, 2005;

COUTINHO, HENRIQUE DM et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 670-675, 2008.

DA CRUZ ARAÚJO, EDIGÊNIA CAVALCANTE et al. Cytotoxic abietane diterpenes from *Hyptis martiusii* Benth. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 61, n. 3-4, p. 177-183, 2006.

DE MORAIS, LILIA APARECIDA SALGADO. **Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais**. (2009);

DE OLIVEIRA, EDVAN ASSIS et al. Estudos ecogeográficos de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth. Harley & JFB Pastore): Uma espécie medicinal do semiárido do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e37610413963-e37610413963, 2021;

FERNANDES, MOABE FERREIRA; QUEIROZ, LUCIANO PAGANUCCI de. Vegetação e flora da Caatinga. **Cienc. Cult. São Paulo**, v. 70, n. 4, p. 51-56, Oct.2018.

from<http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-66602018000400014> access on 07 Aug. 2022. <http://dx.doi.org/10.21800/2317-66602018000400014>;

FRANCISCO, PAULO ROBERTO MEGNA; CHAVES, IÊDE DE BRITO; CHAVES, LÚCIA HELENA GARÓFALO. **Bioma caatinga e degradação: modelo de mapeamento**. 2020;

FOGAÇA, THIAGO KICH; GOULART, ADRIANO ÁVILA. **Introdução à climatologia: Conceitos, pesquisas e ensino**. Curitiba: Intersaberes, 2018;

HARLEY RM, & PASTORE JFB (2012) A generic revision and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. **Phytotaxa** 58:1-55.

HARLEY RM, ATKINS S, BUDANTSEV AL, CANTINO PD, CONN BJ, GRAYER R, HARLEY MM, KOK R K, KRESTOVSKAJA T, MORALES R, PATON AJ, RYDING O & UPSON T (2004) Labiatae. In: Kadereit JW (ed.). **The families and genera of vascular plants** (Kubitzki, K.: Ed. Vol. 7. Springer, Berlin, Heidelberg. Pp. 167-275.

HASANUZZAMAN, M., NAHAR, K., ANEE, T.I., FUJITA, M., 2017. Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. **Physiol. Mol. Biol.Plants** 23 (2), 249–268.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – **Semiárido Brasileiro**, 2022.Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/estrutura-territorial/15974-semiarido-brasileiro.html?=&t=sobre>. Acessado em 02.04.2024.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <https://censos.ibge.gov.br/2013-agencia-denoticias/releases/28943-ibge-retrocobertura-natural-dos-biomas-do-pais-de-2000-a-2018.html>. Acesso em 22.01.23.

KANWAL, NAZISH et al. Effect of micronutrients on vegetative growth and essential oil contents of *Ocimum sanctum*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 19, n. 4, p. 980-988, 2016.

KARPINSKI, T. M. Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. **Biomolecules** 10, 103. 2020.

Li, K.H., HUANG, W., WANG, G.L., WU, Z.J., ZHUANG, J., 2016b. Expression profile analysis of ascorbic acid-related genes in response to temperature stress in the tea plant, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. **Genet. Mol. Res.** 15, 1–10.

LI, YANQUN et al. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 148, p. 80-89, 2020.

MAXTED, N.; PAINTING, K.; GUARINO, L. Ecogeographic surveys: training materials. **International Plant Genetic Resources Institute**, 1997.

Medusantha martiussi in Ficha de Espécie do Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBR). Disponível em:

https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/medusantha_martiussi

Acesso em 22.01.2023.

MENDES, ARETUSA DANIELA RESENDE et al. Ecogeografia de populações de erva-baleeira (*Varronia curassavica*) no Norte e Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 45, p. 418-424, 2015.

MEIRA, MESSULAN RODRIGUES; MARTINS, ERNANE RONIE; RESENDE, LUCIANE VILELA. Ecogeografia de *Lippia rotundifolia* Cham. (Verbenaceae) em Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v. 47, n. 8, 2017;

MORAIS, LF, CAVALCANTE, ACR, AQUINO, Dd et al. Respostas espectrais em pastagens e mudança de cobertura da terra pela pecuária em regiões do bioma **Caatinga**, Brasil. **Sci Rep** 11, 18261 (2021).
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-97784-5>;

NAHED, G. A.; BALBAA, L. K. Influence of tyrosine and zinc on growth, flowering and chemical constituents of *Salvia farinacea* plants. 2007.

OLIVEIRA, C. B. S. de; AMANDA VIEIRA DE BARROS; BENA KARISA CAMPOS DE MELO; THAISA NAYARA BEZERRA GOIS DA COSTA; DANIEL MELO DE OLIVEIRA CAMPOS; JONAS IVAN NOBRE OLIVEIRA. As riquezas da caatinga e seu potencial farmacológico: uma revisão sistemática. **South American Journal of Basic Education**, Technical and Technological, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 771–791, 2021.

PARRA-QUIJANO, M.; IRIONDO, J. M.; TORRES, E. Applications of ecogeography and geographic information systems in conservation and

utilization of plant genetic resources. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 2, p. 419-429, 2012.

PINHEIRO, FM & NAIR, PKR **Silvipasto no bioma Caatinga do Brasil: Uma revisão de sua ecologia, manejo e oportunidades de desenvolvimento**. Por. Sistema 27 (1), 1–16. <https://doi.org/10.5424/fs/2018271-12267> (2019);

RODRIGUES, VALDEMAR et al. Avaliação do quadro da desertificação no Nordeste do Brasil: diagnóstico e perspectivas. In: **Conferência Internacional sobre Impactos de Variações Climáticas e desenvolvimento Sustentável em Regiões Semiáridas. Proceedings...** Fortaleza, Brasil. 1992. p. 2375-2408.;

RADULOVIIC, NS; BLAGOJEVIC, PD; Stojanovic-Radic, ZZ; Stojanowic, NM Metabólitos de plantas antimicrobianas: Diversidade estrutural e mecanismo de ação atual **Med. Química**2013,20, 932-952;

RAMASUBRAMANIA RAJA, R. Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: An overview. **Res. J. Med. Plant**. 2012, 6, 203–213.

RONQUIM, Carlos C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**.2010;

SANTOS, MARIA O. et al. Plantas Medicinais: versatilidade e concordância de uso na área de caatinga, Nordeste do Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** [online]. 2018, v. 90, n. 03 [Acessado em 7 de agosto de 2022], pp. 2767-2779. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170594>>. Epub 19 de julho de 2018. ISSN 1678-2690. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170594>;

SANTOS, HUMBERTO GONÇALVES dos et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Embrapa Solos: Available: <https://www.Embrapa.br/solos/sibcs> Accessed: April, v. 9, p. 2018, 2018;

TAIZ, LINCOLN et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017;

TRIPATHI, DURGESH K. et al. Acquisition and homeostasis of iron in higher plants and their probable role in abiotic stress tolerance. **Frontiers in Environmental Science**, v. 5, p. 86, 2018;

VAINSTEIN, A.; LEWINSOHN, E.; Pichersky, E.; Weiss, D. Fragrância floral. Novas incursões em uma velha mercadoria. **Plant Physiol.** 2001, 127 , 1383-1389;

VERMA, N., SHUKLA, S., 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. J. Appl. **Res. Med. Aromat. Plants** 2 (4), 105–113.

CAPÍTULO II

IMAGEM MULTIESPECTRAL E ANÁLISE MULTIVARIADA NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE *Medusantha martiussi* (EX BENTH) HARLEY & J.F.B. PASTORE

Edvan Assis Oliveira ¹, Clíssia Barboza Mastrangelo ², Lenaldo Muniz Oliveira ³,
Maurício Santana Lordêlo ⁴

¹PhD student in Plant Genetic Resources, State University of Feira de Santana, e-mail: eo4001@gmail.com ;

² Laboratory of Radiobiology and Environment, Center for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil, e-mail: clissia@usp.br;

³ Department of Biological Sciences, State University of Feira de Santana, e-mail: lenaldo.uefs@gmail.com ;

⁴ Department of Exact Sciences, State University of Feira de Santana, e-mail: mslordelo@uefs.br.

SUMMARY

The importance of medicinal plants for the production of bioactives with multiple uses in health and agriculture is widely recognized. The Lamiaceae family is noteworthy for its ability to produce essential oil. The species *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore stands out as a plant endemic to Brazil, found mainly in the Caatinga Biome in the country's northeastern region. However, little is known about its best form of propagation. Our objective was to evaluate and characterize seeds from 11 populations of this species through the use of X-ray and multispectral imaging techniques. The results indicated that seeds of this species collected from different populations presented heterogeneity, both in physical and chemical aspects, with important differences in size and textural attributes, in addition to indicators of physiological quality, maturation, vigor and viability.

Keywords: Medicinal Plants; Bioactive; Seeds; Spectroscopy

CAPÍTULO II

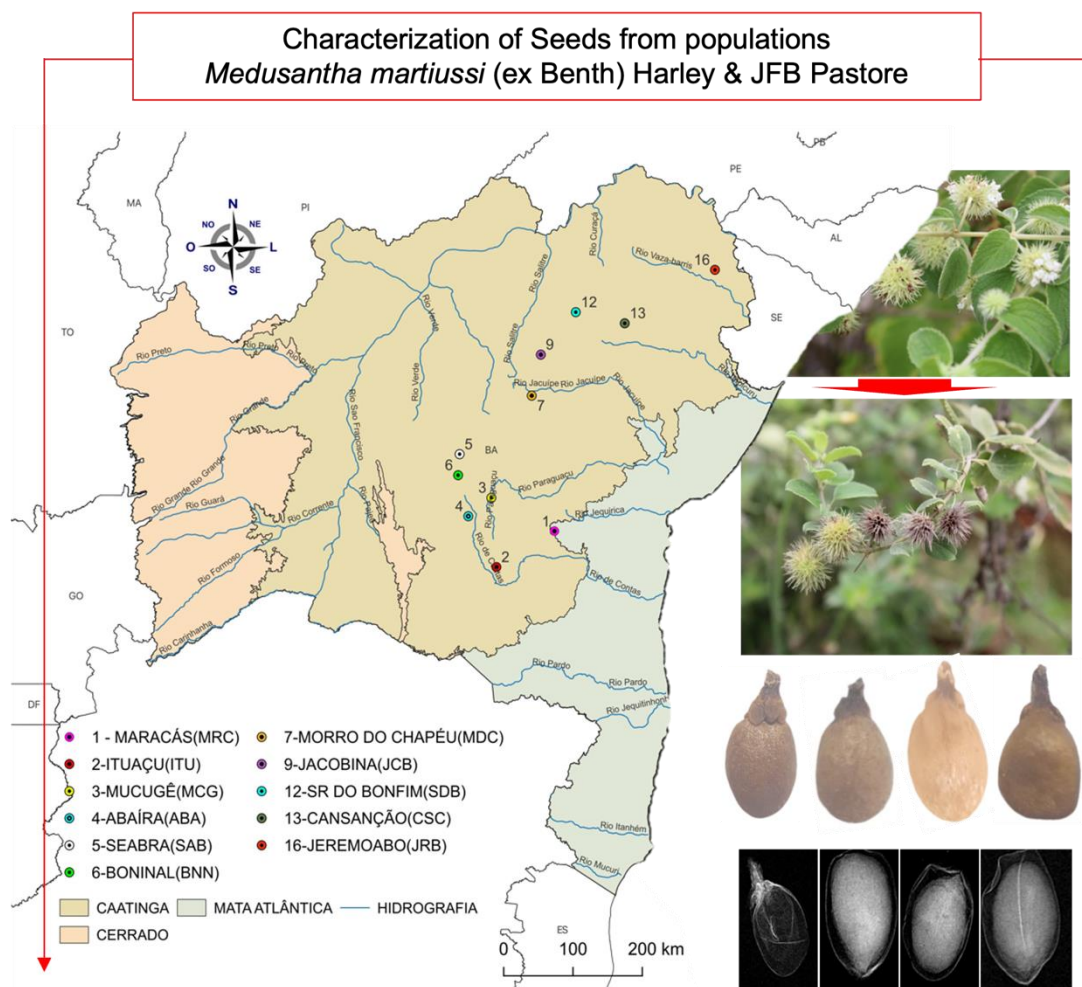
IMAGEM MULTIESPECTRAL E ANÁLISE MULTIVARIADA NA CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE *Medusantha martiussi* (EX BENTH) HARLEY & J.F.B. PASTORE

1.0 RESUMO

E amplamente reconhecida a importância das plantas medicinais na produção de bioativos com múltiplos usos, na saúde e na agricultura. Família das Lamiaceae é bastante reconhecida no campo da pesquisa pela sua aptidão na produção de óleo essencial. Destaca-se a espécie *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore, planta endêmica do Brasil e de ocorrência no Bioma Caatinga no nordeste do brasileiro, porém, existe pouco conhecimento sobre sua melhor forma de propagação, bem como sobre a estrutura de suas sementes, que possam subsidiar programas de conservação do germoplasma semente da espécie. O objetivo desta pesquisa foi avaliar e caracterizar sementes de 11 populações dessa espécie através do uso de Raio X e da técnica de imagem multiespectral. O estudo indicou que sementes dessa espécie coletadas nas diferentes populações apresentaram heterogeneidade, tanto nos aspectos físicos quanto químicos, com identificação de importantes diferenças nos atributos de tamanho e textura, além de indicadores de qualidade fisiológica, de maturação, vigor e viabilidade.

Palavras chaves: Plantas Medicinais; Bioativo; Sementes; Espectroscopia

2.0 GRAPHIC ABSTRACT



3.0 INTRODUÇÃO

O Brasil abriga uma megadiversidade, abrangendo diversos biomas, sendo a Caatinga o menos estudado. Ela abrange 11% do território nacional, ocupando uma área de 844.453 Km². A vegetação é caracterizada por possuir poucas folhas e adaptadas a períodos secos e, ao contrário do que muitos pensam, possui grande biodiversidade (Brasil, 2023). É um bioma que abriga cerca de 4.900 espécies, sendo que apenas 17% são conhecidos o estado de conservação e 30% encontram-se sob alguma categoria de ameaça de extinção (Flora de Brasil, 2021). Estima-se que aproximadamente 36% da caatinga já sofreu alguma alteração antrópica (Flora do Brasil, 2021).

Entre as várias famílias botânicas que compõem a caatinga encontra-se a Lamiaceae, que abrange 240 gêneros e aproximadamente 7200 espécies, sendo que desse total, 46 gêneros e 524 espécies ocorrem no Brasil. O domínio fitogeográfico da caatinga é uma Floresta Tropical Sazonalmente Seca (SDTF) e tem o maior número de espécies de Lamiaceae, que é constantemente citada no meio científico e em levantamentos etnobotânicos, pela importância medicinal e aromática dos seus bioativos, com propriedades economicamente importantes para as indústrias farmacêuticas, de cosméticos e de alimentos (Soares A.S., 2017).

Dessa família, destaca-se a *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F. Pastore, um arbusto ramificado com altura variando entre 1,6 m a 2,5 m e floração branca, em forma de capítulos e que popularmente é conhecida como erva cidreira do mato, erva cidreira brava ou alfazema de caboclo. Tem amplo uso na medicina tradicional nordestina na forma de chá para o tratamento de doenças estomacais e intestinais além de inflamações de ovário (Agra et al., 2008). Compostos constituintes em suas raízes possuem atividades antitumoral (Costa-Lotufo et al., 2004), citotóxica (Araújo et al., 2006), além de antimicrobiana (Coutinho et al., 2008). As folhas são bastante aromáticas, por conterem óleos essenciais, constituídos principalmente por 1,8 cineol (24,3%), Careno (22,2 %) e biciclogermacreno (6,3%)(Araújo et. al., 2003), o que torna a espécie muito promissora como fonte de matéria prima de amplos usos e aplicações.

Devido a sua forma de exploração extrativista e ao aumento das atividades antrópicas como queimadas, avanço nas áreas de cultivo e mudanças climáticas, nos ambientes de ocorrência natural, têm elevado os riscos de erosão genética na espécie. Nesse contexto, tornam-se importantes estudos de caracterização desse

germoplasma, com ênfase nas sementes, pois, podem subsidiar ações de coleta e conservação, além de fomentar melhores práticas de uso e subsidiar programas de melhoramento.

Atualmente, os testes de qualidade de sementes ainda dependem de inspeções visuais ou químicos que geralmente são dispendiosas e demoradas, além de subjetivas (Boelt, Birtt et. al., 2018). Recentemente, a técnica de imagem multiespectral tem sido proposta na análise de sementes, por ser um método rápido, preciso, não destrutivo e que considera as especificidades de cada espécie. Gera um grande número de dados e informações que também podem ser empregados como ferramenta complementar às metodologias convencionais.

O princípio da técnica da imagem multiespectral se baseia na refletância/absorbância da energia luminosa das amostras. A forma como um feixe de luz interage com um material depende de suas características espectrais e do comprimento de onda incidente. As estruturas teciduais, como a cor e componentes químicos, conferem especificidade do material alvo. Essas interações ocorrem principalmente devido à ligações CH, OH, SH e NH presentes nos compostos orgânicos (XIA, Yu et al., 2018), o que torna possível a detecção e quantificação de materiais biológicos e orgânicos, como proteínas, carboidratos, álcoois e/ou lipídios e água (Agelet, L.E.; Hurburgh C.R., 2014).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi caracterizar de aspectos físico-químicos associados à qualidade de sementes de *Medusantha martiussi*, que possam contribuir com estratégias de conservação e no uso do germoplasma semente da espécie.

4.0 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das sementes

A coleta do material vegetal foi realizada entre os meses de Setembro e Dezembro de 2021 em 11 localidades de ocorrência natural da espécie, situadas nos municípios de Maracas(MRC), Ituaçu(ITU), Mucugê(MCG), Abaíra(ABA), Seabra(SAB), Boninal(BNN), Morro do Chapéu(MDC), Jacobina(JCB), Senhor do Bonfim(SDB), Cansanção(CSC) e Jeremoabo(JRB), com coordenadas geográficas variando de 09°47'49" a 13°15'45" de latitude e 39°32'06" a 41°47'43" de longitude, no estado da Bahia, Brasil (Figura 01). O clima da região se caracteriza como semiárido quente, tipo BSh, com poucas chuvas - de 250 mm a 750 mm por ano - concentradas em um

período de 3 a 4 meses do ano, temperaturas médias anuais de 27 °C, baixa umidade relativa do ar (Koppen-Geiger), no bioma Caatinga, com predomínio do solo tipo Neossolo quartzênico (Santos et al, 2018).

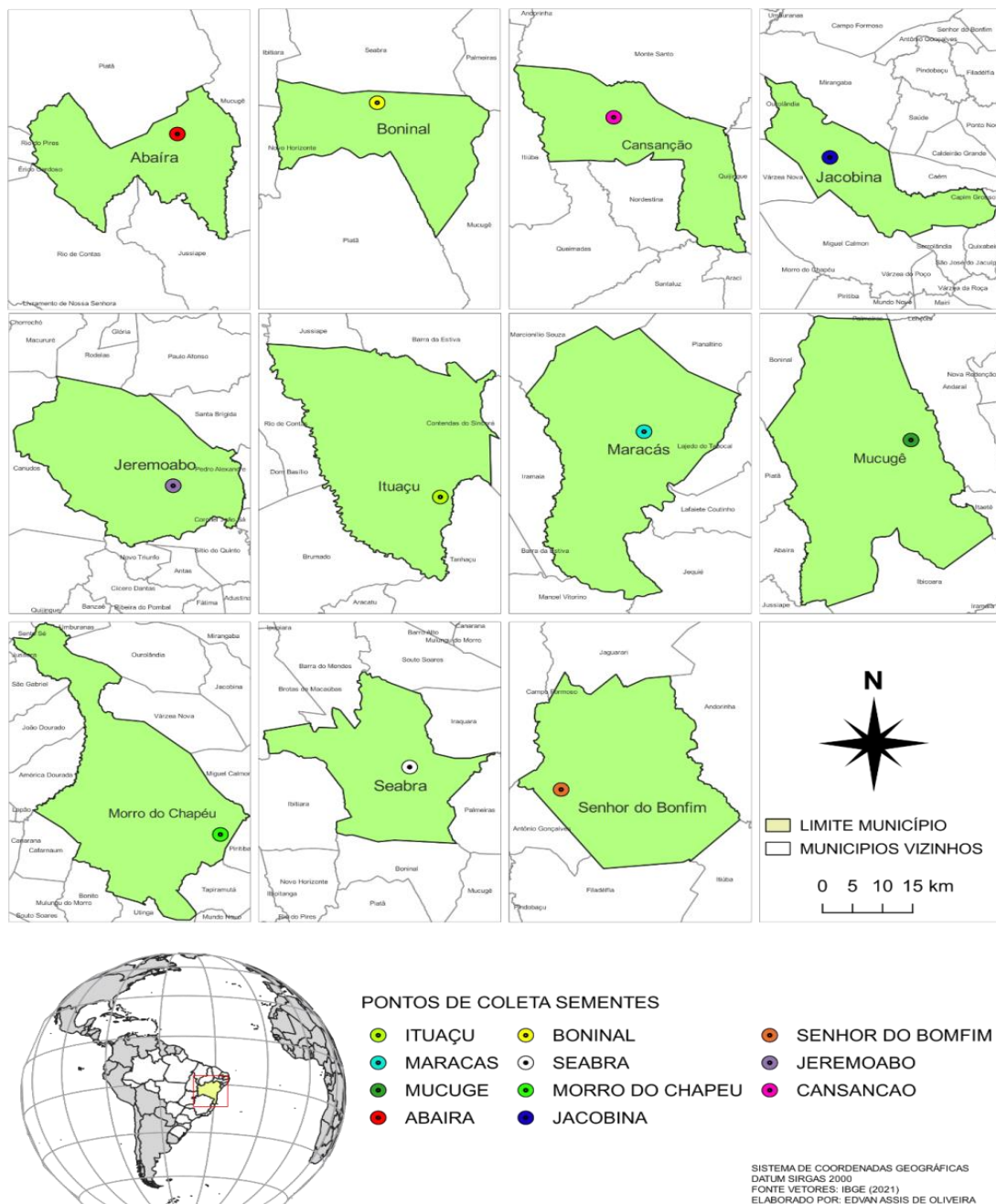


Figura 1. Descrição geográfica dos locais de coleta de semente de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore, destacando as 11 localidades de coleta das sementes no estado da Bahia, Brasil.

As 11 populações de sementes coletadas com o estágio de maturação visualmente secas e, em seguida, foram rotuladas como MRC, ITU, MCG, ABA, SAB, BNN, MDC, JCB, SDB, CSC e JRB e beneficiadas manualmente (remoção de restos de sépalas, bractéolas, filamentos, glóbulos capitulares, folhas, palhas e galhos).

4.2 Análise de imagens multiespectrais

Foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes, totalizando 80 sementes de cada população. O equipamento VideometerLab4™ (Videometer A/S, Herlev, Dinamarca) foi utilizado para captura de 19 imagens multiespectrais de reflectância, além de seis imagens de autofluorescência de alta resolução (2.192 x 2.192 pixels; (40 µm/pixel). Este sistema é constituído por diodos emissores de luz (LEDs) na região do ultravioleta A (UVA), visível (Vis) e infravermelho próximo (NIR). Previamente à captura das imagens, o equipamento foi calibrado em relação à geometria, cor e iluminação, resultando em uma melhor relação sinal-ruído. O sistema foi calibrado utilizando três alvos de calibração: (i) disco uniforme branco, (ii) disco uniforme escuro, e (iii) disco geométrico. A configuração da luz foi calibrada usando uma amostra representativa e utilizada para todas as imagens subsequentes.

Para captura das imagens, as sementes foram afixadas em folha de acetato (5,0 cm x 8,5 cm) com auxílio de fita adesiva dupla face. Foram capturadas imagens multiespectrais de reflectância nos comprimentos de onda de 365nm, 405nm, 430nm, 450nm, 470nm, 490nm, 515nm, 540nm, 570nm, 590nm, 630nm, 645nm, 660nm, 690nm, 780nm, 850nm, 880nm, 940nm e 970nm e imagens de autofluorescência nas combinações de excitação/emissão de 365/400nm, 365/500nm, 405/600nm, 630/700nm, 645/700nm e 660/700nm. Em seguida, foi utilizado o *software* Videometer Lab 3.12.19 para extração de dados de área, comprimento, largura, cor, textura, reflectância e autofluorescência.

Inicialmente, cada semente foi identificada como uma região de interesse (ROI), e os dados foram extraídos utilizando a ferramenta *Binary Large Object* (BLOB) do VideometerLab4™, que permite a análise das sementes individualmente. Foi construída uma máscara para segmentar as sementes, e evitar influência dos dados do fundo da imagem, ou seja, foi atribuído o valor de zero para os pixels do fundo da imagem. Por fim, as imagens multiespectrais foram transformadas usando um algoritmo de discriminação canônica normalizada (nCDA), que utiliza média aparada

de 10%, eliminando a influência de *outliers* (ou seja, os 10% dos valores mais baixos e os 10% dos valores mais altos) (Barboza da Silva et al., 2021).

Foi utilizado o sistema CIELAB desenvolvido pela *Comission Internationale de E'clairage* (CIE, Viena, Áustria) para geração de dados numéricos sobre a cor das sementes. O CIELAB se baseia nas três propriedades básicas de cores, ou seja, a matiz, a saturação e a luminosidade, dispostas dentro de uma esfera teórica e tridimensional, que apresenta todas as cores possíveis (Sappi, 2013). Este sistema utiliza três variáveis (L^* , a^* e b^*) para a definição precisa de uma cor específica a partir da triangulação das mesmas, como coordenadas cartesianas. As equações que definem este sistema estão listadas a seguir (Fairchild, M.D., 2013):

$$(I) \quad L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - 16$$

$$(II) \quad a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} \right]$$

$$(III) \quad b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_n} \right)^{\frac{1}{3}} \right]$$

Em que: L^* é a luminosidade, variando entre 0 (preto) e 100 (branco difuso), e se refere a capacidade do objeto em refletir ou transmitir luz. Assim, quanto maior o valor de L^* , mais claro é o objeto; os parâmetros a^* e b^* referem-se a cromaticidade, na qual a^* está relacionada à contribuição das cores verde (-) e vermelho (+) e b^* a magnitude dos matizes de cores azul (-) e amarelo (+); X , Y e Z são os valores das propriedades básicas da matiz, saturação e luminosidade; X_n , Y_n e Z_n são os valores destas propriedades para o branco.

A textura das sementes foi analisada a partir da matrix de tamanho de corrida de nível de cinza (GRLM, *Gray Level Run Length Matrix*), utilizando modelos matemáticos descrito por Galloway (1975). A corrida é o número de pixels consecutivos que apresentam o mesmo valor de nível de cinza (Galloway, 1975; Agwu e Ohagwu, 2016). Corridas longas indicam texturas grossas e, as curtas, texturas mais finas (Agwu e Ohagwu, 2016). A partir do modelo de GRLM, cinco descritores de textura foram calculados: (1) short run emphasis (SRE), que mede a distribuição de corridas curtas,; (2) long run emphasis (LRE), que mede a distribuição de corridas longas, (3) run percentage (RP), que mede a razão entre o número de corridas e o

número máximo de corridas em uma direção específica; (4) gray level nonuniformity (GLN), que avalia a distribuição das corridas entre os níveis de cinza e (5) run length non uniformity (RLN), que mede a proximidade dos tamanhos das corridas na imagem. Abaixo seguem as equações para os descritores de textura:

$$SRE = \frac{1}{n_r} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \frac{p(i,j)}{j^2}$$

$$LRE = \frac{1}{n_r} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N j^2 p(i,j)$$

$$RP = n_r/n_p$$

$$GLN = \frac{1}{n_r} \sum_{i=1}^M \left(\sum_{j=1}^N p(i,j) \right)^2$$

$$RLN = \frac{1}{n_r} \sum_{i=1}^N \left(\sum_{j=1}^M p(i,j) \right)^2$$

Em que: $\overline{p(i,j)}$ é o número de corridas dos pixels de nível de cinza i e tamanho de corrida j ; M é o número de níveis de cinza da imagem; N é o número de diferentes tamanhos de corrida no *dataset* da imagem; n_r é o número total de corridas na imagem; e n_p é o número total de pixels na imagem.

4.3 Análise de imagens radiográficas

Quatro repetições de 25 sementes de cada população foram posicionadas sobre placa de acrílico. As imagens de raios X foram obtidas no equipamento Multifocus (Faxitron Bioptics LLC, Tucson, AZ, USA), com controle automático do tempo de exposição da amostra e das configurações de kV. Para posicionamento adequado da amostra, o MultiFocus possui um laser centralizador com uma câmera óptica integrada. A captura das imagens foi feita a partir da produção de um feixe de raios X que é transmitido através da amostra, de forma que distintas quantidades de radiação incidente são absorvidas pelas sementes, dependendo de sua densidade. A

classificação das sementes foi realizada de acordo com sua integridade física interna:

- a) sementes cheias: aquelas com áreas vitais (tecidos essenciais) normalmente estruturadas;
- b) sementes malformadas e,
- c) sementes vazias.

4.4 Análise estatística

Para verificar a existência de diferenças significativas entre as populações de sementes, por meio da comparação das médias avaliadas individualmente, foi realizada a análise de variância, cujos pressupostos básicos do modelo foram avaliados utilizando gráficos dos resíduos (ordinários e padronizados) em função de valores ajustados e de alavancagem, além dos resíduos studentizados em função dos quantis teóricos da distribuição normal. Quando a análise de variância indicou diferenças significativas, o teste de Skott Knott foi utilizado para as comparações múltiplas das médias das populações, considerando, em ambos os casos, um nível de significância de 5% .A avaliação conjunta das medidas foi realizada através da Análise Fatorial Múltipla, que é um método de análise multivariada indicado para resumir e visualizar dados na qual os indivíduos são descritos por vários conjuntos de variáveis estruturadas em grupos (populações).O estudo estatístico foi realizada com o apoio do software R e uso de pacotes FactoMineR e FactoMineR (Lê S. et al., 2008).

5.0 RESULTADOS

A técnica de raio X possibilitou identificar as sementes cheias e vazias (Figura 2A). Cinco lotes - 45% (MCG, ABA, BNN, SDBP e JRBP) continham classes de sementes cheias (Figura 2A) enquanto os seis lotes restantes - 65% (MRC, ITU, SAB, MDC, JCB e CSC), estavam as sementes vazias e, por isso, foram excluídas do estudo. Para análise multiespectral (reflectância e autofluorescência), foram consideradas apenas as amostras que continham sementes cheias.

O lote JRB foi o que apresentou o maior percentual de sementes cheias (35%), enquanto SDB o menor (17%). O comprimento e a largura indicaram heterogeneidade nos lotes. A área variou de 0,7406 mm² a 1,9574 mm². As maiores sementes foram registradas nas populações coletadas em ABA e JRB, enquanto as menores em MCG e SDB (Figura 2B). As sementes vazias ou chochas apresentaram os menores valores de área (Figura 2C).

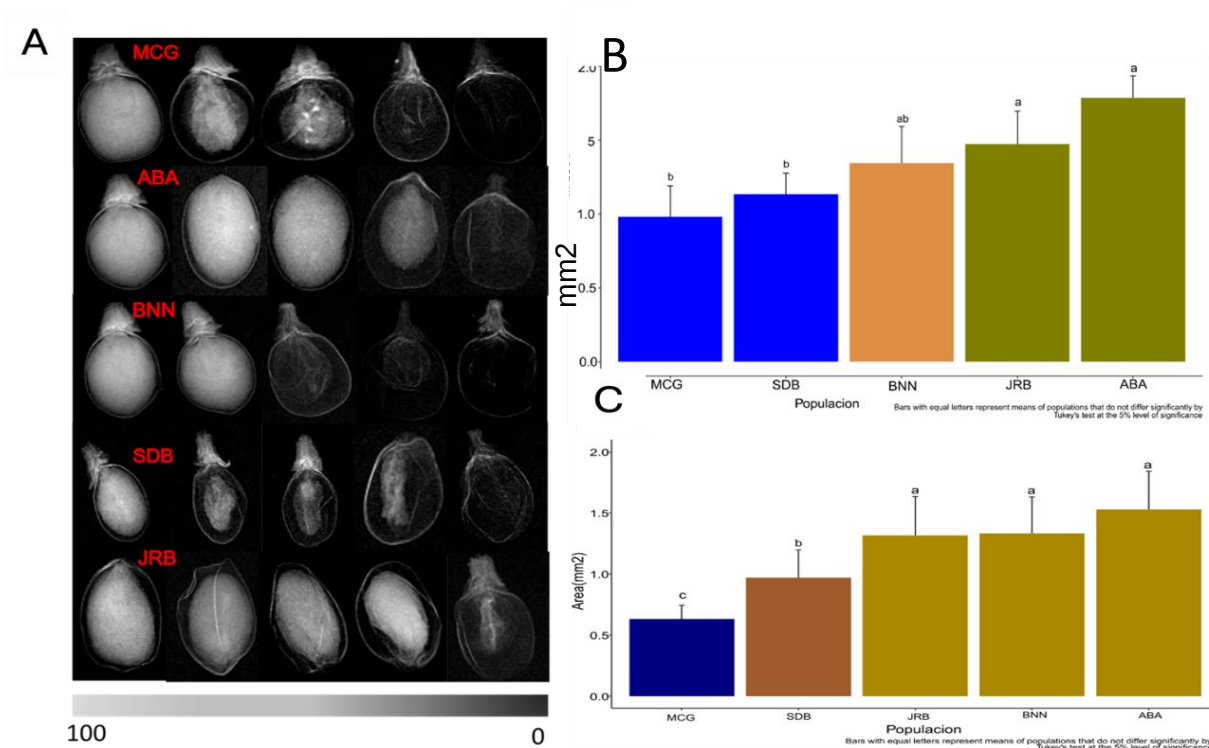


Figura 2.A - Raio X de sementes; B - Área das semente cheias e C- Área das sementes vazias de lotes de sementes em cinco populações (MCG, SDB, JRB, BNN e ABA) de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.P Pastore coletadas no estado da Bahia. Médias ($\pm$ DP) seguidas por mesma letra não diferem entre si ($P > 0,05$).

Em geral as sementes apresentaram baixa luminosidade (L^*). O descritor L^* e b^* não diferenciaram os lotes (Figura 3A e 3C). O parâmetro a^* positivo (+), que representa baixa intensidade de cor verde e predominância da cor vermelha (Figura 3B), mostrou diferenças significativas entre os lotes analisados e destacou BNN com o maior valor (8,89), enquanto JRB o menor valor (7,14). Esses valores indicam que as sementes coletadas em JRB apresentaram coloração um pouco mais escura, enquanto as coletadas em BNN apresentaram sementes com tegumentos mais claros e esverdeados.

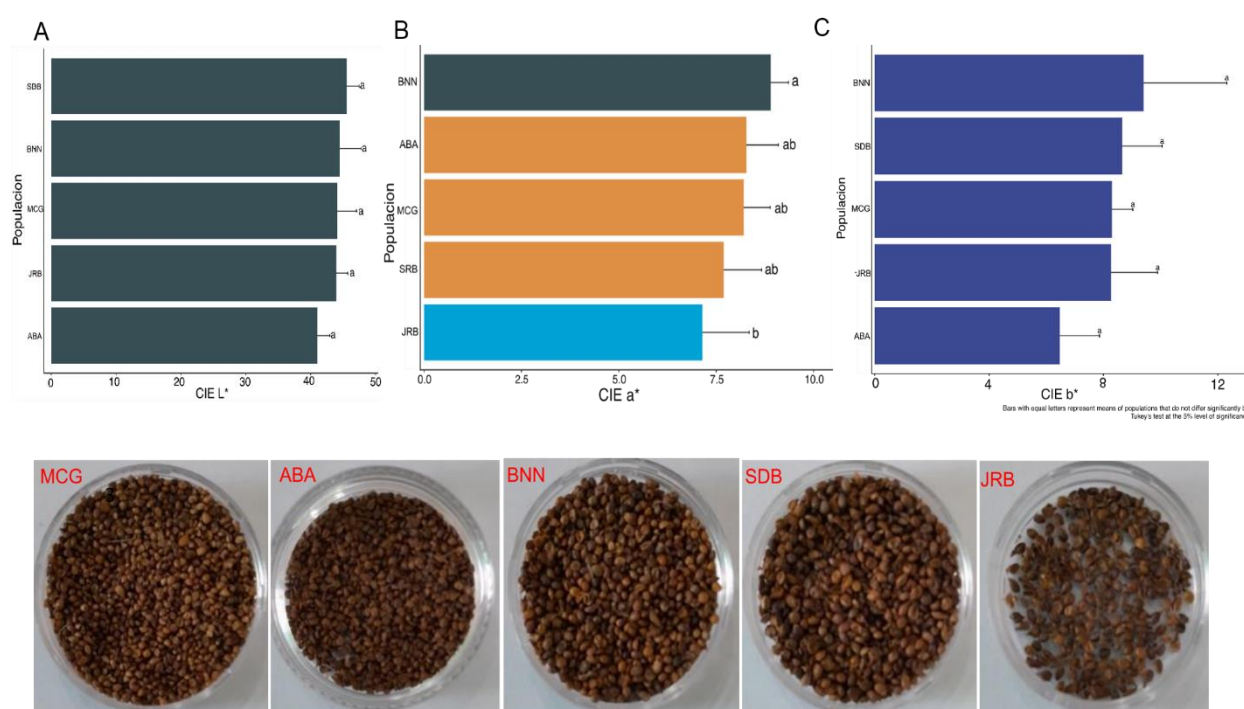


Figura 3. Descritores de cor em cinco lotes de sementes no espaço de cor CIE L^* a^* b^* de diferentes populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.Pastore, coletadas em diferentes regiões do estado da Bahia, Brasil

Os parâmetros de SER, LRE e RP não apresentaram diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). Já o GLN (*Gray Level Nonuniformity*) variou de 215,25 a 458,83 com diferença estatística entre os lotes ($p < 0,05$), com o lote coletado em ABA apresentando o maior valor e MCG o menor (Figura 4).

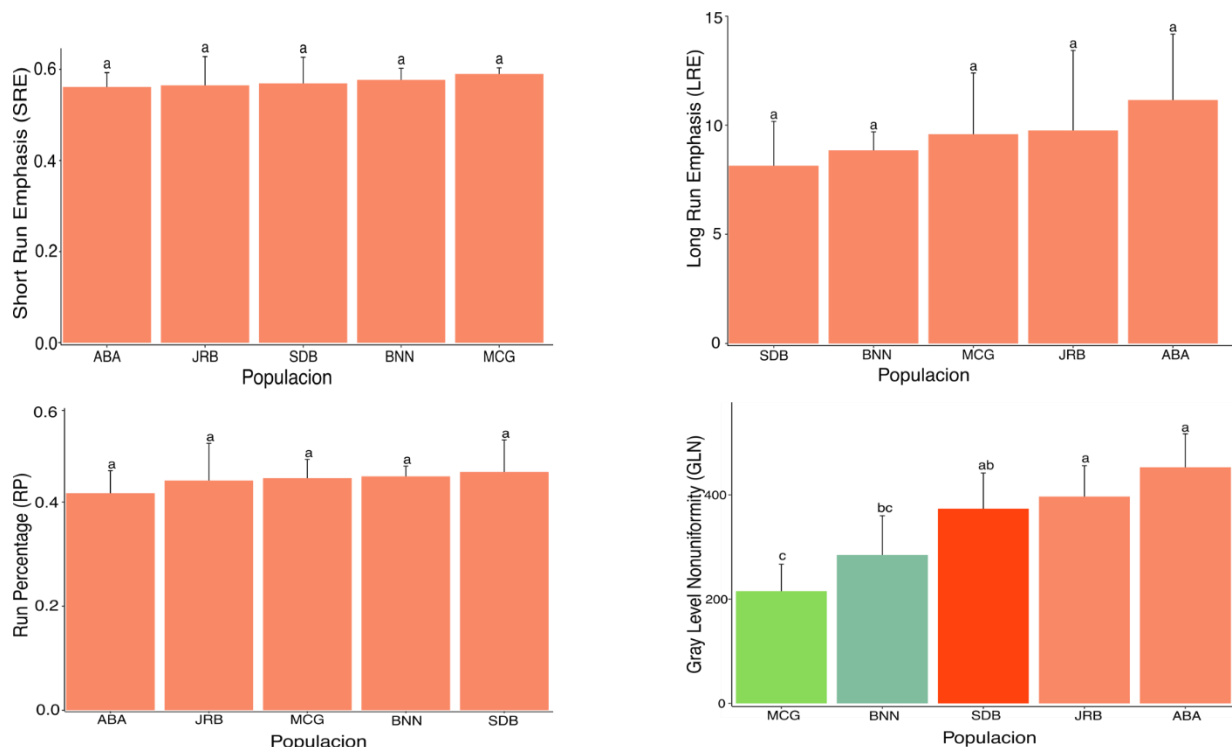


Figura 4: Descritores de textura obtidos por imagens multiespectrais em cinco lotes de sementes de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Halley & J.F. Pastore coletados no estado da Bahia, Brasil.

Ainda que não apresentassem diferenças significativas, foi possível observar que numericamente as sementes do lote ABA foram as que apresentaram o menor valor da variável ênfase em corridas curtas ($\downarrow$ SRE), maior valor numérico de ($\uparrow$ LRE) e percentual de corridas ($\downarrow$ RP), além dos maiores valores no parâmetro não uniformidade no nível de cinza ($\uparrow$ GLN), indicando um tegumento ser mais poroso e ásperos.

A reflectância evidenciou a existência de um padrão espectral semelhante nas 19 zonas de interesse (Figura 5A). Os percentuais variaram de 12,50 (365nm - JRB) a 66,91(970 nm - SDB). De um modo geral, houve baixa intensidade de reflectância ($< 20\%$) que podem estar relacionados a vários atributo de natureza física, química e biológica da semente. Nas regiões do ultravioleta (365nm) e do visível (405 nm - 540 nm) não houve discrepâncias entre as amostras. No entanto, nos espectros em

comprimentos de ondas maiores (a partir de 570 nm), foi possível observar uma clara diferenciação (Figura 5A).

A PCA destacou a componente 1, explicando 81,7 % da variação dos dados e a CP2 com 14,3% (Figura 5C). As maiores contribuições foram observadas nos comprimentos de 470nm, 880nm, 450nm, 850nm, 780nm, 645nm, 490nm, 630nm, 660nm e 515nm.

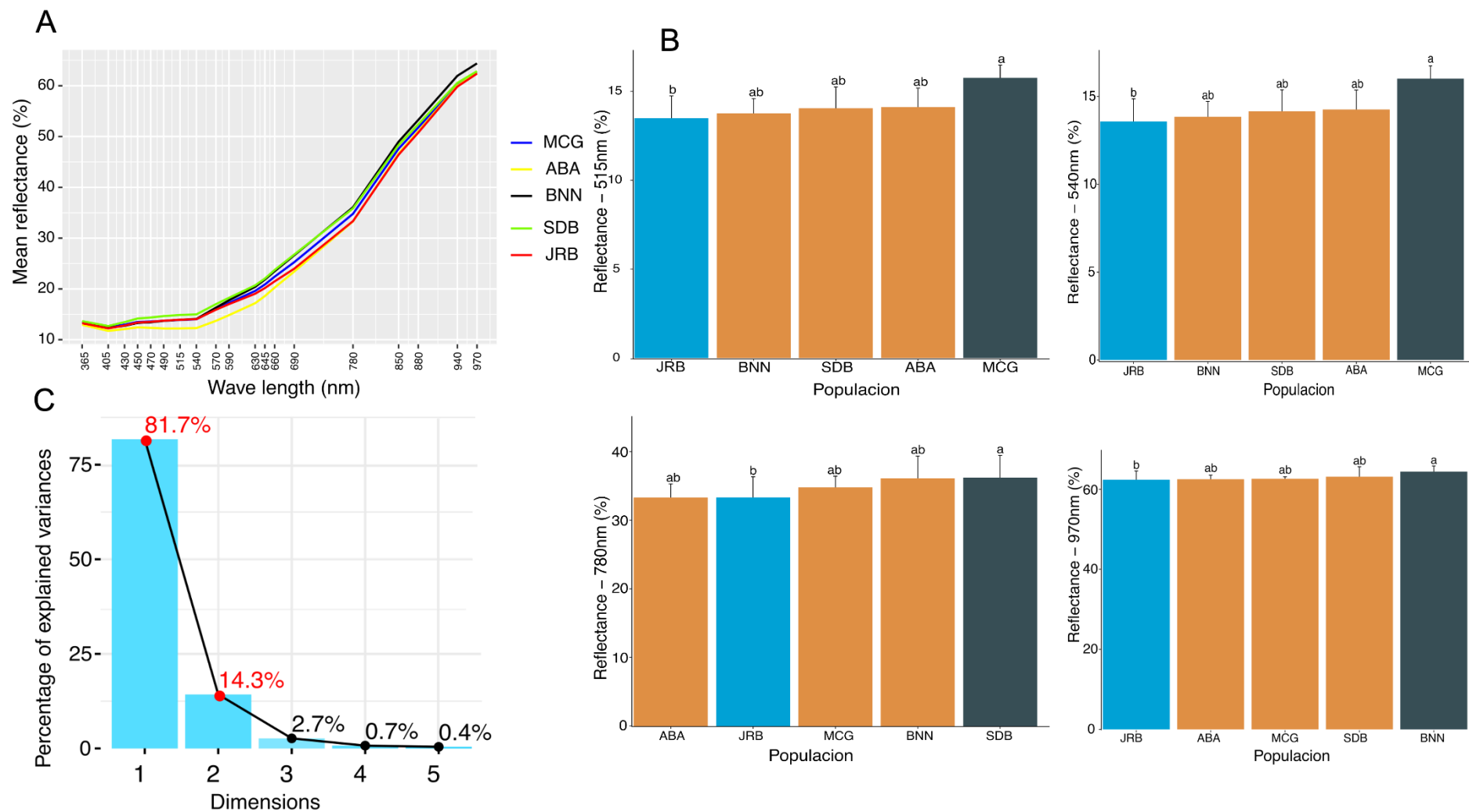


Figura 5: (A) Assinatura espectral dos dados de reflectância em 19 comprimentos de onda (365-970 nm), (B) percentagem de contribuição das componentes, e (C) análise de significância dos valores médio em 5 comprimentos de ondas em lotes de sementes de cinco populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore, coletados em municípios do estado da Bahia, Brasil.

O teste de Tukey nos comprimentos de onda de maiores contribuições da PCA indicou significância ($p < 0,05$) em 515nm, 540nm, 780nm e 970nm (Figura 5B), com maiores valores para as sementes dos lotes coletados em SDB e BNN enquanto os menores para ABA e JRB (Figura 5B).

Na autofluorescência, apenas a combinação 630nm/700nm apresentou diferenças significativa, com os lotes coletados em JRB apresentando o menor valor (35,6), enquanto ABA o maior valor (38,9).

Foi realizado uma análise multifatorial (MFA) dos dados de área, cor, textura, reflectância e autofluorescência (Figura 6). Duas componentes (CP1 e CP2) explicaram 62,00 % da variação (Figura 6A). A CP1 explicou 40,36%, com maiores escores para a cor (0,887- $b^*=0,887$ e $L^*=0,879$), seguido da autofluorescência (0,857). Este eixo foi melhor caracterizado pelo lote coletado em ABA (Figura 6D). A CP2, com 21,60 % de explicação, as maiores escores foram área e textura da semente. Os lotes coletados em SDB e MCG foram melhores caracterizadas nesse eixo.

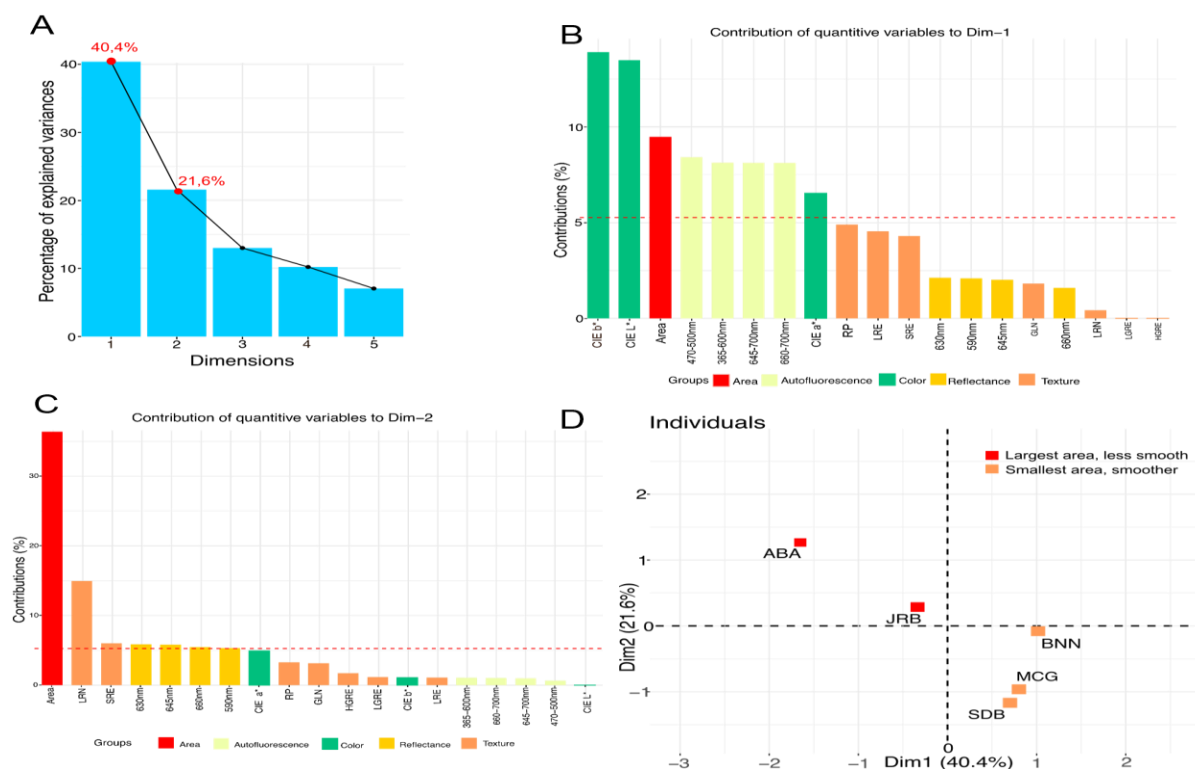


Figura 6. Análise multifatorial (MFA) dos resultados obtidos para área, cor, textura, reflectância e autofluorescência das sementes de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore, coletada em municípios do estado da Bahia, Brasil (A); explicação em cada componente (B); Contribuição das variáveis dimensões 1(B) e 2(C) e Fator de contribuição dos indivíduos (D).

A MFA possibilitou diferenciar/separar as sementes de acordo com as características de tamanho e do tegumento (Figura 6D). Com esta análise, foi possível perceber que o lote que apresentou a maior área e textura mais rugosas (poros) foram coletadas em ABA e JRB e, o grupo das mais lisas, menos rugosas e de menor área são as oriundas de MCG, BNN e SDB (Figura 6D).

6.0 DISCUSSÃO

As sementes de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F. Pastore, em geral, são alongadas com achatamento dorsoventral. Tem formato arredondado na extremidade distal, enquanto a proximal possui forma em V invertido. Apesar da variação, as sementes mantiveram uma relação comprimento: largura na ordem de 1,5:1. Os resultados (Figura 2A e 2C) mostram que grande parte das sementes foi identificada como vazias que pode ser devido a fatores como, por exemplo, estágio de maturação no momento da coleta. A área das sementes foi maior nos lotes das populações BNN e JRB e menor nas populações ABA e SRB (Figura 2A e 2C).

A área é um atributo de atenção especial, pois está relacionada aos mecanismos de germinação, como o acúmulo de reservas, e da planta resultante, como o seu vigor. O tamanho da semente tem sido considerado uma característica evolutiva importante, que afeta o resultado reprodutivo de muitas espécies de plantas (Cordazzo, 2002). Foi considerada por He, Yalong et al. (2007) um atributo que influencia diretamente o vigor da plântula e que pode determinar indiretamente a distribuição e abundância das plantas em diferentes habitats (Silveira, 2012). Embora o tamanho da semente seja uma consideração relevante, fatores que afetam a permeabilidade do tegumento também podem influenciar a sua germinação e serem responsáveis por quaisquer discrepâncias relacionadas ao seu tamanho (Upreti et al., 2024).

As sementes dos diversos lotes, no geral, apresentam cores escuras e de pouco brilho, típico das estruturas reprodutivas vegetais. Especial atenção a esta característica deve ser dada ao fato de que a cor do tegumento de semente pode estar associada a atributos importantes como, por exemplo, sua qualidade. O estudo de Marvi (2010) associou melhor qualidade às sementes de melancia (cv Crimson Sweet) mais escuras e, portanto, valores mais baixos de L^* . A Intensidade de cor amarela,

representado pelo parâmetro b^* (positivo) também foi uniforme nas sementes das cinco populações analisadas - ABA, BNN, MCG, SRB e JRB, demonstrando pouca variação nessa matiz. Apenas a baixa intensidade de cor verde e predominância de tons avermelhados, indicados pela variável a^* (positiva) diferencio os lotes. A predominância de cor esverdeada – mais claras (maiores valores de a^*) ocorreu nas sementes originadas de MCG enquanto as de matiz mais avermelhada portanto menos claras e mais escuras, às do lote coletado em JRB.

Em plantas da família das Fabáceas (leguminosas) constataram que a presença de pigmentos tem inibido a embebição de água. Asiedu et al (1998) relataram que variedade mais pigmentadas de feijão caupi (*Vigna unguiculada* (L.) Walp. teve uma absorção de água mais lenta, durante a embebição, enquanto variedades não pigmentadas tiveram uma absorção muito mais rápidas (seis a oito vezes). Por outro lado, Liu et al. (2019) relataram que a variedade de feijão guava (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) de cor preta, apresentou maior taxa de absorção de água (duas vezes mais) durante 14 h de embebição e começaram a germinar mais cedo do que as sementes branco-opacas. Esses resultados divergentes sugerem que a cor do tegumento da semente, por si só, pode ser insuficiente para determinar a absorção de água, ressaltando a necessidade de mais pesquisas sobre a composição química do tegumento além do seu estágio de maturidade (Upreti et al., 2024).

O tegumento (testa) é a camada de cobertura mais externa da semente. Nesta superfície, particularmente, a presença de poros, também influenciam a permeabilidade à água (Lemes, et al., 2024). A combinação de parâmetros de baixo valor numérico de $\downarrow$ SRE, menor percentagem de corridas - $\downarrow$ RP, associados a maiores valores de $\uparrow$ LRE e não uniformidade no nível de cinza – $\uparrow$ GLN está associada a uma superfície mais rugosa e a textura menos lisa, segundo Galloway (1975), Agwu e Ohagwu (2016). É uma condição semelhante a encontrada no lote ABA e que, segundo Upreti et al. (2024), a presença de poros e/ou rugosidades tegumentares podem influenciar na permeabilidade a água, favorecendo a sua passagem através das células paliádicas presentes na estrutura do tegumento, contribuindo no processo germinativo e que pode conferir vantagem competitiva. Em contraste, as sementes coletadas em MCG e SDB estão correlacionadas a superfícies mais lisas com formação de menos porosidade.

O agrupamento de média dos valores de reflectância mostra que houve diferenças espectrais nas faixas 470nm - 490nm, 515nm - 540nm, 780nm – 970nm. A menor média encontrada ocorreu nas sementes coletadas em JRB, com tendência oposta para as coletadas em MCG. Segundo Allen et al. (2012), valores de reflectância inferiores nesse espectro (515nm - 540nm) estão associados à presença do complexo de açúcar-proteína constituintes de pigmentos presentes nos tecidos que compõem as estruturas dos vegetais e, também, à compostos fenólicos (Gaston, 1993)

Na região NIR (700nm a 970nm), também foi possível a separação dos lotes, sendo o lote JRB e ABA o que apresentaram as menores intensidades (Figura 5C). Nesse espectro, padrões fisiológicos importantes podem estar associados. Tecidos mortos ou contaminados, por exemplo, não absorvem bem energia nesse comprimento de onda (Jennifer et al., 2015; XIA, Yu et al., 2019). Bianchini et al. (2021), trabalhando com sementes de *Jatropha curcas* L., verificaram que alto vigor fisiológico estavam ligados a sementes que apresentaram menor intensidade de reflectância na faixa entre 780 nm e 970 nm. Outros estudos, nessa faixa de radiação, comprovaram que valores elevados de reflectância foram obtidos em sementes não viáveis de *Brassica oleraceae* L. e *Ricinus communis* L. (Shetty, Nisha et al., 2011 e Olesen, Merete Halkjaer et al., 2015, respectivamente). Assim, os resultados indicam que as sementes coletadas em JRB e ABA - que apresentaram menor valor de reflectância, possuem tecidos mais saudáveis e metabolicamente mais ativos e, conseqüentemente, mais viáveis fisiologicamente, quando comparados aos lotes coletados em MCG, BNN e SDB. Ressalta-se que o lote originado de JRB apresentou os maiores valores do parâmetro área, além do maior percentual de sementes cheias nos ensaios de Raio X, fortalecendo a hipótese da sua maior viabilidade fisiológica.

O resultado da autofluorescência não permitiu diferenciar os lotes, salvo na combinação excitação/emissão 630nm-700nm, sendo as sementes coletadas em JRB as de menor valor. Batista et al., (2022) encontraram altos valores de correlação entre marcadores espectrais de autofluorescência e carotenoides (0,97), Clorofila a (0,98) e Clorofila b (0,92) em sementes de soja (*Glicine max* L.) quando foram submetidas a autofluorescência nesse espectro de combinação. Nesse sentido, é possível destacar as sementes coletadas em JRB como as de maior qualidade fisiológica e maturidade. Não obstante, é importante destacar que as diferenças no período de maturação podem ser uma adaptação ambiental, ajustando-se às condições do ecossistema (Xie.

Jin, et al., 2023) e que, nesse sentido, é crucial identificar corretamente o estágio de maturidade das sementes na coleta, pois a qualidade fisiológica vai se desenvolvendo até o ponto ideal de maturidade (Batista, 2022).

7.0 CONCLUSÃO

A análise de imagem multiespectral associada ao raio X mostrou-se uma técnica eficaz na caracterização de sementes de *M. martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.Pastore. Sementes coletadas nas diferentes populações apresentam heterogeneidade, tanto nos aspectos físicos quanto químicos, com identificação de importantes diferenças nos atributos de tamanho e textura, além de indicadores de qualidade fisiológica, de maturação, vigor e viabilidade. Os lotes coletados em JRB e ABA apresentaram características muito próximas nos descritores de cor, área e atributos fisiológicos de qualidade superior. Os dados obtidos indicam ainda que o tamanho da semente pode representar um importante marcador da viabilidade, o que poderá facilitar e direcionar ações de coleta do germoplasma e ampliar a possibilidade de sucesso em programas de conservação

8.0 REFERÊNCIAS

AGELET, L E; HURBURGH JR, CHARLES R. Limitations and current applications of Near Infrared Spectroscopy for single seed analysis. **Talanta**, v. 121, p. 288-299, 2014.

AGRA, M F et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.

AGWU. K. K.; OHAGWU, C. C. Histogram-Based Texture Characterization and Classification of Brain Tissues in Non-Contrast CT Images of Stroke Patients. In: RAMAKRISHNAN, S. Pattern Recognition: Analysis and Applications. 1. ed. London: **Intech Open**, 2016. Cap. 05, p 81-108.

BATISTA, T B. Maturação em sementes de soja: estádios reprodutivos, degradação da clorofila e aquisição da qualidade fisiológica. 2022.

ASIEDU, E. A.; POWELL, A. A. Comparisons of the storage potential of cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata*) differing in seed coat pigmentation. 1998. ASIEDU, E. A.;

POWELL, A. A. Comparisons of the storage potential of cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata*) differing in seed coat pigmentation. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, **Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**, Brasília, 2023. <https://www.ibflorestas.org.br/bioma-caatinga>. Acessado em: 20.03.2024.

DA SILVA, C. B. et al. A novel approach for *Jatropha curcas* seeds health analysis based on multispectral and resonance imaging techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 161, p. 113186, 2021.

MARASSI, A. G., and TANNUS, A. (2021b). A novel approach for *Jatropha curcas* seeds health analysis based on multispectral and resonance imaging techniques. *Ind. Crops. Prod.* 161:113186.

BIANCHINI, VI J M et al. Multispectral and X-ray images for characterization of *Jatropha curcas* L. seed quality. **Plant Methods**, v. 17, n. 1, p. 1-13, 2021.

BOELT, BIRTE et al. Multispectral imaging—a new tool in seed quality assessment? **Seed Science Research**, v. 28, n. 3, p. 222-228, 2018.

COSTA-LOTUFO, L. V.; ARAÚJO, E. C.; LIMA, M. A.; MORAES, M. E.; PESSOA,

C.; SILVIERA, E. R.; MORAES, M. O. Antiproliferative effects of abietane diterpenoids isolated from *Hyptis martiusii* Benth (Labiatae). **Pharmazie**, v. 59, p. 78- 79, 2004.

COUTINHO, H.D.M et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 670-675, 2008.

CORDAZZO, C V. Effect of seed mass on germination and growth in three dominant species in southern Brazilian coastal dunes. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, p. 427-435, 2002.

FAIRCHILD, M. D. **Color Appearance Models**. 3. ed. Chichester: Wiley. 2013. 468p. ISBN 978-1-119-96703-3.

BRAZIL FLORA G (2025). Brazilian Flora 2020 project - Projeto Flora do Brasil 2020.

GASTON, E et al. Prediction of polyphenol oxidase activity using visible near-infrared hyperspectral imaging on mushroom (*Agaricus bisporus*) caps. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 10, p. 6226-6233, 2010.

GALLOWAY, M. M. Texture Analysis Using Gray Level Run Lengths. **Computer graphics and image processing**, v. 4, p.172-179. 1975.

LÊ, S., JOSE, J. SAMP; HUSSON, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*. 25(1). pp. 1-18.

LIU, W. et al. Association of seedcoat color with seed water uptake, germination, and seed components in guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub). **Journal of arid Environments**, v. 70, n. 1, p. 29-38, 2007.

HE, Y. et al. Seed size effect on seedling growth under different light conditions in the clonal herb *Ligularia virgaurea* in Qinghai-Tibet Plateau. **Acta Ecologica Sinica**, v. 27, n. 8, p. 3091-3108, 2007.

LEMES, E.M., CATÃO. H.C.R.M. Soybean Seed Coat Cracks and Green Seeds Predisposing Conditions, Identification, and Management Seeds, 2024, 3, 133 – Thermal and hyperspectral imaging for Norway spruce (*Picea abies*) seeds screening.

OLESEN, M. H et al. Viability prediction of *Ricinus cummunis* L. Seeds using multispectral imaging. **Sensors**, v. 15, n. 2, p. 4592-4604, 2015.

R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Embrapa Solos: Available: <https://www.Embrapa.br/solos/sibcs> Accessed: April, v. 9, p. 2018, 2018;

SAPPI. **Defining and Communicating Color: The CIELAB System**. Sappi Fine Paper North America. 2013.

SOARES, A. S.. **Lamiaceae no Rio Grande do Norte: taxonomia e status de conservação**. 2017. Dissertação de Mestrado. Brazil.

SCHWARTZ, W. R; ROBERTI DE SIQUEIRA, F; PEDRINI, H. Evaluation of feature descriptors for texture classification. **Journal of Electronic Imaging**, v. 21, n. 2, p. 023016-023016, 2012.

OLESEN, M. H. et al. Viability prediction of *Ricinus communis* L. Seeds using multispectral imaging. **Sensors**, v. 15, n. 2, p. 4592-4604, 2015.

SHETTY, Net al. Optimal sample size for predicting viability of cabbage and radish seeds based on near infrared spectra of single seeds. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 19, n. 6, p. 451-461, 2011.

UPRETEE, P.; BANDARA, Manjula S.; TANINO, Karen K. The Role of Seed Characteristics on Water Uptake Preceding Germination. **Seeds**, v. 3, n. 4, p. 559-574, 2024.

SILVEIRA, F.A.O et al. Does seed germination contribute to ecological breadth and geographic range? A test with sympatric *Diplusodon* (Lythraceae) species from rupestrian fields. **Plant Species Biology**, v. 27, n. 2, p. 170-173, 2012.

XIA, YU et al. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**, v. 1, p. 35-47, 2019.

XIE, JIN et al. Seed color represents salt resistance of alfalfa seeds (*Medicago sativa* L.): Based on the analysis of germination characteristics, seedling growth and seed traits. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1104948, 2023.

CAPÍTULO III

⁴MARCADORES ISSR NA CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore(Lamiaceae).

Edvan Assis Oliveira¹, Lenaldo Muniz de Oliveira², Cássio van den Berg³

¹Doutorando em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: eo4001@gmail.com;

²Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lenaldo.uefs@gmail.com;

³Programa de Pós-graduação em Botânica - Departamento de ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: vcassio@gmail.com.

1.0 RESUMO

A análise genética de populações de plantas medicinais é fundamental para compreender a diversidade e a estrutura genética, auxiliando na conservação e no uso sustentável desses recursos. A caracterização através do uso de marcadores moleculares, tem sido importantes pois, possibilitam a obtenção de informações fundamentais de aplicação na coleta e conservação das espécies medicinais importantes. Nesse sentido, o estudo objetivou analisar a estrutura e variabilidade genética em 15 populações de *Medusantha martiusii*. Foram coletados materiais genéticos de 240 indivíduos de 16 populações no estado da Bahia. Os dados foram submetidos a indicadores de Nei, Índice de Shannon, AMOVA, Matriz de distância, e estatística de Wright. Os resultados mostraram que 14 % da variabilidade está alocada entre as populações e 86% dentro das populações. Ainda foi possível observar a existência de 75,11% de polimorfismos, com as populações de AMD, UMB, ITU, MDC e SAB apresentaram maior diversidade genética enquanto as JRB e MRC apresentaram as menores. Os indivíduos das populações ITU e SDE são os mais similares geneticamente, enquanto os de MRC e JGR são os mais dissimilares, sendo recomendados para uso em programas de melhoramento.

Palavras-Chave: Plantas Medicinais, Marcador ISSR, Polimorfismos, Caracterização genética.

2.0 INTRODUÇÃO

O gênero *Medusantha* é constituído por apenas 8 espécies e bastante homogêneo, pertencente à família Lamiaceae. A espécie *M. martiusii* (Benth) Harley & J.F.B. Pastore é um arbusto característico da vegetação da Caatinga em áreas semiáridas do Nordeste brasileiro (Harley & JFB Pastore, 2012). É uma planta aromática e medicinal de grande importância pela aptidão na produção de óleo essencial rico em compostos de amplo uso e aplicação (Agra et al., 2008).

Medusantha martiusii (Benth) Harley & JFB Pastore é uma espécie não domesticada, conhecida popularmente como alfazema de caboclo (Agra et al., 2008). Suas folhas são amplamente usadas na forma de chá para o tratamento de doenças estomacais e intestinais e suas raízes são comumente usadas para o tratamento de inflamações de ovários (Agra et al., 2008). Estudos laboratoriais com a espécie apontaram que o óleo essencial possui atividade citotóxica (Araújo et al., 2006) e antimicrobiana (Coutinho et al., 2008). É consenso nas pesquisas o potencial inseticida do seu óleo essencial contra *Aedes aegypti*, agente transmissor da dengue e *Bemisia argentifolii* (mosca branca), uma importante praga da fruticultura (Araújo et al., 2003).

Contudo, a sua forma de exploração exclusivamente extrativista, aliada à intensa ocupação das suas áreas de ocorrência natural, à crescente urbanização e expansão das áreas agrícolas e pecuárias, têm elevado enormemente os riscos de erosão genética na espécie, com perdas irrecuperáveis de genes de grande importância econômica. Nesse cenário, estudos e análises genéticas populacionais são importantes para fins de conservação e preservação das espécies vegetais (Koochdar, 2022). Conhecer a variabilidade genética de uma população permite presumir, senão desvendar, quais os fenômenos ecológicos e genéticos atuantes na evolução da espécie. Através desses estudos, torna-se possível o conhecimento de parâmetros, como a variabilidade genética populacional, diversidade, polimorfismos, gargalos populacionais e deriva genética, entre outros, cujo conhecimento é fundamental, pois forma base para a elaboração de estratégias de conservação eficazes (Yildirin et al., 2024), além de contribuir em programas de melhoramento genético eficientes e bem-sucedidos (Cruz et al., 2020).

Marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados em estudos de genética de populações (Mohebi Anabat et al. 2020). Nos últimos anos os avanços na

genética molecular de plantas forneceram uma ampla gama de técnicas de marcadores, usados na avaliação e mapeamento de estruturas populacionais, melhorando, dessa forma, o uso e aplicação dos germoplasmas (Hussain e Missar, 2020). São técnicas importantes e frequentemente aplicadas no estudo de diversidade genética, porque são mais eficientes, confiáveis e insensíveis às variações ambientais do que caracteres fenotípicos (Ray et al., 2019; Ismail et al., 2019). Trabalhos tem destacado o papel destas técnicas em programas de melhoramento e preservação dos recursos genéticos vegetais (Al-Hadeithi, Z.S.M e Jasim, A.S., 2021). Marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) tem sido usados para análise de populações devido à sua robustez, custo-benefício e maior reprodutibilidade (Das et al., 2019 e Ray et al., 2019). São marcadores dominantes, simples, rápidos de obter, altamente polimórficos (Gupta et al., 2021; Ghanbari et al., 2022) e amplamente aplicados em estudos de relações genéticas em plantas medicinais (Gupta et al., 2021; Feijó et al., 2022).

Apesar do valor socioeconômico da Alfazema de caboclo, até o momento não há nenhum estudo dedicado à sua conservação. Para preencher essa lacuna de conhecimento, essa pesquisa buscou medir a estrutura populacional e a variabilidade genética da espécie *M. martiussi*, gerando informações importantes para a preservação, conservação e uso sustentável da espécie.

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localidades e amostragem

A pesquisa abrangeu 15 populações da espécie *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & J.F.B. Pastore, coletadas em quatro mesorregiões do estado da Bahia/Brasil – Região do Vale do São Francisco, Região do centro Norte Baiano, Região do Centro Sul e Nordeste Baiano (Figura 1 e Tabela 1). Foram coletadas folhas de 16 indivíduos por população (acesso), totalizando 240 indivíduos amostrados.

Tabela 1: Localização, coordenadas geográficas e número de depósito das exsicatas no herbário (HUEFS) dos locais de coleta das populações de *Medusantha martiusii* (ex Benth) Harley & J.F.B Pastore no estado da Bahia-Brasil.

Local -Código	Coordenadas Geográficas		Voucher
	Latitude	Longitude	
1-Maracás - MRC	13° 27'59" S	40° 30' 754"W	HUEFS 259265
2-Ituaçu -ITU	13° 46'45"S	41° 18' 359"W	HUEFS 259266
3-Mucugê - MCG	12° 56'08"S	41° 23' 072"W	HUEFS 259264
4-Abaíra - ABA	13° 15'07"S	41° 40' 762"W	HUEFS 259267
5-Seabra -SAB	12° 25'35"S	41° 47' 863"W	HUEFS 259268
6-Boninal - BNN	12°42'07"S	41°49'40"W	HUEFS 259269
7-Morro Chapéu- MDC	11°38'03"S	40°58'54"W	HUEFS 259270
8-América Dourada-AMD	11°26'22"S	41°26'22"W	HUEFS 259271
9-Jacobina - JCB	11°05'02"S	40°41'23"W	HUEFS 259272
10-Umburana - UMB	10°41'59"S	41°17'40"W	HUEFS 259273
11-Saúde - SDE	10°55'40"S	40°24'50"W	HUEFS 259274
12-Cansanção - CSC	10°39'47"S	39°32'6"W	HUEFS 259276
13-Filadélfia - FDF	10°32'22"S	40°08'17"W	HUEFS 259277
14-Jaguarari - JRG	10°24'09"S	40°19'54"W	HUEFS 259278
15-Jeremoabo - JRB	09° 56' 44"S	38° 17' 38"W	HUEFS 259279

Cada população foi geolocalizada, com distância mínima de 60km entre populações. Folhas frescas, saudáveis e jovens de 16 indivíduos de cada população foram colhidas, acondicionadas, identificadas e armazenadas em caixa térmica até a extração do DNA (Figura 1).

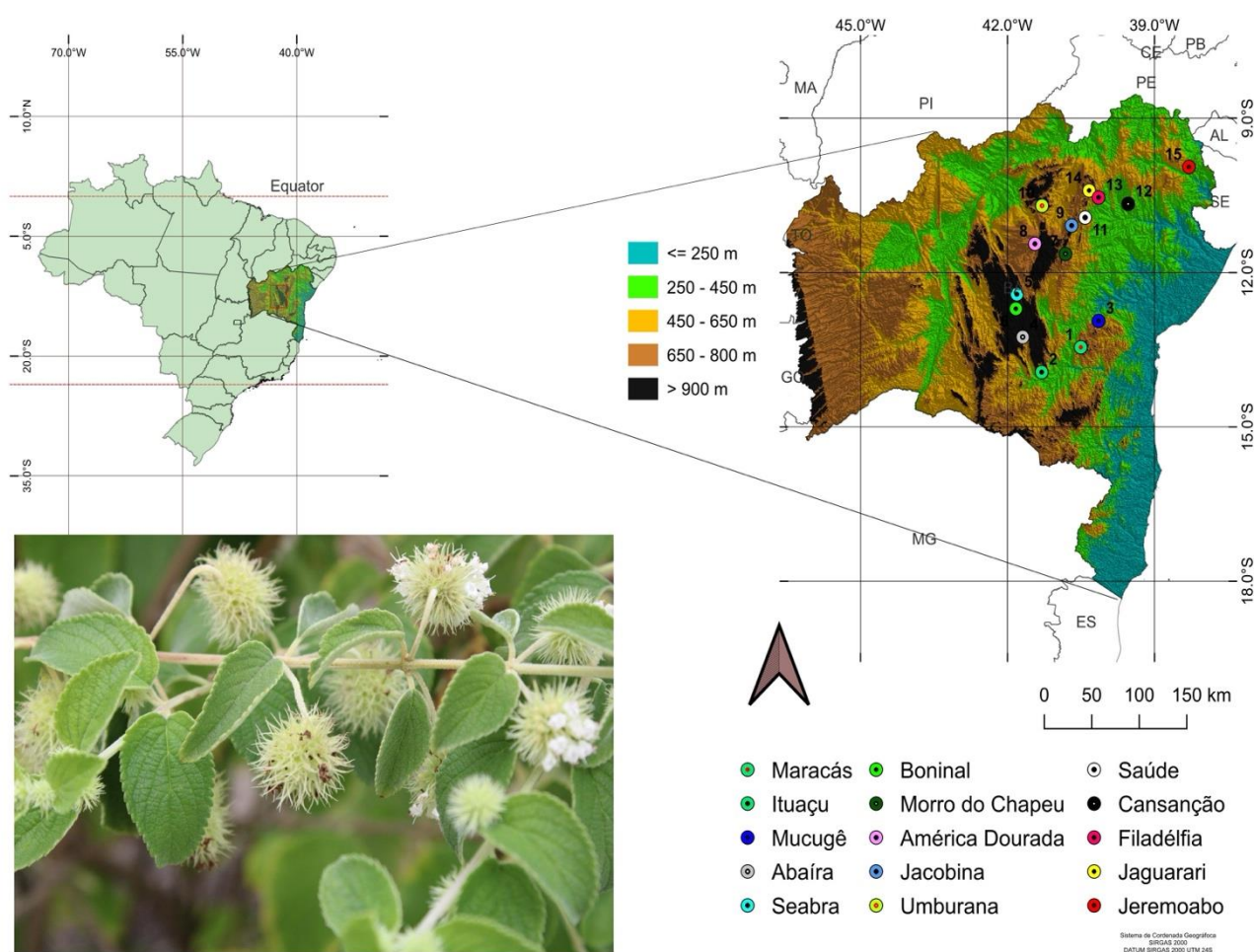


Figura 1: Distribuição geográfica e geomorfologia da localidade de quinze populações de *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.P.F. Pastore, coletadas no estado da Bahia-Brasil.

3.2 Isolamento do DNA e Quantificação

Parte das folhas coletadas (50 mg) foram usadas para extração de DNA, seguindo o protocolo CTAB (Doyle e Doyle, 1990) com pequenas adaptações. A concentração de DNA (quantificação) foi estimada usando gel de agarose a 1,5%. Posteriormente, a pureza e a concentração final das amostras do DNA (diluído 20x em água ultrapura) foram medidas com um espectrofotômetro (The NanoDrop® 2000 UV-Vis) antes de serem submetidas as análises.

3.3 Amplificações do DNA e Reação em Cadeia de Polimerase- PCR

Dezoito primers ISSR foram inicialmente selecionados aleatoriamente para teste. Ao final, somente nove foram considerados polimórficos, por produzirem bandas

fortes e de boa resolução, razão pela qual foram selecionados para a amplificação de PCR e genotipagem.

O volume usado nas reações de amplificação foi de 10 µL, com a seguinte composição: 1 µL de DNA total (5 ng/µL), 0,36 µL de 15 µM de Primer ISSR, 2,5 µL Taq DNA Polimerase (Kit Qiagen- Taq PCR Core KIT 1000 U), 2 µL de TBT (Trehalose-Based Additive - Samarakoon et al., 2013) e 4,16 µL de água ultrapura. As reações foram realizadas com o seguinte protocolo: desnaturação a 94° C por 1 min e 30 s., seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94° C com duração de 45s. Temperatura de anelamento (48°C – 51°C, variando de acordo com o prime) e uma extensão inicial de 72° com duração de 1min e 30 s e a final com 72°C com 7 min, intercaladas por dois períodos: um de 94° C e outro de 45°C, ambos com duração de 45 s.

Gel de agarose a 1,5%, contendo tampão TBE 0,5X, foi usado para a eletroforese dos DNA amplificados a uma voltagem de 120V e 80mA por 90 min. Em seguida, brometo de etídio ($C_{12}H_{20}BrN_3$) foi usado para realizar a coloração do gel e ser visualizado usando Luz UV e fotografado. Um escada de DNA (Ladder) de 100 pb foi usada como marcador de peso molecular (Ludwig Biotec, Porto Alegre). As fotografias dos géis foram analisadas e padronizadas com marcação de regiões similares em relação a presença ou ausência de bandas. Foi utilizado nessa etapa o software GEOCOMPAR II (BioNumerics software v 5.01 - Applied Maths, Kortrijk, Belgium).

3.4 Análise de dados

As bandas foram identificadas como 0 ou 1 (presentes ou ausentes) e os dados resultantes obtidos do software GELCOMPAR II foram agrupados em uma matriz (165 colunas x 239 linhas). Os parâmetros de diversidade e estrutura intra e interpopulacional foram os seguintes: número de bandas polimórficas (NBp), porcentagem de polimorfismo (%Bp), número de alelos em cada locus (Na), número efetivo de alelos (Ne), diversidade genética de Nei(1973), índice de Shannon (IS), número de alelos em cada locus, número efetivo de alelos, número de bandas privadas e coeficiente de diferenciação genética (Gst).

Foram realizados agrupamentos com o método Neighbor Joining, além da análise de coordenadas principais (PCoA). O teste de AMOVA (análise de variância molecular) foi realizado para verificar as diferenças genéticas significativas entre as

populações estudadas. O teste de Mantel foi realizado para verificação de possível correlação entre as distancias geográficas e genéticas das populações. As relações entre as populações foram aferidas pelo método Bayesiano, com apoio do software STRUCTURE 2.2 (Pritchardt et al., 2000).

Para geração dos resultados estatísticos e qualificação das análises, gráficos e mapas foram elaborados utilizando os softwares GENEALIX 6.5 (Peakall e Smouse, 2011), STRUCTURE 2.2(Pritchardt et al., 2000), Genes, AFLP-Surv v. 1.0 (Vekemans et al., 2002) e PHYLIP v. 3.695 (Felsenstein, 2007) e QGIS 3.34.

4.0 RESULTADOS

4.1 Polimorfismos ISSR

Dos 240 indivíduos das 15 populações foram identificados 165 loci polimórficos. O tamanho dos fragmentos amplificados variou de 100 pb a 2.500 pb. O PIC variou de 0,1897 até 0,2256, com média de 0,2150 com os primers JHON e DAT com maiores informações (0,2256 e 0,2187, respectivamente) (Tabela 2).

Tabela 2: Nome do primer, sequência nucleotídica, temperatura de anelamento (°C), N° de bandas polimórficas (NBp) e conteúdo informativo de cada marcador ISSR utilizado na caracterização de 15 populações de *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley e J.F.B.Pastore, localizados no estado da Bahia - Brasil.

(continua)

Prime	Sequência	Anl(°C)	NBp	Na	Ne	IS	PIC
ISSR4	(CA)8GT	50,10	18	1,407	1,292	0,200	0,2155
ISSR6	(AG)8-YT	50,2	21	1,393	1,259	0,264	0,1945
ISSR7	(AG)8-YC	50,2	22	1,091	1,178	0,200	0,1897
DAT	(GA)7-RG	50,0	17	1.718	1.379	0.359	0,2187
GOOFY	GT)7-YG	49,0	17	1,400	1,302	0,286	0,2155
CHRIS	(CA)7-YG	50,0	18	1.548	1.274	0.291	0,1942
MAO	(CTC)4-RC	51,0	16	1,458	1,248	0,269	0,1904
JHON	(AG)7-YC	48,1	17	1.365	1.305	0.291	0,2256

(conclusão)

Prime	Sequência	Anl(°C)	NBp	Na	Ne	IS	PIC
MANNY	(CAC)4-RC	51,0	18	1.530	1.293	0.293	0,2010
TOTAL	-	-	165	-	-	-	-

Y = C ou T e R = A ou G; Anl: temperatura de anelamento; NBp: nº bandas polimórficas; Na; número de alelos por *locus*; Ne: número efetivo de alelos; IS: índice de diversidade de Shannon; PIC: Polymorphic Information Content.

4.2 Diversidade e estrutura genética

No nível intra populacional houve uma média de 118 bandas e a porcentagem de polimorfismos (%Bp) variando de 50,30% - 80,61%, com média de 71,11%. A população ITU exibiu a maior variabilidade entre as quinze populações, enquanto a população de JRB mostrou a menor variabilidade. Um total de 9 populações (60%) tiveram valor (% Bp) acima da média e, das 117 bandas com polimorfismo encontradas, cinco populações (33%) apresentaram bandas privadas (*Le*): ITU, MCG, SAB, FLF e JRB, porém todas com apenas uma banda cada (Tabela 3).

Tabela 3: Número de indivíduos genotipados (*N*), número de bandas polimórficas (*NBp*) porcentagem bandas polimórficos (%Bp), Índice de diversidade de Nei (*He*), Índice de Shannon (*I*) e locus exclusivos (*Le*) identificados com marcador ISSR em 15 populações de *Medusantha martiusii*(ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore no estado da Bahia-Brasil. (continua)

População	<i>N</i>	<i>NBp</i>	(%)Bp	<i>He</i>	<i>IS</i>	<i>Le</i>
MRC	16	101	59,39	0,142	0,226	0
ITU	15	134	80,61	0,212	0,336	1
MCG	16	117	70,91	0,178	0,283	1
ABA	16	124	75,15	0,146	0,248	0
SAB	16	124	75,15	0,184	0,293	1
BNN	16	125	75,76	0,191	0,306	0
MDC	16	125	75,15	0,205	0,321	0
AMD	16	130	78,18	0,205	0,324	0

(conclusão)						
População	<i>N</i>	<i>NBp</i>	(%) <i>Bp</i>	<i>He</i>	<i>IS</i>	<i>Le</i>
UMB	16	128	76,36	0,204	0,323	0
SDE	16	122	73,94	0,204	0,320	0
CSC	16	109	66,06	0,148	0,240	0
FLF	16	120	72,73	0,144	0,241	1
JGR	16	113	68,48	0,175	0,279	0
JRB	16	83	50,30	0,104	0,173	1
Média	15,93	118	71,11	0,175	0,280	-

A heterozigosidade esperada (*He*) de Nei (1973), variou de 0,212 (ITU) a 0,104 (JRB) com uma média de 0,175. O Índice de informação de Shannon (*IS*) variou de 0,336 em ITU a 0,173 em JRB, com valor médio de 0,228. Estes resultados apontam que a população de Ituaçu (ITU) apresenta a maior diversidade genética e, em contraste, a de Jeremoabo (JRB) apresentou menor diversidade genética observada entre as 15 populações analisadas.

4.3 Estrutura Populacional

A Análise de variância molecular (AMOVA) demonstrou que 14% da variação total foram encontradas entre as populações, enquanto o restante, 86%, estava dentro das populações analisadas (Tabela 4). O Coeficiente de diferenciação genética entre populações (*Gst*) foi de 0,1402, comprovando o resultado apresentado pela AMOVA e reforçando o entendimento de que cerca de 14% da variação genética existente encontra-se entre as populações, o que é considerado um valor moderado (alta diferenciação seria a partir de 0,25).

Adistância genética dos pares de populações com base na identidade de Nei (1973) variou de 0,5993 (MRC vs JRB) a 0,1492 (ITU vs MDC). No índice de Jaccard, os resultados são convergentes e mostraram a mesma tendência, com o índice de distância variando de 0,874 (ABA vs JRB) a 0,723 (ITU vs MDC) com um valor médio de 0,796. (Tabela 4).

Tabela 4 – Identidade genética de Nei(1978) (abaixo da diagonal) e índice de Jaccard (acima da diagonal) entre 15 populações de *Medusantha martiusii* (ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore coletados no estado da Bahia-Brasil.

	MRC	ITU	MCG	ABA	SAB	BNN	MDC	AMD	JCB	UMB	SDE	CSC	FLF	JGR	JRB
MRC	**	0.785	0.814	0.824	0.760	0.811	0.785	0.751	0.797	0.777	0.794	0.802	0.825	0.833	0.861
ITU	0.428	**	0.759	0.821	0.753	0.780	0.724	0.743	0.748	0.731	0.741	0.790	0.815	0.807	0.849
MCG	0.535	0.228	**	0.816	0.775	0.801	0.753	0.773	0.773	0.793	0.779	0.789	0.824	0.790	0.858
ABA	0.401	0.264	0.251	**	0.814	0.816	0.815	0.814	0.825	0.827	0.815	0.816	0.834	0.847	0.875
SAB	0.320	0.183	0.240	0.217	**	0.796	0.739	0.758	0.768	0.761	0.765	0.754	0.807	0.792	0.848
BNN	0.405	0.185	0.267	0.139	0.204	**	0.782	0.778	0.792	0.782	0.778	0.800	0.836	0.822	0.862
MDC	0.437	0.149	0.221	0.255	0.155	0.210	**	0.735	0.758	0.741	0.756	0.780	0.795	0.772	0.839
AMD	0.309	0.193	0.282	0.244	0.201	0.183	0.188	**	0.767	0.740	0.756	0.781	0.832	0.792	0.854
JCB	0.460	0.190	0.267	0.286	0.224	0.217	0.233	0.245	**	0.753	0.748	0.777	0.826	0.814	0.863
UMB	0.405	0.155	0.338	0.280	0.204	0.186	0.193	0.177	0.197	**	0.750	0.795	0.828	0.806	0.855
SDE	0.438	0.148	0.253	0.203	0.181	0.144	0.202	0.190	0.154	0.169	**	0.059	0.827	0.796	0.852
CSC	0.473	0.326	0.326	0.266	0.178	0.257	0.297	0.294	0.280	0.341	0.187	**	0.812	0.803	0.831
FLF	0.461	0.291	0.330	0.238	0.239	0.285	0.234	0.369	0.350	0.349	0.316	0.297	**	0.837	0.854
JGR	0.596	0.356	0.287	0.352	0.260	0.308	0.244	0.305	0.384	0.354	0.277	0.332	0.358	**	0.860
JRB	0.422	0.390	0.471	0.599	0.369	0.413	0.357	0.422	0.472	0.428	0.384	0.316	0.356	0.417	**

MRC – Maracás; ITU- Ituaçu; MCG- Mucugê; ABA- Abaíra; SAB- Seabra; BNN-Boninal; MDC-Morro Chapéu; AMD- América Dourada; JCB- Jacobina; UMB- Umburanas; SDE- Saúde; CSC- Cansanção; FLF- Filadélfia; JGR- Jaguarari; JRB- Jeremoabo.

A análise de agrupamento pelo método Neighbor-Joining (Figura 2) e Coordenadas principais – PcoA (Figura 3) possibilitou agrupar as 15 populações em 4 grupos : o grupo I - como o menor grupo e a participação isolada da MRC; o grupo II formado pelas populações ABA, FLF, JRB, BNN e CSC. grupo III foi agrupado por duas populações: MCG, JGR e o grupo IV que agregou as populações mais similares, com características mais próximas e formados por JCB e SDE. Já as populações AMD, UMB, ITU, MDC e SAB (com destaque em azul) é uma coleção mais heterogênea com distâncias maiores entre si e pouco convergentes para um agrupamento.

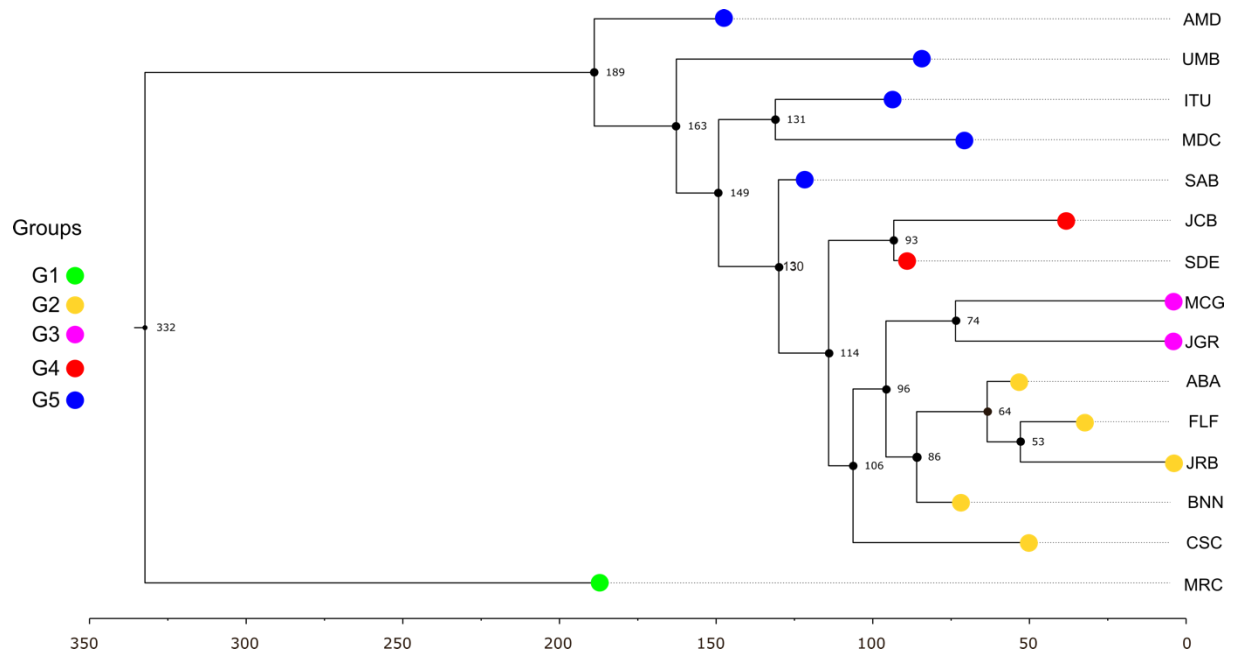


Figura 2: Dendrograma obtido pelo método de Neighbor-Joining a partir da matriz de distância genética de Nei de 15 populações de *Medusantha martiusii*(ex Benth) Halley & J.F.B.Pastore coletadas no estado da Bahia-Brasil.

A análise de coordenadas principais (PCoA) explicou 49,42% da variação dos dados. A PCoA1, com 35,64% , separou G1(MRC) dos grupos G2 (JRB, CSC, FLF, BNN e ABA e G3 (MCG e JGR). A PCo2, com 13,78%, separou G2(JRB, CSC, FLF, BNN e ABA) e G1(MRC) dos grupos formados pelas populações G3(MCG e JGR) e G4(JCB e SDE). As outras populações – destacadas em azul na árvore, não foram agrupadas pela PCoA sendo, provavelmente, diferentes entre si.

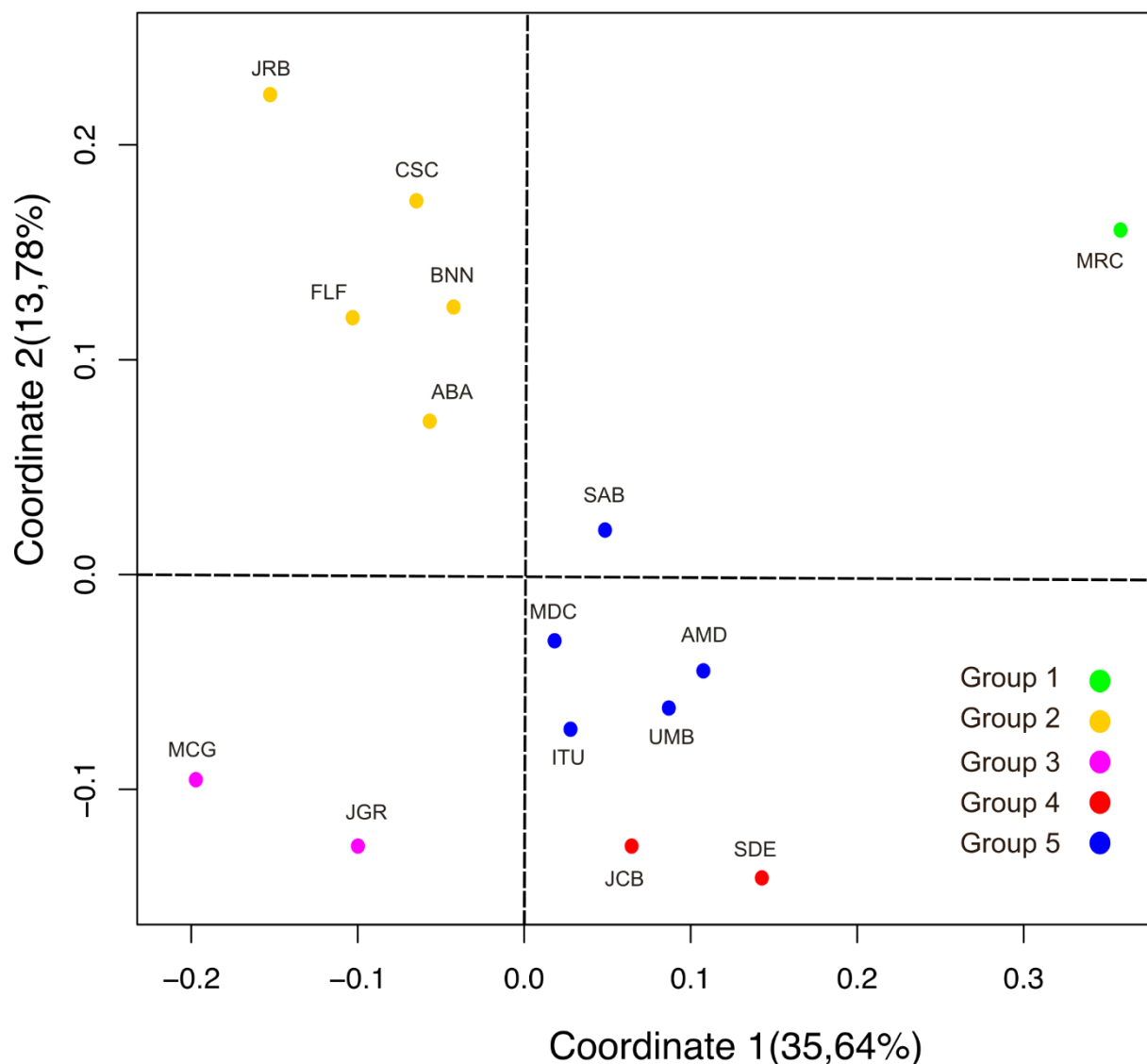


Figura 3: Gráfico de dispersão através da Análise Coordenadas Principais (PCoA) com base na matriz de distância de Nei em 15 populações de *Medusantha martiusii* (ex Benth) Harley & JFP Pastore obtidos a partir de marcadores moleculares ISSR.

A estrutura populacional foi analisada usando um modelo Bayesiano de Markov Chain Monte Carlo (MCMC), com auxílio do software STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard et al., 2000). O Valor K foi usado para estimar o número de clusters/categorias com base nos dados genotípicos. O ΔK mostrou um pico acentuado em $K=2$ e $K=5$ e, além disso, houve um pequeno pico observado em $k=4$ (Figura 4C), o que pode indicar outro grupo gênico. O $k=2$, notabilizou-se pela predominância de um grupo gênico – destacado na cor vermelha, sobre um outro pool genético, aqui representado pela cor verde. Destaca-se aqui a população JRB com o maior número de indivíduos

integrantes (90%) nesse grupo genético (Figura 4A e 4B). O Segundo grupo, representado na figura 4A e 4B destacado na cor verde apresenta uma participação menor dos indivíduos de cada população na formação desse agrupamento genético.

O Pico de $K=5$ dividiu os acessos em cinco grupos gênicos: Grupo I – destacado na cor vermelha, tem 65,65 % de adesão/compartilhamento dos acessos da JGR e 56,80% da CSC (Figura 4C). O Grupo II, representado pela cor verde, tem 79,80% dos indivíduos de MRC evidenciando, dessa forma, um forte grau de pertencimento dessa população a esse pool gênico, sugerindo, assim, uma população melhor estruturada e/ou menos miscigenada. Um outro grupo gênico é o Grupo III – representado pela cor azul, onde não se verifica predominância de uma população específica e, o de menor participação dos indivíduos de cada população – com menos de 10%, na sua composição. O Grupo IV tem a maior participação dos indivíduos das populações ABA e FLF (56,70% e 51,50%) é representado pela cor amarela. Destaca-se aqui, a participação dessas populações do mesmo agrupamento sugeridos pela dendrograma e PCoA. As populações coletadas em ITU e UMB aderem mais fortemente ao grupo gênico representado pela cor roxa – Grupo V, com 58,50% e 51,90%, nessa ordem. Chama atenção nesse último grupo a participação de indivíduos de MRC, que foi praticamente inexistente, com menos de 1% (Figura 4B).

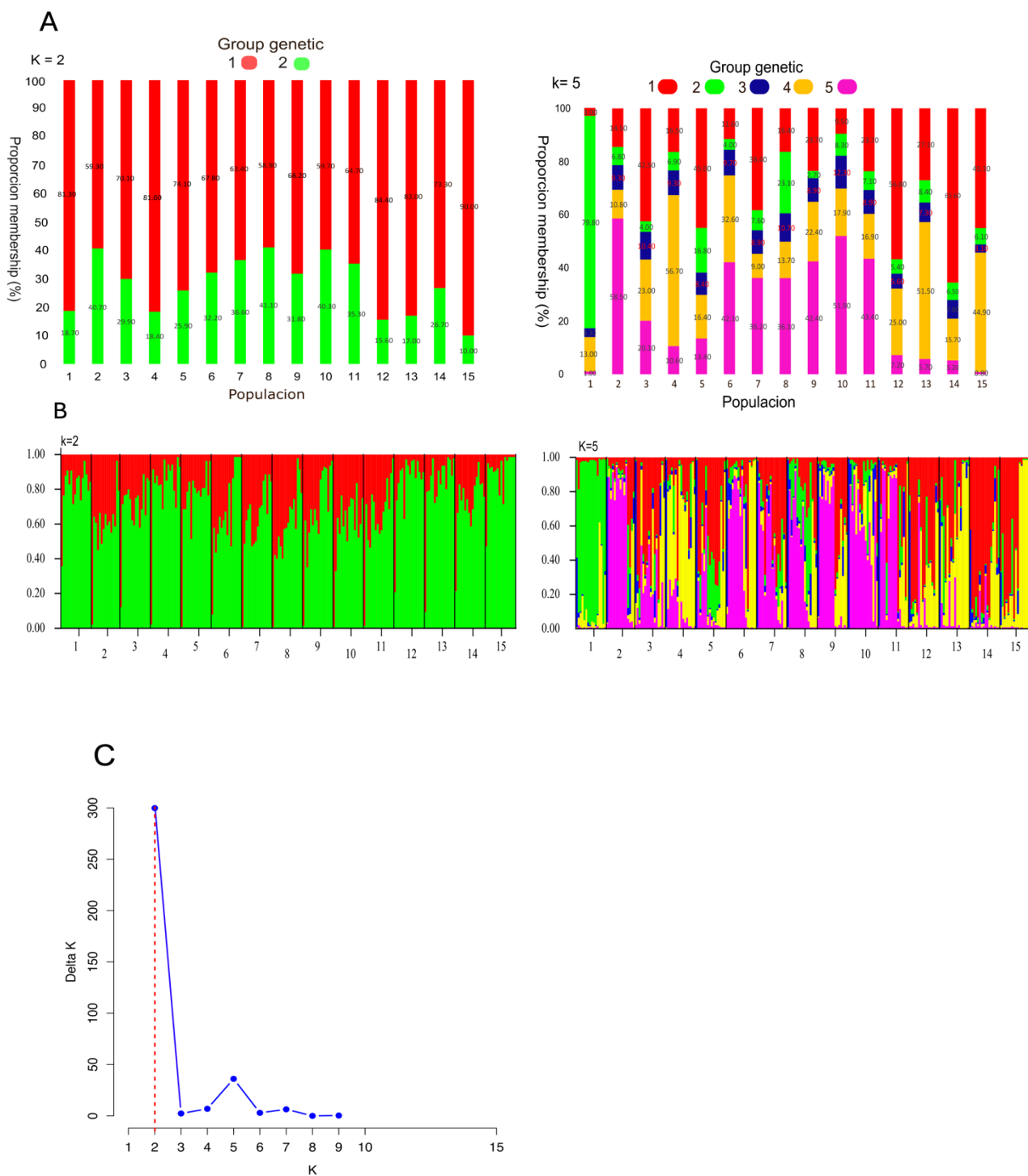


Figura 4: A - Adesão dos indivíduos de cada população nos grupos genéticos formados pelo modelo Bayesiano de Markov Chain Monte Carlo (MCMC estimada a partir de 239 acessos de *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & J.F.Pastore. C - Valores de ΔK (Evanno - 2005) para 15 populações.

5.0 DISCUSSÃO

O resultado de 0,2150 do PIC encontrado mostram que os primers usados foram moderadamente informativos de acordo com Serrote et al. (2020), que considera PIC entre 0,25 e 0,50 valores muito informativos. É um resultado que está convergente com o PIC apurado nos estudos de diversidade genética de *Sideritis gulendamii* L., uma planta ameaçada de extinção e endêmica da Turquia com populações estreitas e fragmentadas (Yildirim et al., 2024).

O valor médio das porcentagens de locus polimórficos das populações de *Medusantha martiusii* (71,11%) indicam uma taxa de polimorfismo entre moderada a alta. Outras pesquisas usando marcadores moleculares ISSR em plantas da família Lamiaceae mostraram que o polimorfismo populacional pode apresentar níveis variados de locus polimórficos(%Bp), como, por exemplo, o encontrado em uma espécie endêmica e ameaçada *Scutellaria yildirimlii* com %Bp de 56,50 (Yildirim et al., 2023). Não obstante, outros trabalhos apresentaram elevadas taxas de locus polimórficos em plantas dessa mesma família, como o estudo de Silva et al. (2023) em *Eplingiella fruticosa* Harley & JFB Pastore (Lamiaceae), que encontrou valores de Bp de 89,80%. Sabe-se que fatores ambientais, tais como os níveis de antropização, seleção, tamanho da população entre outros podem influenciar e/ou, em alguns casos, determinar o grau de variabilidade genética de uma população. O baixo valor dos indicadores da diversidade dentro das populações, tais como o índice de Nei ($H_e = 0,104$) e Shannon ($IS = 0,173$) e o polimorfismo (%Bp = 50,30), encontrados em JRB, podem ser explicados pelo fato de que a coleta foi realizada em uma localidade de forte influência antropogênica, com frequentes queimadas, perda de habitat para formação e requalificação de rodovias e, também, na proximidade de pastagens formadas a partir da supressão da vegetação nativa, ocasionando, dessa forma, a um possível efeito gargalo.

O resultado da AMOVA indicou que a variação genética total é devido a diferenças entre indivíduos dentro de populações (86%), enquanto (14%) da variação genética, está alocada nas diferenças populacionais, o que é considerado um valor moderado a alto, o que demonstra uma população estruturada. Esse resultado está convergente com o apontado pelo índice Φ_{st} de 0,1402 (Tabela 4). A análise de Wright também apoiou os resultados anteriores com um coeficiente de diferenciação genética de 0,21 ($0,05 < F_{st} < 0,25$), considerado moderado. Esse resultado converge

com o encontrado por Silva et al (2023) em estudos com populações de *Eplingiella fruticosa*, uma espécie medicinal e aromática pertencente a mesma família (Lamiaceae). A apuração do coeficiente de diferenciação genética de Wright (F_{st}) é fundamental para avaliar a estrutura genética de uma população, bem como medir o grau de diferenciação, parâmetros que ajudam a entender o fluxo gênico e/ou isolamento populacional.

O dendograma feito pelo modelo Neighbor-Joining separou as 15 populações em quatro grupos. Um resultado que foi convergente com os apontados pela análise PCoA (Figura 2 e 3). O grupo I é o isolado, formado apenas por MRC. O isolamento desta população também foi sugerido pelo STRUCTURE (Figura 4A) que apontou MRC com adesão de 80% dos indivíduos a um só pool genético (representado pela cor verde). É também desta população os mais baixos índices de diversidade intra-populacional, com $H_e = 0,142$, $IS = 0,226$ e $\%Bp$ de 59,39. A baixa variabilidade genética deste grupo pode ser devido a deriva genética e barreiras ao fluxo gênico ligado a polinização e dispersão. Esse cenário pode ser agravado pelo elevado risco de perdas de genes (erosão genética) promovida pela expansão urbana e atividades agropecuárias, por exemplo. Nesse sentido, cabe atenção especial em estratégias de conservação nessa população. O Grupo II formado por ABA, FLF, JRB, BNN e CSC foram as populações que mais alocaram os indivíduos na formação do Grupo 4 (destacado na cor amarela) pelo STRUCTURE. Este grupo pode ter sido agrupado pela aptidão adaptativa da espécie em crescer e desenvolver em ecossistemas ambientais distintos em fatores como clima, temperatura e relevo como a plasticidade adaptativa observada em *Eplingiella fruticosa* por Silva et al., 2023 uma espécie medicinal, pertencente a família das Lamiaceae e muito comum no Bioma Caatinga.

O grupo III foi formado por JGR e MCG. Estas populações estão entre as maiores contribuições (65,60% e 42,50%) na formação do grupo gênico 1 (destacado em vermelho) sugerido pelo STRUCTURE. Os indivíduos estão presentes em condições ambientais diferentes/diversos. Um deles, apresenta tipologia climática CWb - predominante nos planaltos e serras com chuvas no verão e temperaturas amenas: MCG e, o outro ambiente é do tipo BSh – com escassez de chuva e distribuição irregular: JRG. A miscigenação dos indivíduos dessas populações destacado pelo STRUCTURE, pode configurar um ecótipo associado a plasticidade adaptativa desses indivíduos a ambientes contrastantes.

O grupo IV foi formado por JCB e SDE. É o grupo que está inserido na mesma geomorfologia e pertencentes a mesma cadeia montanhosa - Piemonte da Chapada Diamantina como similaridades de clima, altitude e amplitudes térmicas.

Em geral os resultados da separação dos grupos realizados pelo padrão de agrupamento obtido pelo método Neighbor-Joining e PCoA foram consistentes e convergentes. As divergências de agrupamento desses métodos e, os formados pelo STRUCTURE pode ser devido à existência da mistura genômica que favoreceu divergência na classificação. Outro ponto é que o mesmo padrão de centros de similaridade da PCoA foram exibidos na análise Neighbor-Joining e que, no geral, mostrou um nível razoável de diversidade revelado pelos marcadores ISSR.

6.0 CONCLUSÃO

A análise indicou variabilidade genética nas populações de *Medusantha martiusii*, com diferenciação entre as populações. As populações AMD, UMB, ITU, MDC e SAB apresentaram maior diversidade genética enquanto as JRB e MRC apresentaram as menores. Os indivíduos das populações ITU e SDE são os mais similares geneticamente, enquanto os de MRC e JGR são os mais dissimilares, sendo recomendados para uso em programas de melhoramento. Os dados obtidos sugerem atenção em estratégias de coleta e conservação do germoplasma da espécie, com vistas na preservação de pool gênico existente.

7.0 REFERÊNCIAS

ADC, SILVA et al. Genetic diversity and population structure of selected species of *Eplingiella* (Lamiaceae) using ISSR molecular markers. 2023.

AL-HADEITHI, ZEINA SM; JASIM, SAADE ABDALKAREEM. Study of plant genetic variation through molecular markers: An overview. *Journal of Pharmaceutical Research International*, v. 33, n. 45B, p. 464-473, 2021;

CRUZ, C. D. (2006b). Programa Genes - **Biometria**. Viçosa, MG: UFV;

DAS, S. et al. Relationship of status of polymorphic RAPD bands with genotypic adaptation in early finger millet genotypes. **African Crop Science Journal**, v. 17, n. 2, 2009;

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemistry Bulletin**, v. 19, p. 11–15, 1987;

DUAN B, LI W, YU Y, GUAN Y, MU S, LI Z, LI X, KANG X. Microsatellite analysis of genetic diversity in wild and cultivated *Portunus trabeculitis* in Bohai Bay. **Mol Biol Rep** 49:2543–2551.2022.

OLIVEIRA, A et al. Ecogeographic research and essential oil production of *Medusanthus martiusii* (Benth.) Harley & JFB Pastore (Lamiaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-12, 2024.

FELSENSTEIN, J. PHYLIP Phylogeny Inference Package (Version 3.2). **Cladistics**, v. 5, p. 164–166, 1989;

PEGIOU, STELLA et al. Genetic diversity and structure of *Capparis spinosa* L. natural populations using morphological and molecular markers. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 34, p. 100487, 2023;

PEAKALL, R.; SMOUSE P. E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2537-2539, 2012;

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GeneAEx 6.5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching—An Update. **Bioinformatics**, v. 10, p. 1093, 2012;

PRITCHARD, J.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. **Genetics**, v. 155, p. 945–959, 2000;

KOOHDAR, FAHIMEH; SHEIDAI, MASOUD. Genetic diversity and population structure in medicinal plant *Melissa officinalis* L.(Lamiaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 69, n. 5, p. 1753-1758, 2022;

SAMARAKOON, THARANGAMALA; WANG, Shiao Y.; ALFORD, Mac H. Enhancing PCR amplification of DNA from recalcitrant plant specimens using a trehalose-based additive. **Applications in Plant Sciences**, v. 1, n. 1, p. 1200236, 2013.

SCHAAL BA, HAYWORTH DA, OLSEN KM et al. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. **Mol Ecol** 7:465–474. 1998.

SOUZA, F. G. A cidade de Maracás-BA a partir da implantação do projeto de mineração de Vanádio. **Simpósio Cidades Médias e Pequenas da Bahia-ISSN 2358-5293**, v. 1, n. 1, 2014.

VENKATESAN, JAYALAKSHMI et al. Molecular marker for characterization of traditional and hybrid derivatives of *Eleusine coracana* (L.) using ISSR marker. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, p. 1-12, 2021;

YILDIRIM, MERVE; TUĞ, GÜL NILHAN; YAPRAK, AHMET EMRE. Analyses of genetic diversity and population structure of endemic and endangered species *Sideritis gulendarii* (Lamiaceae) and implications for its conservation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-15, 2024.

CAPÍTULO IV

CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE *Medusanthia martiusii* BENTH) HARLEY & JF.B PASTORE

Edvan Assis Oliveira¹, Lenaldo Muniz Oliveira², Laura de Paula Rodrigues da Silva³ ⁴ Mauricio Santana Lordelo.

¹PhD student in Plant Genetic Resources, State University of Feira de Santana, e-mail: eo4001@gmail.com ;

²Postgraduate Program in Plant Genetic Resources, Department of Biological Sciences, State University of Feira de Santana, e-mail: lenaldo.uefs@gmail.com ;

³ Student of the Agricultural Engineering course at the State University of Feira de Santana, e-mail: laurie.paulie@gmail.com.

⁴ Department of Exact Sciences, State University of Feira de Santana, e-mail: mslordelo@uefs.br.

SUMMARY:

Medusanthia martiusii (ex Benth) Harley & JFB Pastore is a medicinal plant of the Lamiaceae family. It is a shrub known by the common name 'alfazema de caboclo' by the people in places of natural occurrence. It is mainly used in health treatments in the form of teas made from macerated leaves. Furthermore, the essential oils have proven activity against insects of relevance to agriculture and health. However, there are no reports of morphological and agronomic characterization of this species, despite its economic importance. The objective of this study was to perform morphoagronomic characterization of 13 populations, located in different regions of the Brazilian state of Bahia, based on 6 qualitative and 12 quantitative descriptors extracted from the leaves, crown and stem. The results indicated significant differences in the variables leaf and stem color, leaf and stem shape, plant architecture, crown morphology and growth habit. Quantitative variables also indicated phenotypic diversity, such as plant height, stem diameter, canopy diameter, canopy shape, number of tillers, leaf area, and leaf dry weight. Multivariate analysis indicated the formation of four distinct groups. We also observed that the ABA and MRC populations were the most dissimilar, while the MDC and JCB populations were the most similar. The results also highlighted the ABA, RDC, JGR, SAB, and CSC populations as those with superior agronomic characteristics, and therefore are indicated for improvement programs.

Keywords: Essential oil, Phenotyping, Medicinal plants, Caatinga

CAPÍTULO IV

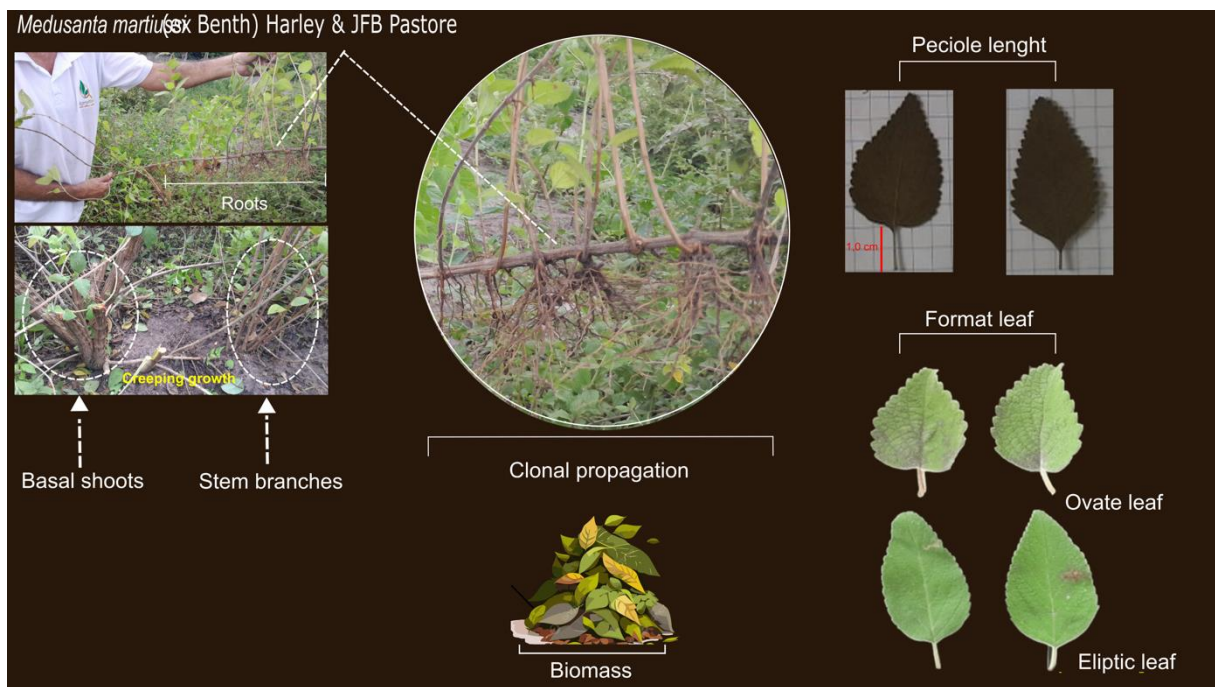
CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE *Medusantha martiusii* BENTH) HARLEY & JF.B PASTORE

1.0 RESUMO:

Medusantha martiusii (ex Benth) Harley & JFB Pastore é uma planta medicinal da família Lamiaceae. É um arbusto conhecido popularmente, nos locais de ocorrência natural, como alfazema de caboclo e usado de forma extrativista na forma chás de folhas maceradas em tratamentos de saúde. Os óleos essenciais apresentam atividade comprovada contra insetos de relevância para a agricultura e saúde. Não há relatos de dados de caracterização morfológica e agronômica dessa espécie, apesar da sua importância econômica. O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização morfoagronômica de 13 populações, coletadas em diferentes regiões do estado da Bahia-Brasil, com base em 6 descritores qualitativos e 12 quantitativos, mensurados nas folhas, copa e caule. Os resultados apontaram diferenças significativas nas variáveis cor da folha e caule, formato das folhas e caules, arquitetura das plantas, morfologia da copa e hábito de crescimento. Variáveis quantitativas também indicaram diversidade fenotípica, como na altura da planta, diâmetro do caule, diâmetro da copa, formato da copa, número de perfilhos, área foliar, peso seco da folha. A análise multivariada apontou a formação de 4 grupos distintos. Também foi possível observar que as populações ABA e MRC foram as mais dissimilares enquanto as populações MDC e JCB as mais similares. O estudo também destacou as populações ABA, RDC, JGR, SAB e CSC como as que apresentaram características agronômicas superiores e, por isso, indicadas para programas de melhoramento da espécie.

Palavras-Chave: Óleo essencial, Fenotipagem, Plantas medicinais, Caatinga

2.0 RESUMO GRÁFICO



3.0 INTRODUÇÃO

O gênero *Medusantha* Harley & JFB Pastore apresenta distribuição no Brasil, facilmente reconhecido pelas flores em capítulos globosos de bractéolas filiformes e macias, constituído por apenas oito espécies (Harley & JFB Pastore, 2012). A espécie *Medusantha martiussi* (ex Bent) Harley & J.F.B.Pastore possui um formato arbustivo e, apesar de ampla distribuição, é típica do Bioma Caatinga na região semiárida do nordeste brasileiro (Harley & JFB Pastore, 2012), habitando, predominantemente, locais com solos ácidos, bem drenados e de baixa fertilidade (Oliveira E.A., 2024).

Medusantha martiussi é um arbusto bastante aromático, conhecido popularmente como alfazema de caboclo. O óleo essencial produzido por suas folhas possuem atividade comprovada contra insetos de relevância para a agricultura e a saúde, como a *Bemisia argentifolii* e *Aedes aegypti* (Araújo et al., 2003). Outros estudos comprovaram sua ação antimicrobiana (Coutinho et al., 2008) e citotóxica (Araújo et al., 2006). Na medicina popular o chá de macerado de folhas é bastante usado em tratamentos de doenças gástricas e intestinais, bem como suas raízes são comumente utilizadas nas inflamações de ovários (Agra et al., 2008).

Embora *Medusantha martiusii* seja amplamente utilizada pelas comunidades locais, tanto na fitoterapia quanto como no manejo de pragas, o crescente extrativismo sem manejo sustentável e a fragmentação de seu habitat natural colocam em risco não apenas a manutenção das populações silvestres, mas também a variabilidade genética necessária para sua adaptação a mudanças ambientais e pressões de coleta (Silva et al., 2021). Sem um mapeamento detalhado da diversidade intra e interpopulacional, corremos o perigo de perder genótipos com potencial agrônomo e farmacológico antes mesmo de conhecê-los (Costa et al., 2020). Além disso, a heterogeneidade fenotípica pode indicar ecótipo adaptados a diferentes microclimas do semiárido, informação imprescindível para orientar estratégias de conservação ex-situ e uso sustentável em programas de melhoramento e de produção de óleo essencial (Lima et al., 2019). Dessa forma, a caracterização ecogeográfica e morfo-agronômica torna-se urgente, não só para embasar políticas de proteção e manejo da espécie na Caatinga, mas também para valorizar e ampliar seu uso em biotecnologia, fitoterápicos e controle biológico de pragas.

Por ser uma espécie não domesticada e apresentar amplo uso popular, via extrativismo, estudos sobre o grau de variação de suas populações remanescentes são essenciais. Variações intra e interpopulacionais frequentemente tem implicações importantes para adaptação da espécie, contribuindo para o entendimento dos mecanismos e fatores de adaptação das espécies vegetais (Zhang et al., 2022). Além disso, o estudo da diversidade fenotípica de uma espécie agrega valor a esse recurso genético, de forma que as informações geradas aumentem a sua utilização (Paiva et al., 2019). Descritores morfológicos e agronômicos podem contribuir para uma análise mais abrangente da diversidade genética em várias plantas (Long et al., 2020) e, também, favorecer a obtenção de informações importantes que permitam ampliar o entendimento da diversidade da espécie.

A caracterização da diversidade fenotípica de uma espécie se fundamenta em descritores visualmente acessíveis, como cor, formato, peso e hábitos de crescimento (Zhao et al., 2021). Dados de diversidade em vegetais são úteis para incrementar programas de conservação da espécie e melhoramento genético de plantas, melhorando a qualidade no uso e aplicações como aumento dos valores nutricionais e medicinais, além de características agronômicas importantes como, tolerância a estresse bióticos e abióticos (Roughani et al., 2018). Estudos assim, permitiram a identificação da variabilidade genética existente em *Lippia origanoides* Kum, (Feijó et al., 2024) e *Eplingiella fruticosa* (Silva et al., 2024) espécies vegetais de importância medicinal com aptidão na produção de óleos essenciais.

Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo a caracterização morfoagronômica de 13 populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B. Pastore.

4.0 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Coleta e cultivo dos genótipos

Foram coletados 13 genótipos da espécie *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.B.F. Pastore em diferentes municípios do estado da Bahia, Brasil (tabela 1). Seis plantas matrizes de cada genótipo foram coletadas e transferidas para vasos plásticos com capacidade para 10 litros, preenchidos com terra vegetal e mantidas em casa de vegetação, na Estação Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEHF/UEFS), em Feira de Santana, Bahia, Brasil, com coordenadas 12° 15' 24" S e 37° 57' 53" W e altitude de 234m.

Tabela 01: Local de coleta, código identificação, coordenadas geográficas e meso região dos sítios de ocorrência natural dos 13 genótipos de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.B.F. Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2021

Código	Município	Coordenadas		Mesorregião
		Lat.	Long.	
MRC	Maracás	13°27'58" S	40°30'59" W	Centro Sul
ABA	Abaíra	13°15'31" S	41°40'35" W	Centro Sul
SAB	Seabra	12°25'07" S	41°47'36" W	Centro Sul
BNN	Boninal	12°42'03" S	41°49'40" W	Centro Sul
MDC	Morro do Chapéu	11°38'22" S	40°58'47" W	Centro Norte
JCB	Jacobina	11°05'59" S	40°41'58" W	Centro Norte
UMB	Umburana	10°41'40" S	41°17'26" W	Centro Norte
SDE	Saúde	10°55'49" S	40°24'41" W	Centro Norte
CSC	Cansanção	10°39'22" S	39°32'24" W	Nordeste
FLF	Filadélfia	10°22'09" S	40°08'12" W	Centro Norte
JGR	Jaguarari	10°24'44" S	40°19'42" W	Centro Norte
JRB	Jeremoabo	09°56'49" S	38°17'06" W	Nordeste
RDC	Jeremoabo II	09°47'55" S	38°29'54" W	Nordeste

Cada genótipo foi propagado vegetativamente, através de estacas de 15 cm retiradas do terço médio das plantas matrizes e cultivadas em sacos de polietileno de 15cm x 25cm, preenchidos com mistura de substrato comercial (Topstrato®) + terra vegetal na proporção de 1:1. As estacas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas manualmente 3 vezes na semana. As estacas permaneceram nessas condições até o enraizamento e formação das mudas, que ocorreu por volta dos 90 a 100 dias.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro blocos e quatro plantas por unidade estatística, totalizando 16 plantas por genótipos, com cada genótipo representando um tratamento. As mudas foram plantadas em covas adubadas com 1 litro de esterco bovino e dimensões de 20 x 20 x 20 cm, em espaçamento de 2,0 m entre linhas e 1,5 m entre plantas, em uma área de 763 m² com um total de 288 plantas. Durante o cultivo foram realizadas capinas manuais sempre que necessário e irrigações em dias alternados, de forma a garantir boas condições de umidade e redução das plantas invasoras.

4.2 Caracterização morfológica e agronômica.

A caracterização morfológica foi realizada com base em descritores qualitativos e quantitativos com as plantas em fase de floração (entre 14 e 20 meses), para garantir padronização e igualdade das fenofases de todos os genótipos. Os atributos qualitativos para folha foram: formato da folha(FF), formato do ápice(FA) e base foliar(FB) e coloração da folha(FC). Para o caule foram usados os parâmetros de cor (CC) e formato (FC). Formato da copa(CF) densidade da copa (DC) e arquitetura da copa(AC). Os atributos quantitativos foram: comprimento(CF) e largura foliar(LF), comprimento de pecíolo(CP) e área foliar(AF), altura da planta(H), diâmetro da copa(DCo), diâmetro do caule(Dca) e número de perfilho formados na base da planta(NuPe). As características agronômicas avaliadas foram massa fresca(MFF) e seca de folhas(MSF), Massa fresca caule (MFCa), Massa seca Caule(MSCa). Para determinação do peso seco total das planta foi deduzido do peso total de folhas/plantas o valor percentual correspondente a água. Instrumentos de medição como paquímetro digital, trena retrátil, balança digital e de precisão, além da carta de Mansel foram utilizados como apoio na aferição dos dados em campo.

Na análise qualitativa (folhas e caules) nos atributos de cor e formato foram escolhidas aleatoriamente 5 folhas por planta/ parcela útil, coletadas no terço médio de cada planta e totalmente expandidas. Para o caule, a coloração e formato foram realizadas em observações de 3 plantas/população /parcela útil. Para os descritores quantitativos de largura e comprimento foliar foram usadas 30 folhas por planta em cada parcela útil (03 plantas) totalizando assim, 360 folhas por população. A área foliar foi obtida com 5 amostras de 10 folhas por planta/parcela útil. Para obtenção da massa seca as 5 amostras (60 folhas) de cada genótipos, foram pesadas e, em seguida,

foram depositadas em estufa com circulação forçada de ar, até peso constante, obtendo-se ao final o teor médio de água das amostras.

4.3 Análise estatística

Os resultados foram analisados por meio de técnicas de análise multivariada, como análise de agrupamento, variáveis canônicas e importância relativa das características. A distância de Mahalanobis foi utilizada como medida de dissimilaridade para a análise de agrupamento. A formação dos grupos foi realizada por meio do método hierárquico Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average (UPGMA). Para estabelecer o corte (melhor definição de n° de grupos) no dendograma, utilizou-se o método de Mojema (1977). A importância relativa das variáveis para a divergência genética foi determinada de acordo com o modelo de Singh (1981). O teste de média utilizado foi o Skott Knott. Todas as análises foram realizadas com uso do Software R, dos pacotes FactoMineR (Husson et al., 2017) e Factoextra(Kassambara et al., 2017) e o Software Genes (Cruz, 2013).

5.0 RESULTADOS

5.1 Descritores qualitativos

Os dados obtidos demonstram que há heterogeneidade nas características morfológicas de *Medusantha martiussi* nas variáveis qualitativas (Figura1).

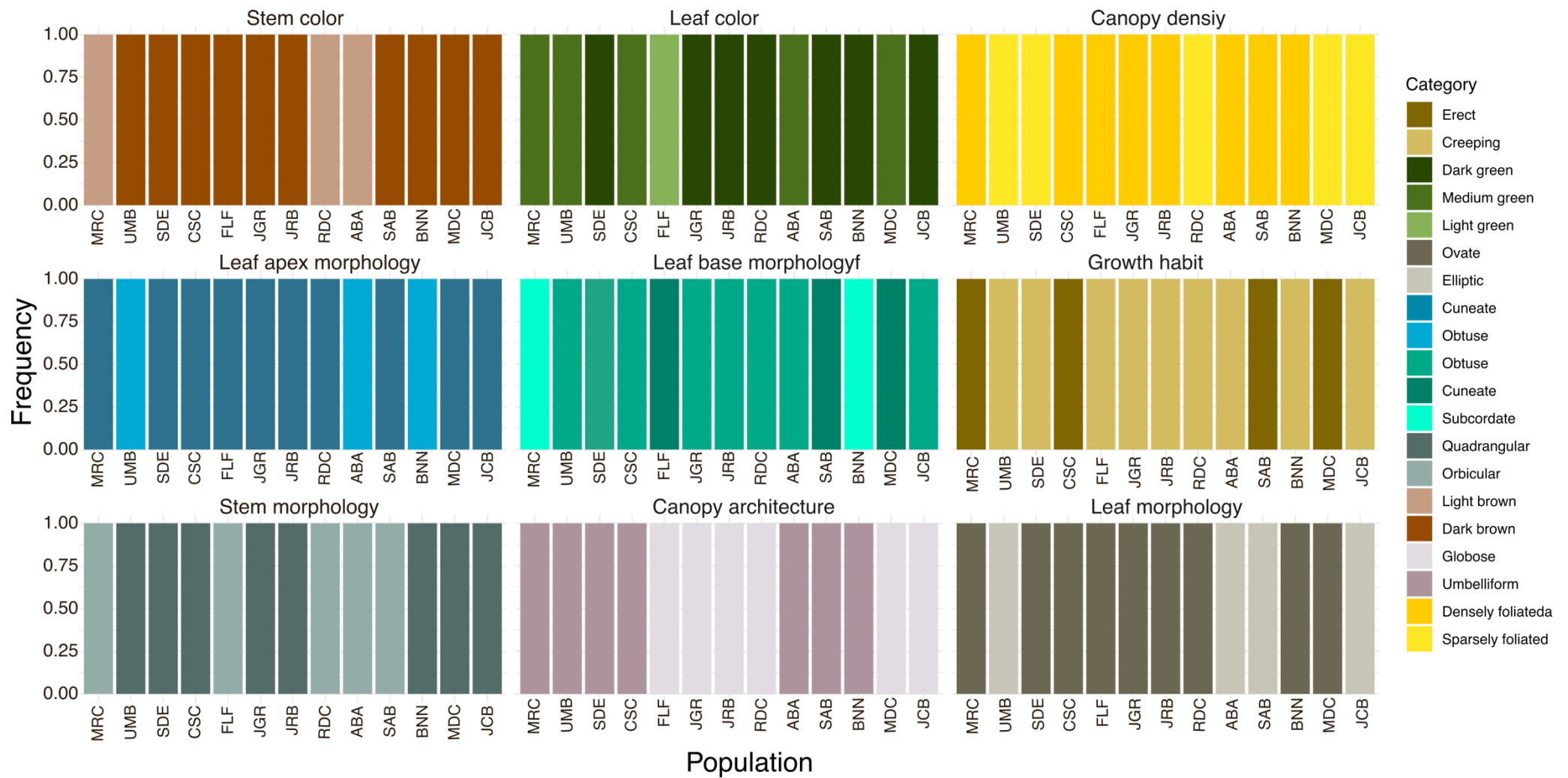


Figura 1: Distribuição dos descritores qualitativos em 13 populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & J.F.B.Pastore coletados no estado da Bahia-Brasil.

Folhas de forma elíptica (70%) foram predominantes em relação ao tipo ovada (30%). As folhas apresentam dois tipos de ápices: um em forma de cunha-cuneada (77%) e outra com formato mais arredondado e obtuso (23%). A base foliar dos genótipos também variou, com a identificação de três formas: com a base mais arredondada e, portanto, obtusa (55%); formato leve de coração – cordada (30%) e com base foliar Subcordada (15%). Por fim, o descritor cor da folha também apontou variação entre as populações, com três cores identificadas: verde claro (8%), verde médio (38%) e verde escuro (54%) (Figura 1).

A coloração do caule também apresentou variação, com ocorrência de duas tonalidades diferentes: marrom escuro (77%) e marrom claro (23%). O formato do caule arredondado predominou (38%) sobre os caules quadrangulares (62%). Na copa, foram identificadas duas arquiteturas distintas: uma em forma de guarda-chuva – umbeliforme (54%) e outra com forma redonda - globosa (46%). Não foram identificadas variações desses atributos dentro de cada população analisada, sugerindo assim, baixa variação intra-populacional nesses aspectos.

5.2 Descritores quantitativos

A análise de variância apontou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as populações de *M. martiussi* (ex Benth) em 10 dos 12 descritores quantitativos analisados. O teste de Scott Knott apontou diferenças estatisticamente significativas para os descritores peso seco de folha (PSF), peso seco de caule (PSC), altura da planta (H), diâmetro de copa (DC), diâmetro do caule (DCa), nº de perfilos (NuPe), área foliar (AF), comprimento do pecíolo (CP), comprimento da folha (CF), e a relação comprimento x largura da folha (C/L). Já para os descritores peso fresco de folha (PFF), peso fresco de caule (PFC) e largura da folha (LF) não foram detectadas diferenças significativas.

A altura da planta (H) variou de 1,29m (CSC) a 2,82 m (FLF) entre as populações, com separação em três grupos: grupo de plantas mais baixas (CSC e UMB), de altura intermediária (SAB, SDE e JCB) e o grupo com plantas de maiores alturas (BNN, JRB, MDC, RDC, JGR, ABA e FLF) (Figura 2A). Para o diâmetro da copa (DC) também houve diferença significativa, com valores variando de 1,44

m(CSC) a 3,37m (FLF). Para o diâmetro do caule (DC) verificou-se a formação de 2 grupos, com valores entre 22mm (CSC) a 58mm (JRB) (Figura 2B).

Para o número de perfilhos (NuPe), três (3) grupos foram separados, com valores entre 1,66 (MDC) a 12,66 (SDE) (Figura 2C). Para a área foliar (AF) os resultados apontaram grande diversidade fenotípica, com a formação de cinco grupos e valores variando entre 25,12cm² (MRC) a 127,09cm² (ITU) (Figura 2E). O comprimento do pecíolo (CP) também apresentou variação fenotípica e formação de dois grupos diferentes, variando entre 5,73mm (MDC) e 14,43mm (ITU) (Figura 2G). O comprimento da folha (CF) ficou entre 32,85mm (JCB) a 59,64mm (SAB) com diferenças significativas e formação de dois grupos (Figura 2F). A relação entre comprimento x largura da folha (C/L) foi superior a 1 e com variação entre 1,15 (JRB) a 2,019 (JCB) (Figura 2H). O peso seco de folha (PSF) variou entre 0,533 Kg por planta (SAB) a 1,85 Kg (SDE), com formação de dois grupos (Figura 2I). O peso seco do caule também foi significativo e variou de 0,726 (CSC) a 5,33 Kg por planta (FLF).

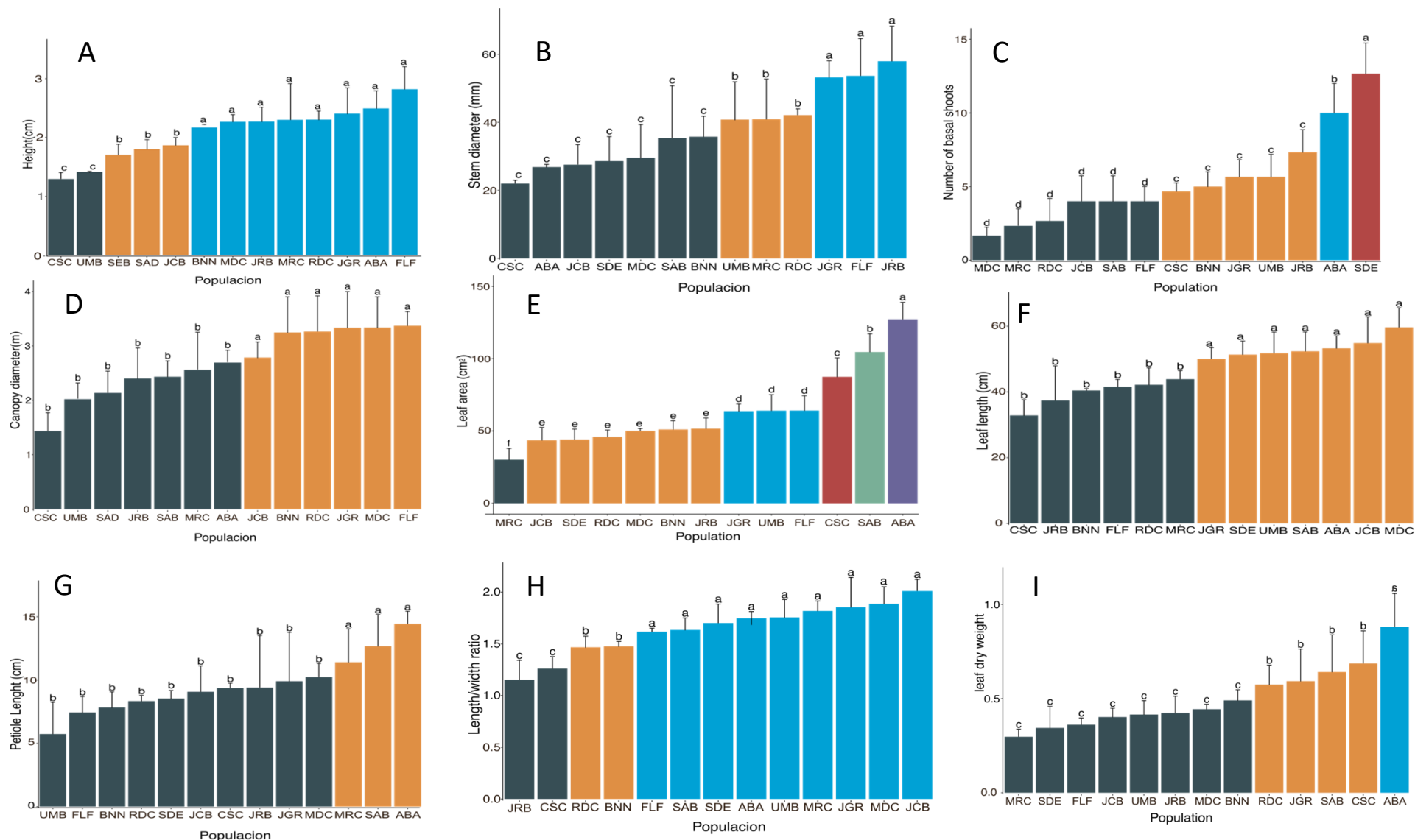


Figura 2: Valores médios dos descritores morfológicos de populações de *Medusantha martiusii* (ex Benth) Harley & J.B.F Pastore coletadas em 13 localidades no estado da Bahia- Brasil. (A) Altura, (B) Diâmetro caule, (C) N° Perfilhos, (D) Diâmetro copa, (E) Área foliar, (F) Comprimento folha, (G) Comprimento pecíolo, (H) Relação comprimento/Largura, (I) Peso seco folha.

Através da matriz de dissimilaridade de Mahalanobis foi realizada a análise de agrupamento – método UPGMA - com o propósito de identificar possíveis padrões entre populações de *M.martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore, tendo como base descritores morfológicos quantitativos analisados. (Figura 3A).A análise indicou a formação de 4 grupos distintos (Figura 3A): grupo I isolado com um único representante CSC; grupo II também isolado e formado somente por SDE; grupo III composto por três populações: MDC, ABA e SAD e, por fim, o grupo IV – o maior entre eles, formado por JRB, UMB, FLF, JGR, BNN, RDC, MRC e JCB. A análise indicou ainda maiores contribuições relativas para os descritores área foliar (AF) e comprimento da folha (CF), com contribuições de 30% e 25%, respectivamente.

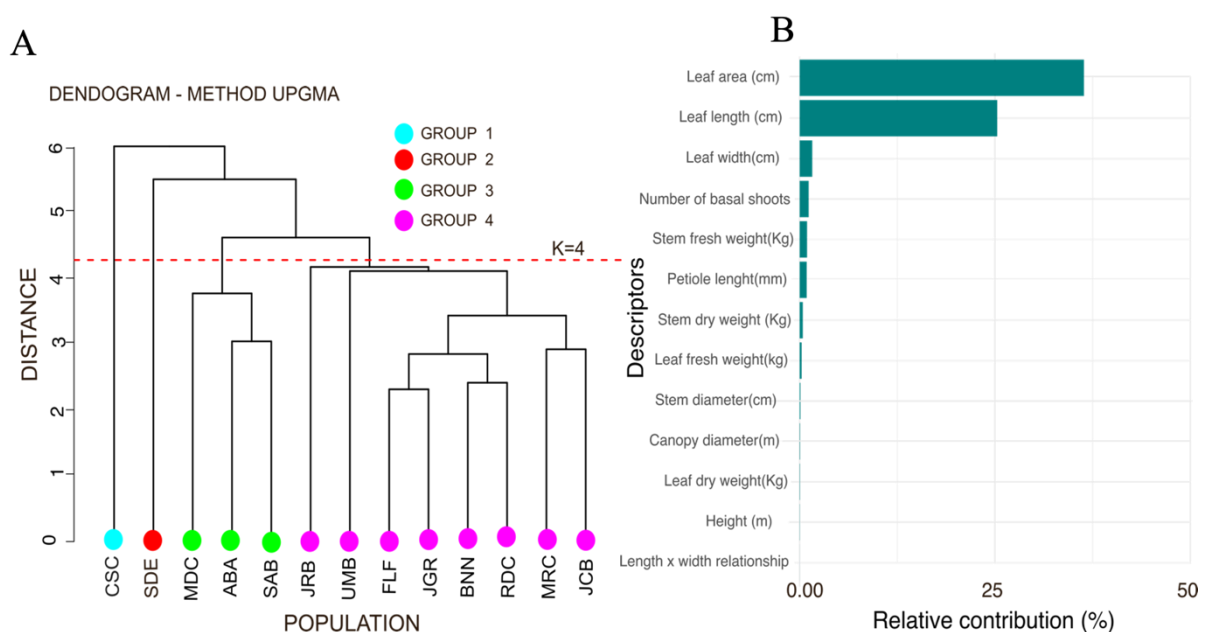


Figura 3: A-Dendrograma de dissimilaridade fenotípica formado a partir de 12 descritores morfológicos usando método UPGMA. B – Contribuição relativa - SINGH (1981), de dez descritores morfológicos na análise da diversidade fenotípica de 13 populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore coletadas no estado da Bahia-Brasil

A análise de PCA apontou que duas variáveis explicaram 53,3% da variação. O Eixo 1 (CP1) capturou 35,3% (Figura 4A) da variância dos dados e agrupou as populações JCB, JGR, BNN, FLF, MRC, RDC, JRB e UMB, sendo que o peso fresco de folha, peso fresco de caule, diâmetro da copa e altura da planta apresentou as maiores cargas nesse eixo. Já a CP2 respondeu por 18% (Figura 4B) da variação e teve como variável de maior carga os atributos área foliar, largura e comprimento do pecíolo. Essa coordenada separou melhor as populações ABA, SAB e MDC. Como destacado na análise de agrupamento anterior, a PCA também indicou o isolamento de duas populações: CSB e SDE.

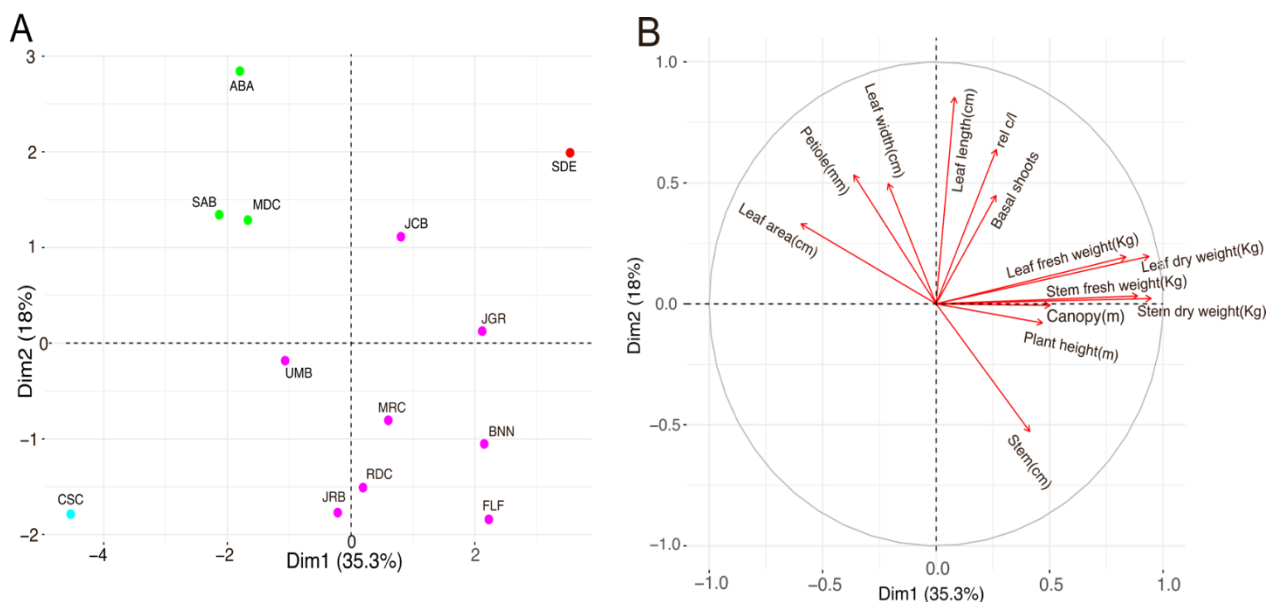


Figura 4: A- Pontos de agrupamento de populações de *Medusantha martiussi* (ex Benth) Harley & JBF Pastore em duas componentes principais (CP1 e CP2). B - Vetores de contribuição de cada variável na formação dos componentes com base em dados morfológicos quantitativos de 13 populações.

6.0 DISCUSSÃO

Medusantha martiussi (ex Benth) Harley & JFB Pastore é amplamente distribuída no Brasil, mas é na região nordeste - no bioma Caatinga, que é encontrada com maior intensidade e frequência. O habitat predominante, portanto, ocorre em regiões com escassez de chuva, o déficit hídrico, as elevadas temperaturas, a intensa radiação solar e os solos de pouca fertilidade (Oliveira et al., 2024). A espécie é semiarbórea com caule herbáceo, lenhoso e bem ramificado, com muitas hastes e galhos delgados (densa), entretanto, os dados obtidos indicam variação morfológica entre as populações estudadas. Caules eretos foram encontrados nas populações MRC, CSC, SAB e BNN, enquanto as populações de JRB, RDC, ABA, MDC e JCB apresentaram crescimento espalhado, com uma notável existência de ramos rastejantes, rentes ao solo, com desenvolvimento horizontal ao longo da superfície do solo, formando estolões e emissão de raízes nos nós e, conseqüentemente, formação de descendentes clonais. Essa característica pode explicar, em parte, a ocorrência da espécie em populações pequenas, porém densas, facilmente identificáveis. Normalmente, o crescimento ereto facilita a colheita e aumenta a resistência a doenças transmitidas pelo solo (Truong et al., 2024), além de favorecer uma exposição máxima e uniforme à luz solar, resultando em maior produção de matéria seca e, conseqüentemente, maior rendimento, quando comparado as plantas de crescimento semiereto e prostáticos ou rastejantes (Uddin et al., 2017).

A espécie apresenta folhas com bordas crenadas - recortes simétricos, arredondados e superficiais e com formato em sua maioria elíptico, podendo ser encontrado também em formas ovais. São glabras em ambos os lados (adaxial e abaxial) e possuem um aroma forte e característico, o que contribui para a identificação e uso da planta pelas comunidades em tratamentos medicinais.

A morfologia de plantas pode ser atribuída a fatores genéticos e ambientais. Nesse aspecto, o cultivo das plantas foi conduzido em uma área experimental, nas condições edafoclimáticas de Feira de Santana, Bahia, Brasil, que apresenta características comuns às observadas nos locais de origem das populações coletadas. Essa condição experimental permite afirmarmos que a diversidade morfológica observada seja de natureza genética, e que essas diferenças podem ser exploradas para a seleção de genótipos superiores e mais produtivos. Essa variabilidade genética pode ser explicada pelo fato da espécie possuir

flores de forte atratividade a insetos – com predomínio das borboletas (Harley & J.F.B Pastore, 2012), favorecendo a polinização cruzada e dando origem a diversos pools de materiais genéticos. Consistente a isso, em nosso estudo recente com a espécie com uso de marcadores moleculares(ISSR), observou-se grande variabilidade genética entre as populações de *M.martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore (dados ainda não publicados).

As populações examinadas também foram significativamente diferentes na altura da planta. Essa variável é considerada uma característica agrônômica importante que contribui para um alto rendimento, pois plantas baixas são mais resistentes ao acamamento do que as altas. Atualmente, os esforços de melhoramento de muitas plantas medicinais visam à limitação do crescimento dos meristemas laterais nas articulações do caule de uma planta e, nesse contexto, as populações de caule curto podem ser úteis para o processo de melhoramento (Morozov, A. I.; Khazieva, F. M.,2020). Segundo Taleb & Shamim (2021) a altura de plantas medicinais está ligado ao crescimento e desenvolvimento e pode variar significativamente entre as diferentes espécies e estar relacionado a seus hábitos de crescimento e adaptabilidade a condições específicas do habitat. A altura de planta também é um fator importante no processo de colheita da planta.Da mesma forma, verificou-se variações significativas para o diâmetro do caule, mostrando a existência de variabilidade entre as populações (Figura 2). Esse parâmetro, entre outros, é um indicador do vigor da planta, pois um caule de diâmetro maior geralmente indica que a planta é capaz de acumular mais recursos, o que pode ser crucial em condições adversas, refletindo também uma melhor adaptação ao ambiente e resistência ao acamamento (Shirzadi et al., 2023). O diâmetro do caule da planta também está associado a processos fisiológicos importantes, como a eficiência na fotossíntese e a resistência à seca, que são essenciais para a sobrevivência em habitats estressantes, como alguns ambientes de crescimento e desenvolvimento da *M.martiussi* (ex Benth) Harley & JFB Pastore.

O número de perfilhos – emissão de caules secundários na base da planta - também foi um caráter importante na diferenciação dos genótipos. As maiores emissões desses ramos basais foram encontradas nas populações coletadas em ABA e SDE. São genótipos de crescimento rastejantes e este hábito pode ter relação com elevados números de perfilhos basais encontrados. O número de perfilhos é comumente associado a uma medida de capacidade regenerativa que pode ajudar a entender a performance de cada

planta no que diz ao seu crescimento, desenvolvimento e estabelecimento no ambiente, como observado por Truong et al (2023) em estudos com *Centella asiática* L., uma planta medicinal com hábito de crescimento de caules rastejantes e horizontal, rente ao solo. Já em *Amygdalus scaparia* Spach – outra espécie de uso medicinal, Shirzadi et al.(2023) também associou o número de emissão de ramos secundários e sub-ramos (perfilhos) as plantas que possuíam potencial ampliado em adaptar-se em ambientes variados. Sabe-se que grande parte do ambiente de desenvolvimento de *M.martiussi* está sob forte pressão antrópica, principalmente devido à incidências frequentes de queimadas, e este pode ser uma traço adaptativo por favorecer a rebrota, ressurgindo novas plantas e garantido a sustentabilidade da espécie no local.

A área foliar e comprimento da folha são atributos importantes em se tratando de plantas medicinal e aromáticas, tendo em vista a maior ocorrência de estruturas secretoras do óleo essencial nesse órgão. Nesse estudo, esses parâmetros foram os descritores mais importantes na análise da diversidade fenotípica da espécie, segundo a análise de SINGH(1981)(Figura 3B). A área foliar está diretamente associada a respostas adaptativas da planta, como forma de otimizar as funções de síntese, transpiração e resistência ao estresse do ambiente (Taleb, M. A.; Shamim, A.H.M., 2023), em face da diversidade ambiental de sua ocorrência a fatores ambientais, como altitude, precipitação e temperatura. Em estudo com *Ocimum basilicum* L. realizado por Gossa et al.(2023), verificaram que a diversidade fenotípica em estruturas das plantas sinalizavam importante variabilidade genética na espécie, capazes de subsidiar na identificação de genótipos com potencial de uso no melhoramento genético, por exemplo. A variável peso seco das folhas também contribuiu para a distinção entre os genótipos. Segundo Truong et al. (2024), esse parâmetro é um descritor importante, pois está diretamente ligado a produtividade da planta, bem como a sua eficiência como fonte dos bioativos, impactando a quantidade de fitocompostos desejáveis que podem ser extraídos e utilizados na medicina tradicional e na produção de fitoterápicos.

Ressalta-se aqui, que a espécie em estudo é bastante aromática, sendo os óleos essenciais o produto de maior interesse na espécie, tendo os tricomas presentes nas folhas a maior fonte desses compostos. Nesse aspecto, os genótipos coletados em ABA, seguidos dos coletados em RDC, JGR, SAB e CSC apresentam característica superiores para uso

em programas de melhoramento da espécie, visando o aumento da produtividade de óleo essencial (Figura 2E e 2I).

7.0 CONCLUSÃO

O estudo revelou uma variabilidade morfológica significativa entre as populações estudadas, que podem auxiliar em ações de coleta e conservação do germoplasma da espécie. As maiores variações que contribuíram para separar as populações foram observadas na área foliar, número de perfilhos e peso seco da folha. As maiores distâncias genéticas ocorreram entre as populações MRC e ABA e as menores entre MDC e JCB. Os genótipos coletados em ABA, RDC, JGR, SAB e CSC apresentam características agrônomicas superiores, sendo indicadas para uso em programas de melhoramento da espécie.

8.0 REFERÊNCIAS

AGRA, Maria de Fatima et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.

ARAÚJO, E.C. et al. Cytotoxic abietane diterpenes from *Hyptis martiusii* Benth. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 61, p. 177-183, 2006.

ARAÚJO, E. C. C. et al. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 3760-3762, 2003.

CARVALHO SILVA, Anderson de et al. Assessment of the genetic diversity of *Eplingiella fruticosa* (Salzm. ex Benth.) Harley & JFB Pastore (Lamiaceae) based on morpho-agronomic markers and chemical composition of essential oils. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 8, p. 4825-4842, 2024.

DA SILVA FEIJÓ, Emily Verônica Rosa et al. Genetic diversity of *Lippia origanoides* Kunth based in morpho-agronomic descriptors and chemical variability of the essential oils. **South African Journal of Botany**, v. 169, p. 350-360, 2024.

CRUZ, C.D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013

GOSSA, AYNALÉM GEBRE; ASFAW, BIZUAYEHU TESFAYE. Diversity of Ethiopian sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) germplasm for quantitative morphological traits. **Flora**, v. 304, p. 152313, 2023.

HARLEY, R. M.; PASTORE, J. F. B. A generic revision and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. **Phytotaxa**, v. 58, p. 1–55-1–55, 2012.

HUSSON, Francois et al. Package ‘factominer’. **An R package**, v. 96, n. 96, p. 698, 2016.
KASSAMBARA, Alboukadel et al. Package ‘factoextra’. **Extract and visualize the results of multivariate data analyses**, v. 76, n. 2, p. 10.18637, 2017.

MOROZOV, A. I.; KHAZIEVA, F. M. RESULTS AND PECULIARITIES OF THE BREEDING OF MEDICINAL PLANTS IN RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE OF MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS. **Pomiculture and small fruits culture in Russia**, v. 58, p. 265-272, 2020.

LONG, Juechen et al. Genetic diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm resources in Chongqing, evidenced by morphological characterization. **Frontiers in genetics**, v. 11, p. 697, 2020.

MOJENA, RICHARD. **Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation**. The Computer Journal, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977

MOROZOV, A. I.; KHAZIEVA, F. M. Results and peculiarities of the breeding of medicinal plants in Russian research institute of medicinal and aromatic plants. **Pomiculture and small fruits culture in Russia**, v. 58, p. 265-272, 2020.=

R Core Team (2023) R: **A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <https://www.R-project.org/>.

SHIRZADI, IMAN; YAVARI, ALIREZA; HADADINEJAD, MEHDI. Evaluation of morphological diversity of different ecotypes of *Amygdalus scoparia* Spach: A medicinal plant resistant to hard environmental conditions. **Journal of Medicinal plants and By-Products**, v. 12, n. 2, p. 125-133, 2023.

TALEB, M. A.; SHAMIM, A.H.M. Green Global Foundation©. **Int. J. Sustain. Crop Prod.**, v. 16, n. 3, p. 5-15, 2021.

TRUONG, HAI THI HONG et al. Morphological, phytochemical and genetic characterization of *Centella asiatica* accessions collected throughout Vietnam and Laos. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 31, n. 1, p. 103895, 2024.

PAIVA, Samuel Rezende et al. Caracterização de recursos genéticos. **PAIVA, SR et al**, 2019.

UDDIN, S., ALAM, K., HOQ, O., E NURI, ZN. O uso terapêutico de *Centella asiatica* . **Int. J. Chem. Stud.** 1, 21–26.2017.

ROUGHANI, AFRA et al. Genetic variation within Iranian *Lepidium* species using morphological traits. In: **The First National Congress and International Fair of Medicinal Plants and Strategies for Persian Medicine that Affect Diabetes**. 2018. p. 9-11.

ZHANG, ZHENG et al. A study on the phenotypic diversity of *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) ying. **Pak. J. Bot.**, v. 54, n. 6, p. 2291-2302, 2022.

ZHAO, YICHEN et al. Genetic diversity of ancient *camellia sinensis* (L.) o. kuntze in sandu county of Guizhou Province in China. **Diversity**, v. 13, n. 6, p. 276, 2021

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Medusantha martiusii* (Benth) Harley & JBF Pastore destaca-se pela riqueza do potencial do seu óleo essencial com atividades comprovadas tanto como fitoterápicos – anti-inflamatória, citotóxica de aplicação na saúde, como inseticida com uso na agricultura. Popularmente conhecida como alfazema-de-caboclo, essa espécie vem sendo explorada por meio do extrativismo, o que evidencia a necessidade de estudos aprofundados que abordem não apenas seu potencial terapêutico, mas também aspectos ecológicos e práticas de manejo sustentável, visando evitar a sobre-exploração e assegurar sua disponibilidade para as futuras gerações.

A escassez de dados da espécie fortalece o ineditismo desse estudo com obtenção de importantes dados, obtidos através da caracterização sobre a ótica ambiente-planta.

No capítulo I foi abordado estudos ecogeográficos da espécie. A análise permitiu compreender a distribuição natural da espécie, suas exigências ambientais, variações morfofisiológicas em diferentes ecossistemas e zonas de adaptação, fornecendo subsídios para estratégias de conservação *in situ* e *ex situ*. Aqui, foi revelado a predileção da espécie por solos de baixa fertilidade, bem como sua plasticidade adaptativa a ambientes contrastantes como os encontrados em CSC, JRB, JGR e os encontrados em MRC, ABA e MRC, por exemplo. Já no Capítulo II, a tese investigou as sementes e destacou divergências físico-químicas entre elas principalmente na área e presença de grupos orgânicos funcionais importantes na qualidade fisiológica que podem ser usadas em estratégia de coleta. No capítulo III, através da genotipagem, foi possível compreender a variação genética dentro e entre as populações de *Medusantha martiusii*. Através da análise do DNA foi possível identificar a presença de populações bem específicas, com estrutura dos seus indivíduos formado por poucos grupos genéticos, a exemplo de MRC e, que por isso, demanda atenção especial em estratégias de conservação. O estudo também aponta que pela forma como as populações estão estruturadas, existe necessidade de estabelecer estratégias de coletas com populações que pertençam a grupos gênicos diferentes como forma de representar a maior diversidade da espécie. No Capítulo IV os resultados encontrados também foram apoiados pela análise da diversidade genética. Dados estatísticos mostraram diferenças significativas em descritores quantitativos. O capítulo

ainda apontou ABA, RDC, JGR, SAB e CSC características agronômicas interessantes, sendo indicadas para uso em programas de melhoramento da espécie.

Por fim, é fundamental destacar o caráter inédito da pesquisa tendo em vista a falta ou escassez dos dados dessa natureza na espécie. Ainda assim, há lacunas a serem preenchidas e estudadas como por exemplo, estruturas secretora, melhor forma de propagação, época de coleta etc.

APENDICE A – CAPÍTULO I

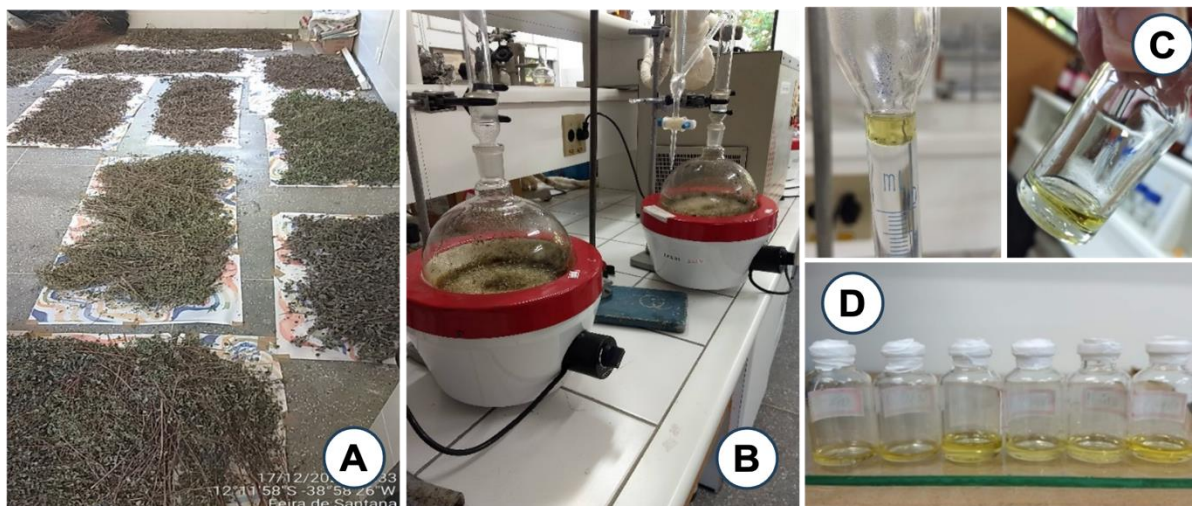
FIGURA 1 Registro da expedição de coleta de dados, A- amostras de solo e georreferenciamento. B- sonda de extração de solo. C – Estacao Ecológica Raso da Catarina (Ba) D – Identificacao e coleta de material biológico(exicata, plantas, folhas e sementes) D- Veículo uado durante a expedição. Bahia, Setembro de 2021 a marco de 2022.



APENDICE A - CAPÍTULO I

FIGURA 2

Processo de extração de óleo essencial por hidrodestilação a vapor. A – Sacagem e desidratação. B – Hidrodestilação uso manta térmica C- Medicação e purificação. D- embalagem e acondicionamento.



APENDICE B - CAPÍTULO III

TABELA 1:

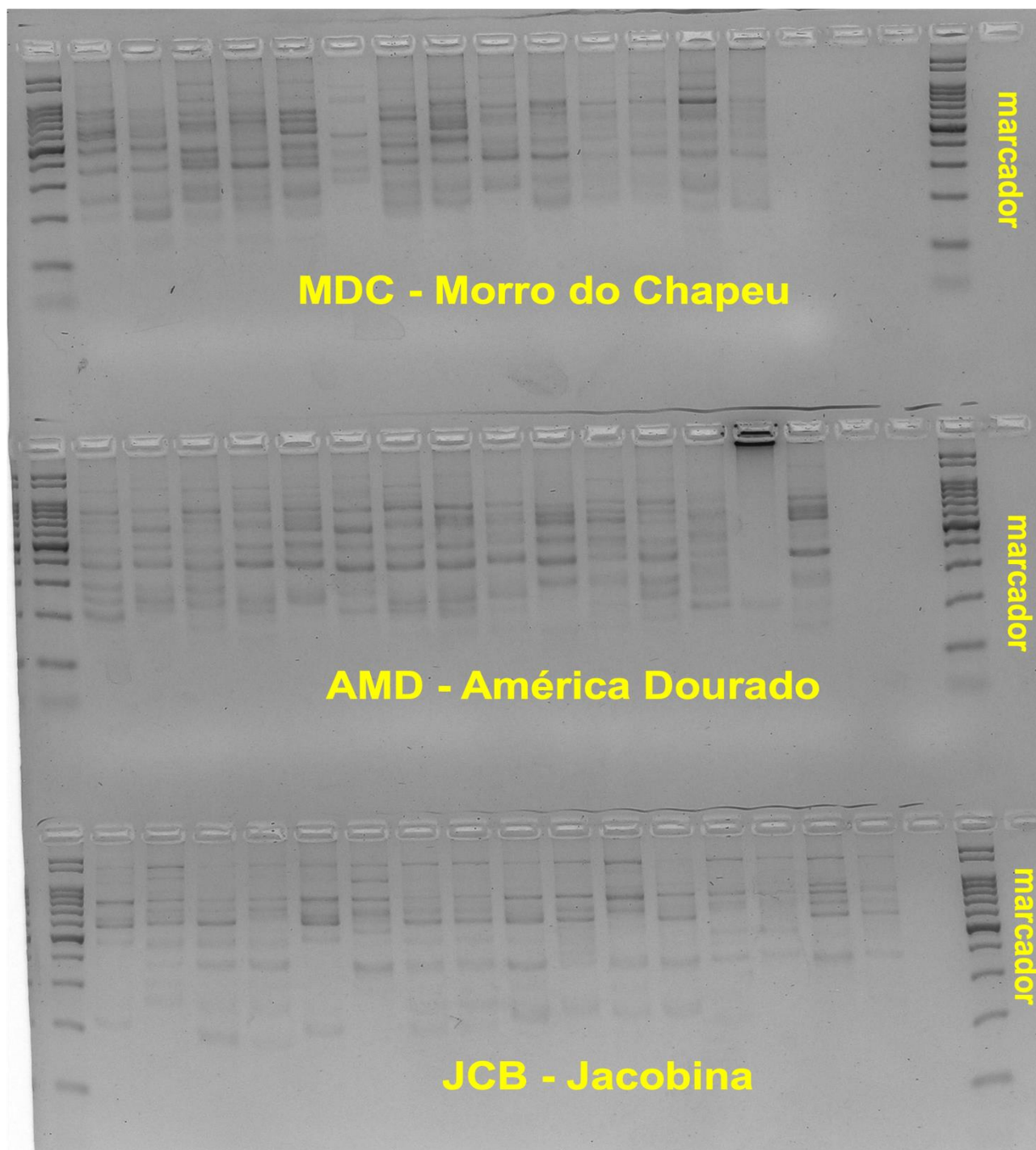
Análise de variância molecular – AMOVA a partir de dados de marcadores moleculares ISSR em acessos de 15 populações de *M. martiusii* (Ex Benth) Harley & JFP. Pastore, coletados no estado da Bahia-Brasil.

FV	GL	SQ	QM	VARIANCIA (%)	°ST	P
Entre	14	1010.960	72.211	14.01	0.1402	0.001**
Dentro	224	4496.538	20.073	86.00		0.001**

** Significante a 5% de probabilidade de acordo com o teste F

APENDICE B - CAPÍTULO III

FIGURA 1 Géis de eletroforese com destaque das bandas do prime DAT.
do DNA total de *Medusantha martiussi* Harley & JFB Pastore.



APENDICE C - CAPÍTULO IV

FIGURA 1:

Morfologia de crescimento e formacao de perfilhos encontrados em populacoes de plantas de *Medusantha martiusii* no estado da Bahia-Brasil.



APENDICE C – CAPÍTULO IV

FIGURA 2:

Diversidade fenotípica das folhas e formas de crescimento encontrada em indivíduos de 13 populações de *M.martiussi* localizados no estado da Bahia-Brasil.

