



RAPHAEL REIS DA SILVA

**RELAÇÕES DA IRRADIÂNCIA COM O CRESCIMENTO E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM PLANTAS DE *MORINGA OLEIFERA***

LAVRAS-MG

2018

RAPHAEL REIS DA SILVA

**RELAÇÕES DA IRRADIÂNCIA COM O CRESCIMENTO E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM PLANTAS DE *MORINGA OLEIFERA***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Dr. Amauri Alves de Alvarenga

Orientador

Prof.^a Dra. Fernanda Carlota Nery

Coorientadora

LAVRAS-MG

2018

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Raphael Reis da.

Relações da irradiância com o crescimento e compostos
fenólicos em plantas de *Moringa oleifera* / Raphael Reis da Silva. -
2018.

59 p. : il.

Orientador(a): Amauri Alves de Alvarenga.

Coorientador(a): Fernanda Carlota Nery.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Bioquímica. 2. Crescimento. 3. Moringa. I. Alvarenga,
Amauri Alves de. II. Nery, Fernanda Carlota. III. Título.

RAPHAEL REIS DA SILVA

**RELAÇÕES DA IRRADIÂNCIA COM O CRESCIMENTO E COMPOSTOS
FENÓLICOS EM PLANTAS DE *MORINGA OLEIFERA***

**RELATIONSHIPS OF IRRADIANCE WITH GROWTH AND PHENOLIC
COMPOUNDS IN PLANTS OF *MORINGA OLEIFERA***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 23 de março de 2018.

Dr. ^a Fernanda Carlota Nery	UFSJ
Dr. João Paulo R. Alves Delfino Barbosa	UFLA
Dr. ^a Ana Hortência Fonseca Castro	UFSJ
Dr. ^a Ana Cardoso Clemente Filha Ferreira de Paula IFMG/BambuÍ	

Dr. Amauri Alves de Alvarenga

Orientador

LAVRAS-MG

2018

Acima de tudo, a Deus; a minha mãe e meu padrasto, Adília e Dauremar, minha esposa, nosso filho e meu irmão, Rafaela, Elton Francisco e Cláudio Inácio. Ao meu orientador e sua esposa, Amauri e mãe Cida e ao professor João Paulo Barbosa.

Também com gratidão e uma imensa saudade ao meu pai Elton Francisco da Silva (in memoriam).

Dedico

AGRADECIMENTOS

Este documento é um dos frutos mais especiais da minha vida acadêmica.

Assim como uma planta, que “luta” para sobreviver, frutificar e propagar sua herança se ajusta às mais diversas flutuações ambientais, também nestas linhas e entrelinhas se encontram o resultado do esforço pessoal e de uma equipe de colaboração formado por familiares, parceiros e amigos verdadeiros.

Agradeço ao Altíssimo, Deus, Pai, Filho e Espírito Santo autor da minha vida, da minha fé, e de toda ciência, por suportar muitas vezes em meu lugar as dores, angústias e tristezas, simplesmente por amor. Pelo dom da vida, sua sincera amizade, fidelidade, misericórdia, entre tantas e tantas outras características que Ele possui e as distribuiu ao meu redor, fazendo dos meus amigos e irmãos uma grande extensão de Si. Agradeço à proteção da Virgem Maria, “que me acolheu quando o pranto ainda era um segredo em mim”.

À Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia e especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal por disponibilizarem a estrutura física, corpo docente e técnico, possibilitando uma formação contínua e a realização deste trabalho, além do acolhimento, oportunidade e confiança.

À minha família, minha simples e pequena Igreja doméstica; de forma especial à Dona Adília (minha mãe) e Sr. Dauremar (meu padrasto), Cláudio Inácio (meu irmão), Rafaela (minha querida e amada esposa), e a Elton Francisco (meu primogênito, nosso maior presente dado por Deus), pela fidelidade, lealdade e o sentimento ágape, entre tantos e tantos outros prestados em meio a ausência, as lágrimas, a dor da distância, e nas alegrias de cada dia.

Ao meu orientador, que carinhosamente chamo “pai” e amigo prof. Amauri Alvarenga e à sua esposa, que carinhosamente chamo de “mãe Cida” por receberem a minha família em seus corações e seu lar e nos erguerem com suas palavras de sabedoria, orações e abraços. À minha coorientadora, prof.^a Fernanda Nery (UFSJ), pela confiança, incentivo e ter me estendido suas mãos para ajudar.

A todos os professores e colaboradores que fizeram ou fazem parte da história do PPG-FV, de forma especial aos professores João Paulo, Luiz Edson, Paulo Marchiori, Renato Paiva, Patrícia Paiva, Milene Carvalho (Embrapa Café), e Ana Hortência (UFSJ) pela confiança, por seus sábios ensinamentos, conselhos e também por estarem de portas abertas para ajudar e guiar a quem lhes procura a um melhor caminho na vida.

À banca examinadora pela dedicação, empenho e colaboração em participar desta defesa de tese e sua correção.

A todos os meus colegas e amigos do setor fisiologia vegetal, especialmente a: Cleide Campos, Ana Cristina (Tininha), Lermen Forigua, Roniel Ávila, Joyce Alvarenga, Salete de Jesus, Daniela (Dani), Kamila Dázio, Manoel Neto, Pedro Vitor, Ane Marcela, Jean Marcel, Afonso Ricardo, Diogo Pedrosa, Mairon Coimbra (UFSJ-Divinópolis), Antônio (“Tonhão”, NEPAFLOR), Joel, Odorêncio, Dartagnan Godinho, Antônio Ramos “Barrinha”, João Paulo e Paulo César Júnior alunos da iniciação científica e companheiros de luta.

Aos meus grandes amigos de Petrolina, especialmente Adalberto Benício, Diniz, Hugo Leonardo e Jéssica Coelho por suas palavras de apoio e orações em nossas constantes lutas de cada dia.

Gostaria de agradecer a todos os meus amigos e lhes dizer que parte da minha vida acadêmica passou, em maior ou menor intensidade, por seus cuidados.

Agradeço também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de minha bolsa de pós-graduação, que permitiu minha manutenção, publicação e participação em congressos e eventos na área.

RESUMO

A radiação solar é um importante fator para o crescimento e desenvolvimento das plantas, não apenas por ser fonte primária de energia, mas também por atuar como estímulo que modula o desenvolvimento. Contudo, quando disponível em alta intensidade pode se constituir um fator estressante ao vegetal. Nestas condições o excesso de energia fotoquímica provoca danos, principalmente ao aparato fotossintético. Para minimizar efeitos como esses, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa como a atuação de agentes enzimáticos e não enzimáticos. Os metabólitos secundários, especialmente os flavonóides, atuam neste processo como filtros contra a radiação UV, além de representar uma importante fonte de produtos farmacologicamente ativos, encontrados em maior teor, geralmente, em folhas. A *Moringa oleifera*, conhecida popularmente como moringa ou acácia-branca, é uma planta rústica, medicinal e ornamental, rica em moléculas bioativas e com alto valor nutricional que tem sido bastante utilizada na indústria de fármacos, cosméticos, alimentícios e de biodiesel. Estudos que relacionam os efeitos da intensidade e qualidade da radiação solar sobre o crescimento e acúmulo de compostos secundários em plantas de moringa são inexistentes. Desta forma, objetivou-se a avaliação do desempenho fisiológico, crescimento e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de moringa em função da alteração na qualidade e intensidade da radiação solar. Plantas de *M. oleifera* foram cultivadas por cinco meses em diferentes níveis de sombreamento: pleno sol (PS), malhas nas cores preta (MP), azul (MA) e vermelha (MV). Foram observadas diferenças em todas as variáveis analisadas: de crescimento, trocas gasosas e teor de compostos fenólicos. Plantas cultivadas em PS apresentaram crescimento da parte aérea inferior comparado aos demais tratamentos, diferindo-se também nas trocas gasosas e anatomia foliar. Em todos os níveis de sombreamento as folhas apresentaram maior teor de proteínas e aminoácidos totais em relação às raízes. As folhas de plantas cultivadas sob MV e MA apresentaram, respectivamente, maior conteúdo de fenólicos e flavonóides totais. O uso das malhas contribuiu para o maior crescimento e partição de biomassa seca entre folhas e raízes, além de minimizar os danos decorrentes de altos níveis de irradiância. O presente estudo além de fornecer uma compreensão dos efeitos da alteração na qualidade e intensidade da radiação solar sobre o comportamento ecofisiológico de plantas de *M. oleifera* poderá fornecer suporte em futuras pesquisas sobre otimização da produção de metabólitos secundários para essa espécie.

Palavras-chave: Bioquímica. Crescimento. Moringa.

ABSTRACT

Solar radiation is an important factor for the growth and development of plants, not only because it is a primary source of energy, but also because it acts as a stimulus that modulates development. However, when available in high intensity can be a factor stressing the vegetable. In these conditions the excess of photochemical energy causes damage, mainly to the photosynthetic apparatus. To minimize effects such as these, the plants developed defense mechanisms such as the action of enzymatic and non-enzymatic agents. Secondary metabolites, especially flavonoids, act as filters against UV radiation, as well as being an important source of pharmacologically active products, often found in leaves. *Moringa oleifera*, commonly known as moringa or acácia-branca, is a rustic, medicinal and ornamental plant, rich in bioactive molecules with high nutritional value that has been widely used in the pharmaceutical, cosmetics, food and biodiesel industries. Studies that relate the effects of the intensity and quality of the solar radiation on the growth and accumulation of secondary compounds in moringa plants are inexistent. Thus, the objective of this study was to evaluate the physiological performance, growth and accumulation of phenolic compounds in moringa plants due to the alteration in the quality and intensity of solar radiation. Plants of *M. oleifera* were cultivated for five months at different levels of shading: full sun (FS), black (BLN), blue (BN) and red (RN) nets. Differences were observed in all analyzed variables: growth, gas exchange and phenolic compounds content. Plants cultivated in FS presented inferior shoot growth compared to the other treatments, differing also in gas exchange and foliar anatomy. At all levels of shading, the leaves presented higher protein and total amino acids content in relation to the roots. The leaves of plants cultivated under RN and BN presented, respectively, higher content of phenolics and total flavonoids. The use of nets contributed to the greater growth and partition of dry biomass between leaves and roots, in addition to minimizing the damages caused by high levels of irradiance. The present study, besides providing an understanding of the effects of the alteration in the quality and intensity of solar radiation on the ecophysiological behavior of *M. oleifera* plants, may provide support in future research on optimization of the production of secondary metabolites for this species.

Keywords: Biochemistry. Growth. Moringa.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	13
2.1 Radiação e o desenvolvimento de plantas	13
2.1.2 Qualidade e intensidade da luz na fotomorfogênese e bioquímica das plantas	15
2.1.2.1 Metabólitos secundários auxiliam na fotoproteção	18
2.2 – <i>Moringa oleifera</i>: Características botânicas e aplicações	21
3.1 Área experimental e caracterização do ambiente	25
3.3 Material vegetal e beneficiamento das sementes	26
3.5 Descrição dos tratamentos e cultivo	26
3.6 Avaliações de crescimento	27
3.7 Trocas gasosas	27
3.8 Avaliações bioquímicas	27
3.8.1 Teores de carboidratos	27
3.8.2 Metabolismo antioxidante	28
3.8.3 Peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio	29
3.8.3 Teor de fenólicos e flavonóides totais	29
3.8.3.1 Preparo do extrato bruto	29
3.8.3.2 Fenólicos totais e flavonóides totais	30
3.9 Anatomia foliar	30
3.10 Delineamento experimental e análise estatística	30
4. RESULTADOS	31
4.1 Crescimento	32
4.2 Trocas gasosas	35
4.3 Teores de carboidratos	36
4.4 Metabolismo antioxidante	36
4.5 Teor de compostos fenólicos e flavonóides totais	39
4.6 Anatomia	39
5. DISCUSSÃO	41
6. CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICE A – Gráficos de temperatura e umidade relativa durante o período experimental	51
APÊNDICE B – Tabela com os valores médios e irradiância solar espectral durante o período experimental	56

1. INTRODUÇÃO

A radiação solar é a principal fonte de energia para a Terra, responsável pela manutenção da vida. Sendo um dos principais elementos meteorológicos que determinam o tempo e clima. Além disso, está relacionada diretamente á processos de fotossíntese e transpiração, bem como em diversos eventos que determinam a regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas. Dessa forma, a radiação atua não apenas como uma fonte de energia primária para as plantas, mas como um sinal ou estímulo para modulação de eventos metabólicos e de desenvolvimento (AMTHOR, 2010; JONES et al., 2003; KRAHMER et al., 2018; TERASHIMA et al., 2006).

Durante o desenvolvimento do vegetal a radiação deve inicialmente ser absorvida e tornar-se fotoquimicamente ativa; esta etapa é mediada por fotorreceptores que atuam na percepção de estímulos luminosos de forma seletiva, traduzem a informação contida na luz incidente de forma a desencadear uma cascata de eventos bioquímicos que refletirão em uma resposta (AMTHOR, 2010; JONES et al., 2003; KEARA al., 2005; KRAHMER et al., 2018; TERASHIMA et al., 2006). Assim, os fotorreceptores, ou pigmentos especializados, são capazes de perceber a quantidade, qualidade e duração do estímulo luminoso, atuando em processos que vão desde a germinação de sementes ao florescimento, além da síntese de clorofilas e carotenóides e alongamento do caule/hipocótilo (FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; KEARA al., 2005; KRAHMER et al., 2018).

Os eventos bioquímicos e suas respostas também estão relacionados como a intensidade dos sinais ambientais (por exemplo déficit hídrico, excesso de radiação, ocorrência de patógenos, dentre outros) ocorrentes em um determinado período de tempo, afetando de forma direta as funções básicas e essenciais à sobrevivência das plantas (como a fotossíntese e a respiração). Como resultado, as plantas devem lidar de forma constante com ajustes no estado metabólico, uma vez que o carbono fixado pela assimilação do CO₂ nos cloroplastos é o precursor na síntese de carboidratos, aminoácidos, ácidos graxos e metabólitos secundários (AHARONI; GALILI, 2011; CHEYNIER et al., 2013).

Determinados metabólitos secundários atuam diretamente como filtros da radiação UV que incide sobre as folhas sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa, como flavonóides (uma subclasse de compostos fenólicos) (AHARONI; GALILI, 2011; CHEYNIER et al., 2013; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Sabe-se que, os metabólitos secundários fazem parte de um sistema de defesa natural das plantas e, dessa forma, podem também ter suas rotas de

síntese e degradação modulados pelo espectro de ação da radiação. Além disso representam uma importante fonte de produtos farmacologicamente ativos e são encontrados, geralmente, em maior conteúdo em folhas de plantas medicinais. Estes compostos são alterados por diversos fatores, dentre eles a intensidade e a qualidade da luz tem sido bastante explorada, demonstrando que os níveis de metabólitos secundários podem ser aumentados em função de alterações no espectro de luz (CARRETO et al., 2015; CHEYNIER et al., 2013; GOBBONETO; LOPES, 2007; MARTÍNEZ-ESTESO et al., 2015; PACHECO et al., 2014; OUZOUNIS et al., 2013; ZHANG; LIU; RUAN, 2017).

O cultivo de plantas medicinais em ambientes onde a radiação possa ser, de certa forma, manipulada e caracterizada pode ser uma alternativa bastante viável e promissora, especialmente quando a espécie a ser pesquisada apresenta determinadas características que impulsionem o seu cultivo, como por exemplo a facilidade de acesso ao material e sua adaptação ao ambiente.

A *Moringa oleifera*, moringa ou acácia-branca como é popularmente denominada, é uma espécie arbórea, ornamental e medicinal nativa do norte da Índia, que foi introduzida no Brasil por volta de 1950. É uma planta, rústica, de fácil cultivo (geralmente é propagada de forma sexuada por sementes), que tem mostrado adaptação às diversas condições edafoclimáticas. É considerada como uma das árvores mais úteis e disseminadas em todo globo terrestre e representa uma importante alternativa como cultura para o desenvolvimento de sistemas sustentáveis (FAHEY, 2004; FÖRSTER et al., 2015 a e b; JAHN, 1988; KALOGO et al., 2000). Além disso, é rica em moléculas bioativas (como compostos fenólicos e glucosinolatos), apresenta alto valor nutricional, especialmente em suas folhas, e pode ser utilizada para fins energéticos como a produção de biodiesel, biogás e briquetes, fato este que tem despertado grande interesse de comercialização e utilização em indústrias farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos e biodiesel (CYSNE, 2006; FÖRSTER et al., 2015 a e b; MALDINI et al., 2014; TORRES-CASTILLO et al., 2013; VONGSAK et al., 2013).

As inúmeras possibilidades de uso e o grande potencial como matéria-prima para o desenvolvimento de produtos naturais e farmacêuticos tem refletido na busca por métodos de aperfeiçoamento para a extração dos seus compostos bioativos (FÖRSTER et al., 2015 a e b; MALDINI et al., 2014; VONGSAK et al., 2013). Porém, não há estudos que relacionam o teor de metabólitos secundários de moringa mediante alteração na qualidade e intensidade da radiação solar. Neste contexto, diante da falta de informações relacionadas ao comportamento ecofisiológico de plantas de moringa submetidas a diferentes intensidades e qualidade

espectral, objetivou-se a avaliação fisiológica, crescimento e teores de compostos fenólicos em plantas de moringa em função da alteração da qualidade e intensidade da radiação solar.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Radiação e o desenvolvimento de plantas

A vida na Terra é regida por um fluxo termodinâmico no qual a radiação solar constitui a maior fonte de energia, sendo também um dos principais elementos meteorológicos que determina o tempo e o clima. Além disso, afeta outros processos importantes para a manutenção da vida, tais como evapotranspiração e fotossíntese (AMTHOR, 2010; KSENZHEK; VOLKOV, 1998; LARCHER, 2000; SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2005).

O desempenho ecofisiológico das plantas, especialmente as fotoautotróficas, depende das flutuações do ambiente no qual as mesmas estão inseridas. Esta relação pode ser explicada pela termodinâmica envolvida em cada elemento que compõe o ambiente (KSENZHEK; VOLKOV, 1998; SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2005). Neste contexto, é comum observamos na literatura a importância e complexidade dos balanços de radiação (energia) e de carbono, necessários para o crescimento, desenvolvimento e metabolismo da planta. Estes balanços por sua vez estão sujeitos a variações de natureza espaço-temporal, que, em maior ou menor intensidade, resultarão em uma ou várias respostas adaptativas (AMTHOR, 2010; SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2005).

De forma simplificada, o percurso da radiação solar que atinge o topo da atmosfera terrestre é atenuada por diversos fatores como partículas que provocam espalhamento. Neste fluxo, haverá ganhos e perdas de energia, o qual denomina-se balanço de radiação. Posteriormente, este saldo será repartido em diferentes processos físicos, químicos e biológico, como aquecimento do ar, evaporação, transpiração, morfogênese e fotossíntese (KEARA al., 2005; KRAHMER et al., 2018; KSENZHEK; VOLKOV, 1998; SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2005).

A biosfera terrestre recebe a radiação solar de 290-3000 nm. Os comprimentos de onda curtos são absorvidos na atmosfera pelo ozônio e oxigênio do ar, ao passo que os comprimentos de onda longos são absorvidos conforme a concentração de vapor de água e CO₂ na atmosfera. Menos de 50% da radiação solar encontra-se na faixa espectral de 380-710 nm, que é utilizada para a fotossíntese das plantas. Adicionalmente, a radiação fotossinteticamente ativa corresponde a faixa de comprimento de 400-700 nm. Próximos a esta faixa estão os comprimentos curtos de radiação ultravioleta (UV-A, 315-380 nm e UV-B 280-315 nm) e comprimentos longos de radiação infra-vermelha (IV, 750-4000 nm). Além disso, a absorção de luz por pigmentos fotossintéticos ocorre principalmente na faixa do azul

(400-500 nm) e vermelho (600-700 nm) (FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; LARCHER, 2000; KEARA et al., 2005; KRAHMER et al., 2018).

A energia que é absorvida pelas plantas é utilizada para reduzir o carbono atmosférico a biomoléculas necessárias ao crescimento, desenvolvimento e metabolismo. Assim, o estímulo luminoso influencia as diferentes etapas da fotossíntese, desde a difusão do CO₂ (etapa difusiva da fotossíntese), conversão da energia luminosa em energia química potencial (etapa fotoquímica) até a redução do CO₂ a biomoléculas (etapa bioquímica) pela ação de enzimas específicas do metabolismo fotossintético. Durante este processo, o CO₂ é fixado ao aceptor Ribulose-1,5-bifosfato em uma reação catalisada pela enzima RuBP-carboxilase-oxigenase. Dessa reação são geradas duas moléculas de 3-ácido fosfoglicérico que, por sequencia é reduzida até o gliceraldeído-3-fosfato. Esta última configura um *pool* de carboidratos do qual se formam diversos produtos do metabolismo, e simultaneamente a RuBP é regenerada para dá continuidade do ciclo. Dessa forma, o carbono é distribuído em diferentes vias metabólicas das plantas para fornecer energia para a manutenção e crescimento (JONES et al., 2003; KRAHMER et al., 2018; KSENZHEK; VOLKOV, 1998; LARCHER, 2000; SCHULZE; BECK; MÜLLER-HOHENSTEIN, 2005; TERASHIMA et al., 2006).

A percepção de sinais luminosos ocorre por meio de fotorreceptores ou pigmentos especializados tais como a clorofila, fitocromos, criptocromos e fototropinas. Estes pigmentos especializados absorvem a luz de forma seletiva, em diferentes comprimentos de onda, e “traduzem” a informação contida naquela luz de forma a desencadear uma série de eventos bioquímicos que refletirão em resposta metabólicas e no desenvolvimento, como por exemplo, na alocação de carbono e na produção de biomassa (CARRETO et al., 2015; FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; KEARA et al., 2005; KRAHMER et al., 2018; YANG et al., 2016). De fato, as plantas possuem múltiplos fotorreceptores responsivos à luz, no entanto, o papel dos mesmos na coordenação do crescimento tendo como recursos o carbono ainda necessita de maiores compreensões (YANG et al., 2016).

Os fitocromos são, provavelmente, o grupo de fotorreceptores mais bem caracterizados até o momento que regulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Estes, agem como interruptores regulados pela luz, e se alternam entre as formas inativa (Fv, “Pr”) e isoméricas ativa (Fvd, “Pfr”). A luz vermelha ativa o fitocromo realizando a fotoconversão de Fv em Fvd, enquanto a luz no vermelho-distante realiza o processo inverso, desligando-o. Uma vez ativado, os fitocromos translocam para o núcleo, onde regulam vários fatores de transcrição. Os fatores de interação dos fitocromos, conhecidos como PIFs, também

atuam como reguladores chave na transição da escotomorfogênese para a fotomorfogênese (FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; KEARA et al., 2005; KRAHMER et al., 2018; YANG et al., 2016). Nesta linha de pensamento Yang et al. (2016), observaram e demonstraram em plantas de *Arabidopsis thaliana* que a depleção do fitocromo pode regular o metabolismo do carbono e o crescimento; neste experimento houve um aumento nos níveis de ácidos orgânicos do ciclo do ácido tricarboxílico (succinato, malato, fumarato, citrato, glutamato e aspartato) e aminoácidos específicos como a prolina, leucina e fenilalanina, demonstrando que o fitocromo é um importante regulador no suprimento de carbono, produção de biomassa e estado metabólico das plantas.

2.1.2 Qualidade e intensidade da luz na fotomorfogênese e bioquímica das plantas

Sob condições naturais as folhas estão constantemente expostas a condições heterogêneas de irradiância solar, causadas, pelo auto-sombreamento, ângulo de radiação incidente, movimento de rotação da Terra e cobertura de nuvens. Essas condições induzem reajustes rápidos nas plantas visando manter a taxa fotossintética efetiva e que ao mesmo tempo seja capaz de minimizar os possíveis danos que a densidade de energia possa causar; para tanto são necessários modificações metabólicas pontuais ou de longo prazo e morfoanatômicas, sendo dependente das características de cada espécie e sua interação com o ambiente (LAISK et al., 2005; MARTINS et al., 2014; FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017).

Diversos relatos demonstram que os efeitos da quantidade e qualidade da luz modulam a morfogênese, crescimento e diferenciação de células, tecidos e órgãos vegetais, de forma que qualquer variação no espectro desencadeiam diferentes respostas fisiológicas, modificando suas características morfoanatômicas e bioquímicas (AMTHOR, 2010; FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; KSENZHEK; VOLKOV, 1998). Estes argumentos têm sido utilizados como base para a realização de pesquisas que visam indicar a melhor condição de sombreamento/qualidade espectral para a produção de mudas (cultivo e propagação) e demonstrar a relação da irradiância com a germinação de sementes, florescimento, níveis de metabólitos secundários, trocas gasosas e crescimento (ALVARENGA et al., 2003; COSTA et al., 2015; FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; HOLE; DAERMAN, 1993; LIMA JÚNIOR et al., 2005; MARCELIS; HEUVELINK; VAN DIJK, 1997; PACHECO et al., 2014; REIS et al., 2016).

As variações no espectro luminoso regulam, dentre outros processos, a atividade fotossintética e os fenômenos *a posteriori* dependentes da fotossíntese, culminando com a

aclimatação ou adaptação da espécie no ambiente ao qual estão inseridas. Dessa forma, plantas submetidas à níveis reduzidos de irradiância geralmente apresentam folhas maiores, com redução de espessura e, em alguns casos, tendência de decréscimo no teor de clorofila e carotenóides. De forma contrária, plantas cultivadas sob níveis elevados de irradiância, tendem a apresentar folhas com menor área foliar e maior espessura; além disso, tendem a apresentar danos no aparelho fotossintético, especialmente sob exposição prolongada (ALVARENGA et al., 2003; FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; KRAUSE et al., 2006; KSENZHEK; VOLKOV, 1998; LI et al., 2014; REIS et al., 2016; OUZOUNIS et al., 2015).

Conforme observado por Alvarenga et al. (2003) em *Croton urucurana* e Lima Júnior et al. (2005) em *Cupania vernalis*, plantas submetidas a menores níveis de irradiância (NI) podem exibir uma redução de taxa fotossintética quando comparadas às plantas submetidas ao pleno sol, além de uma tendência de aumento na concentração de clorofila; este resultado também foi relatado por Hanba; Kogami; Terashima (2002), que avaliando o efeito da irradiância em espécies de *Acer* com diferentes demandas de luz verificaram que o sombreamento (17% de luz) favoreceu um aumento significativo na concentração de clorofila, em comparação a plantas não sombreadas. No entanto este fenômeno não é de ocorrência universal; Zivcak et al. (2014) em plantas de *Hordeum vulgare*, observaram que o maior teor de clorofila foi ocorrente em folhas expostas ao pleno sol, em comparação às folhas de ambiente sombreado.

Os NI também exercem efeito sobre o crescimento das plantas de forma a reduzir ou aumentar parâmetros com relação alométrica como altura da parte aérea, comprimento da raiz, padrão de alocação de produtos da fotossíntese e, conseqüentemente, a relação parte aérea/raiz e o acúmulo de açúcares (OBTA; FERNIE, 2012; LEMOINE et al., 2013; ROSA et al., 2009; WHITE et al., 2016). Neste contexto, Alvarenga et al. (2003) e Lima Júnior et al. (2005), observaram que plantas cultivadas em pleno sol tendem a apresentar menor altura e acúmulo de biomassa seca na parte aérea. Por outro lado, esta relação é diferenciada entre as espécies; Pacheco et al. (2014) verificaram que plantas de *Pipper aduncum* em pleno sol exibiram um padrão de acúmulo de biomassa superior em relação a plantas sombreadas; já em plantas de *Calophyllum longifolium* Willd e *Tectona grandis* L. f., Krause et al. (2006) observaram que não houve diferenças significativas no padrão de crescimento e partição de biomassa.

Alterações na superfície foliar, anatomia, trocas gasosas, além de estresses oxidativos são outras características que também podem ser influenciadas pelos NI (KEARA et al.,

2005). Lima Júnior et al. (2005) e Pacheco et al. (2014) observaram que folhas crescidas em ambientes sombreados apresentam contrastes em relação às de pleno sol, como maior área foliar, menor espessura do limbo, do parênquima paliçádico e do parênquima lacunoso, afetando diretamente a fotossíntese e a transpiração. Uma das explicações para este fenômeno é que folhas expostas a altos NI precisam aumentar a condutância para a difusão de CO₂ do ar ambiente para os cloroplastos, especialmente em plantas de metabolismo de fixação C₃, tornando-se assim mais espessas em comparação às folhas de ambiente sombreado (TERASHIMA et al., 2006).

Embora não seja uma regra, as plantas expostas a maiores NI tendem a exibir maior atividade fotossintética até o ponto de saturação pela radiação (onde passa a ser limitada por reações enzimáticas e disponibilidade de CO₂) e, geralmente, este fenômeno está associado a uma maior condutância estomática, respiração e transpiração. Além disso, podem apresentar maior eficiência instantânea de carboxilação (velocidade com que o CO₂ é fixado), relacionada principalmente a atividade fotossintética, e concentração intra e extracelular de CO₂ em balanço. Por sua vez, as folhas que foram crescidas ou aclimatadas ao sombreamento tendem a respirar com menor intensidade e geralmente apresentam menor transpiração, utilizando-a como estratégia à perda de carbono (MARTINS et al., 2014; TARESHIMA et al., 2006).

Altos NI também podem representar maiores níveis de energia fotoquímica na folha além da sua capacidade de uso, causando uma sobrecarga aos processos fotossintéticos o que resulta em um baixo rendimento assimilatório, e conseqüentemente, na fotoinibição. Danos como esse tendem a causar uma superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs), que por sua vez são formas reduzidas de oxigênio altamente reativas, como o ânion superóxido (O₂⁻), radical hidroxila (OH), bem como moléculas não radicais como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), oxigênio singlete (¹O₂), dentre outros. O aumento na produção das EROs, especialmente quando excede o mecanismo de defesa, pode representar uma ameaça às células por provocar, dentre outros, a peroxidação de lipídios, oxidação de proteínas, danos a ácidos nucleicos e ativação de morte celular programada. Apesar de sua atividade destrutiva as EROs também são descritas como mensageiros secundários em diversos processos celulares (JALEEL et al., 2009; SHARMA et al., 2012; ZHANG; LIU; RUAN, 2017).

As plantas desenvolveram mecanismos de defesas enzimáticas e não enzimáticas capazes de sequestrar ou desintoxicar o excesso de EROs (JALEEL et al., 2009). A primeira linha de defesa enzimática é a dismutase do superóxido (SOD), que catalisa a dismutação do

radical O_2^- a H_2O_2 e O_2 e modula seus níveis celulares nos cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos. O H_2O_2 é convertido a H_2O e O_2 pela catalase (CAT), esta atua nos peroxissomos e pode ser encontrada também em mitocôndrias sob isoformas. Outras enzimas peroxidases e desidrogenases também atuam neste ciclo, como a peroxidase do ascorbato (APX), que pode ser encontrada no citosol, mitocôndrias, peroxissomos, cloroplastos e parede celular sob isoformas (JALEEL et al., 2009; SHARMA et al., 2012; ZHANG; LIU; RUAN, 2017).

Embora esse sistema seja eficiente na eliminação de EROs, não é incomum encontrar resultados em que ocorra flutuações de comportamento da atividade de enzimas antioxidantes e peroxidação lipídica. Favaretto et al. (2011) avaliaram as respostas de enzimas antioxidantes quanto ao horário e níveis de irradiância em oito espécies arbóreas tropicais de sucessão tardia (*Hymenaea courbaril* L., por exemplo) e pioneiras (*C. urucurana*, por exemplo), cultivadas por seis meses em casa de vegetação sob níveis de 10 e 100% de irradiância solar (DFFFA máxima de $990 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e observaram flutuações significativas. Estes autores observaram que a maior irradiância resultou em maior atividade da SOD, menor atividade da CAT, e atividade semelhante para a APX, tanto no grupos de espécie arbóreas tropicais de sucessão tardia como pioneiras.

2.1.2.1 Metabólitos secundários auxiliam na fotoproteção

Os danos causados por altos NI podem provocar desordem no aparato estrutural e na coordenação de vários processos em nível molecular e celular. Para minimizar esses danos as plantas desenvolveram compostos orgânicos que auxiliam na defesa contra fatores de estresse. Estes compostos, por sua vez, são parte essencial do arsenal usado pelas plantas ao longo do seu ciclo de vida, para sobreviver e propagar a espécie, na medida em que o gasto energético (fotoassimilados e nutrientes minerais) tem um custo efetivo para tal. Dessa forma, estes compostos estão diretamente relacionados às vias primárias do metabolismo do carbono (AHARONI; GALILI, 2011; CHEYNIER et al., 2013; ZHANG; LIU; RUAN, 2017).

Entende-se por metabolismo a soma de processos físicos e químicos que ocorrem em um organismo vivo para o provimento de necessidades estruturais e energéticas, logo envolvem síntese (anabolismo) e degradação (catabolismo). O metabolismo vegetal é dividido em dois, o primário e o secundário; estes, ao menos em parte, estão fortemente relacionados entre si, uma vez que as vias metabólicas para o fornecimento de precursores para a síntese de metabólitos tidos como primários ou secundários são dependentes dos ciclos de redução do

CO₂. O metabolismo primário diz respeito a um conjunto de processos metabólicos que desempenham funções primordiais, como a fotossíntese e respiração, de ocorrência universal nos vegetais (AHARONI; GALILI, 2011; CARRETO et al., 2015; CHEYNIER et al., 2013; CHODUR et al., 2018).

Os metabólitos secundários, por sua vez, possuem distribuição restrita em termos de classe predominante e teor de metabólitos, e desempenham funções ecológicas fundamentais para a manutenção da aptidão das plantas agindo como protetores em resposta a fatores abióticos (como alterações na disponibilidade hídrica e exposição à luz UV) e bióticos (como a herbivoria e alelopatia). Além disso, o metabolismo secundário é responsável pelo provimento de diversos compostos bioativos usados medicinalmente. Esta separação é baseada nas particularidades de seus componentes, no entanto, algumas divergências conceituais ainda são existentes (AHARONI; GALILI, 2011; CHEYNIER et al., 2013; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os metabólitos secundários são divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenóides/isoprenóides e compostos contendo enxofre ou nitrogênio. Estes grupos são produzidos por diferentes vias do metabolismo primário, como a glicólise, ciclo do ácido tricarbóxico, via das pentoses fosfato e do chiquimato (figura 1). Dentre os compostos mais conhecidos estão: lignina, resveratrol, látex, cocaína, cafeína, nicotina, antocianinas e carotenóides (AHARONI; GALILI, 2011; CHEYNIER et al., 2013; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MARTÍNEZ-ESTESO et al., 2015).

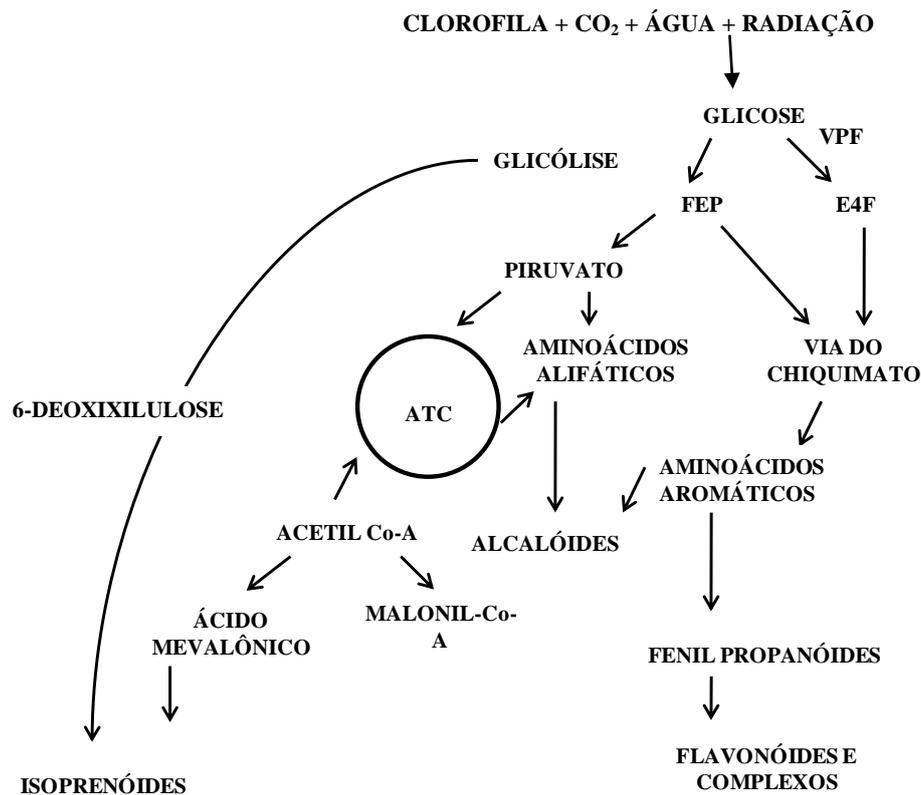


Figura 1 – Esquema simplificado representando a produção de metabólitos secundários associado com vias do metabolismo primário/central, como a glicólise, ciclo do ácido cítrico/tricarboxílico, via do chiquimato e a produção de aminoácidos aromáticos e alifáticos. Adaptado de Aharoni; Galili (2011) e www.uky.edu. FEP: fosfoenolpiruvato; E4F: Eritrose-4-fosfato; VPF: via das pentoses fosfato; ATC: ácido tricarboxílico.

Uma ênfase especial tem sido dada aos compostos fenólicos (CFs). Estes constituem a classe com maior distribuição e ocorrência no reino vegetal, incomuns em bactérias, fungos e algas. São caracterizados por um grupo hidroxila funcional ligado a um anel aromático, produzidos principalmente pela via do chiquimato através das enzimas fenilalanina amônia liase (FAL, “PAL”) e chalcona sintase (CHS). Dentro deste grupo são encontradas estruturas diversificadas como pigmentos hidrossolúveis e polímeros (CHEYNIER et al., 2013; AHARONI; GALILI, 2011; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

O grupo dos CFs é majoritariamente formado por flavonóides, que por sua vez são caracterizados por apresentarem 15 átomos de carbono em seu esqueleto base (C₆-C₃-C₆). Estes compostos se acumulam principalmente em tecidos superficiais (como epiderme, subepiderme, pêlos, cutícula e material epicuticular) e utilizados pelas plantas como filtro UV. Além disso, estão relacionados com a proteção contra agentes patogênicos e possuem ação

alelopática e antioxidante (CHEYNIER et al., 2013; AHARONI; GALILI, 2011; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; ZHANG; LIU; RUAN, 2017).

O acúmulo de compostos fenólicos, especialmente os flavonóides, nos tecidos vegetais é uma característica que pode indicar um fator de estresse na planta. Este acúmulo é atribuído a uma maior atividade de enzimas como a FAL e CHS e é sintetizado principalmente sob radiação UV-B (AHARONI; GALILI, 2011; MORALES et al., 2010; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Todavia, estes metabólitos podem apresentar variações no seu conteúdo decorrentes da sazonalidade, estágio fenológico, temperatura, altitude, intensidade e qualidade da luz, entre outros (CHEYNIER et al., 2013; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; ZORATTI et al., 2015).

Neste contexto, tem-se adotado o uso de malhas coloridas (telas de sombreamento capazes de realizar a fotoconversão de luz, ou seja, de selecionar comprimentos de onda específicos) para minimizar os efeitos de estresse por alta irradiação, avaliando as implicações dos níveis de sombreamento no crescimento e no conteúdo foliar de compostos secundários sob a hipótese de uma possível amplificação de sua síntese mediante alteração na qualidade espectral da luz (AHARONI; GALILI, 2011; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; OUZOUNIS et al., 2015; ZORATTI et al., 2015). Dentre as malhas mais utilizadas estão a azul (apresentam um pico principal de transmitância na região do azul-verde, 400-540nm), vermelha (maior transmitância para comprimentos de onda superiores a 590nm), e preta (considerada neutra, auxilia apenas na redução da incidência de irradiação sobre a planta) (OREN-SHAMIR et al., 2001).

2.2 – *Moringa oleifera*: Características botânicas e aplicações

A *Moringa oleifera* Lam., é conhecida comumente como moringa, ‘horseradish’, ‘ben oil tree’, ‘drumstick tree’ ou “árbol del ben” na literatura; é uma das espécies mais conhecidas dentro de um grupo de treze que compõem a família Moringaceae, ordem Brassicales. As outras espécies são: *M. arborea*, *M. borziana*, *M. concanensis*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. longituba*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. pygmaea*, *M. rivae*, *M. ruspoliana*, *M. stenoptela*. (FAHEY, 2004. OLSON, 2002). É originária do norte da Índia, embora esteja amplamente distribuída na África, Ásia e em países de clima tropical e subtropical. Além disso, há relatos de que o óleo extraído da moringa foi utilizado pelos antigos, gregos, romanos e egípcios para alimentação e cosméticos (CHODUR et al., 2018; FAHEY, 2004; JAHN, 1988; KANSAL; KUMARI, 2014; KARADI et al., 2006;).

No Brasil, a cultura da moringa foi introduzida por volta de 1950 e tem mostrado adaptação às diversas condições edafoclimáticas, podendo ser cultivada tanto sob condições irrigadas como de sequeiro. Seu cultivo tem maior expressão na região Nordeste, principalmente nos estados do Ceará, Maranhão e Piauí (CYSNE, 2006). Outros nomes comuns para a espécie são: acácia branca, árvore-rabanete-de-cavalo, cedro, lírio-branco, moringueiro, quiabo de quina (CYSNE, 2006; LÉDO et al., 2008).

É uma planta rústica, decídua, perene, de porte arbóreo que pode atingir até 12 metros de altura, e tolerante à seca. Possui folhas bipenadas, verdes pálidas, pecioladas e compostas, com sete folíolos distribuídos entre as laterais e a posição terminal. Suas raízes são tuberosas e se assemelham ao rabanete na aparência e sabor, com odor pungente, sendo considerada abortiva (ARAÚJO et al., 2016; JESUS et al., 2013; LEONE et al., 2016; RAMOS et al., 2010; SANTANA et al., 2010).

Os frutos são secos, deiscentes, do tipo cápsula loculicida, com três valvas de coloração castanho-médio e têm comprimento de aproximadamente 30-120 cm e 1,8 cm de espessura. Suas sementes apresentam três alas ou asas e um conteúdo de 19-47% de óleo (alto percentual de ácido oléico, cerca de 78%, e palmítico, cerca de 7%), com uso potencial para a produção de biodiesel. A germinação da semente é descrita como hipógea-criptocotiledonar com rápido surgimento dos eófilos; em contrapartida, possuem baixo teor de umidade e não possuem eficiência na absorção de água quando a mesma está em baixa disponibilidade (ARAÚJO et al., 2016; GOPALAKRISHNAN et al., 2016; JESUS et al., 2013; LEONE et al., 2016; RAMOS et al., 2010; SANTANA et al., 2010).

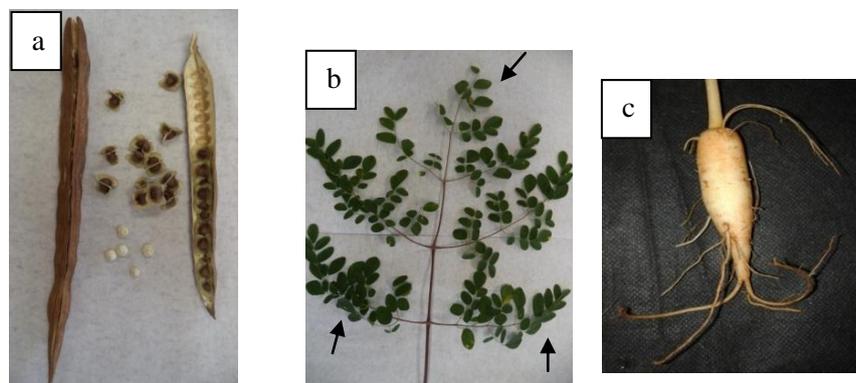


Figura 1 – Frutos e sementes (a), folhas (b) e raiz (c) de *Moringa oleifera*. Setas indicam os folíolos laterais e terminal.

As plantas de moringa são uma importante fonte de alimento por possuírem uma variedade de fitoquímicos (tocoferóis, glucosinolatos e compostos fenólicos, que atuam como promotores da saúde humana), vitaminas e nutrientes minerais especialmente potássio, magnésio e cálcio que estão distribuídos em todos os seus órgãos desde a raiz até as sementes. (AMAGLO et al., 2010; FERREIRA et al., 2008; MALDINI et al., 2014; VONGSAK et al., 2013). Quando comparado grama/grama, a moringa pode prover 10 vezes mais vitamina A que as cenouras, de 4-7 vezes mais vitamina C que as laranjas, de 4-15 vezes mais potássio que as bananas e 25 vezes mais ferro que o espinafre. Além disso, é rica em fitoesteróis como o estigmasterol e o sitosterol, compostos que estão relacionados com a produção de estrogênio, que por sua vez estimula o crescimento da glândula mamária para a produção do leite (GOPALAKRISHNAN et al., 2016). Por essas razões a moringa tem sido considerada como a árvore da vida e tem se tornado um objeto de estudo básico e aplicado em diversas áreas como agricultura, pecuária, nutrição animal, indústria e medicina (ARAÚJO et al., 2016; FÖRSTER et al., 2015a e b; KANSAL; KUMARI, 2014; KARADI et al., 2006; LEONE et al., 2016; RIVAS; OLIVEIRA; SANTOS, 2013).

Suas raízes, flores, vagens, sementes e folhas têm sido utilizadas na medicina para o tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas como cardiovasculares, gastrointestinais, hematológicas, respiratórias, da pele e distúrbios renais. Além disso, os extratos obtidos da *M. oleifera* possuem potencial antioxidante, antitumor, anticancerígeno e antimicrobiano contra agentes patogênicos clínicos como *Escherichia coli*, responsável por provocar diarreias em crianças e adultos (BARNABAS; MURTHY; JAGDEESH, 2013; FOTOUO-M et al., 2015; MALDINI et al., 2014; SANTOS et al., 2012; STEPHENSON; FAHEY, 2004; TORRES-CASTILLO et al., 2013; STEPHENSON; FAHEY, 2004; VONGSAK et al., 2013).

Outra possibilidade de uso da moringa é no tratamento de água feito com sementes; esta ação se dá por meio de floculação e sedimentação, no qual é possível eliminar a turvação, micro-partículas, fungos, vírus e bactérias. Trata-se, portanto, de uma alternativa natural a métodos tradicionais como a aplicação de sulfato de alumínio para a coagulação de ácidos húmicos da água, especialmente em regiões semiáridas por ser uma solução simples, de baixo custo e sustentável, não alterando a química da água em relação ao pH, alcalinidade e força iônica (KALOGO et al., 2000; KANSAL; KUMARI, 2014; SANTOS et al., 2012).

Embora a moringa apresente diversas características e constituintes com efeito benéfico é necessário ter cautela ao consumi-la. Ambi et al. (2011) e Rolim et al. (2011) alertam que o largo consumo indiscriminado de folhas ou extratos de sementes de moringa

para fins medicinais e/ou alimentícios podem por em risco a integridade saúde humana e a segurança alimentar, e alertam para a necessidade de mais pesquisas relacionadas a este tema.

Alguns estudos têm visado a compreensão de respostas bioquímicas, de variáveis de crescimento, aspectos de resistência, tolerância, memória e o perfil de metabólitos secundários. Os mesmos têm demonstrado que existe uma variabilidade de respostas de *M. oleifera* frente a alterações no seu ambiente de crescimento como, déficit hídrico em três ciclos (RIVAS; OLIVEIRA; SANTOS, 2013), baixos e altos níveis de adubação sulfatada (FÖRSTER et al., 2015a e b) e restrição hídrica associada a radiação UV-B (ARAÚJO et al., 2016), observaram respostas de redução da biomassa e altura da parte aérea, maior acúmulo de peróxido de hidrogênio, aldeído malônico e metabólitos secundários em folhas.

No entanto, não há estudos sobre o comportamento ecofisiológico e acúmulo de metabólitos secundários de *Moringa oleifera* em função da alteração na intensidade e qualidade espectral da luz solar. Neste contexto é de fundamental importância a realização de estudos que visem a compreensão de como a modulação no espectro luminoso pode influenciar o crescimento e a bioquímica dessas plantas, buscando além do melhor desempenho e obtenção de mudas com qualidade a otimização da produção de metabólitos de importância farmacológica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área experimental e caracterização do ambiente

O experimento foi conduzido no Setor de Floricultura e Paisagismo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras - MG, entre os meses de novembro/2016 a abril/2017. A área está localizada entre as coordenadas 21° 14' de latitude sul, 45°00' de longitude oeste e uma altitude de 918 metros. De acordo a classificação de Köppen o clima da região é do grupo Cwa, com invernos secos e chuvas predominantes no verão (DANTAS et al., 2007).

As condições de umidade e temperatura foram monitoradas separadamente em cada ambiente com o auxílio de termohigrômetros digitais, exceto no tratamento de pleno sol no qual os dados foram coletados pela Estação Climatológica Principal de Lavras, localizada no Campus da UFLA.

Em adição, foram realizadas medidas de irradiância absoluta com o auxílio de um espectrorradiômetro portátil USB-650 RED TIDE acoplado a uma fonte de radiação eletromagnética DT-MINI (200-2000 nm), um cabo de fibra ótica e um difusor cossenoidal (Software Spectra Suite, Ocean Optics). Estas medições foram realizadas semanalmente, a cada dois dias, em três horários distintos (9, 13 e 17 horas), durante os meses de dezembro de 2016 a abril de 2017. A radiação solar foi utilizada como referência para a calibração do aparelho. A partir dos dados obtidos foram realizados os cálculos de irradiância absoluta integrada pela fórmula trapezoidal nos intervalos de 200-850 nm e seus respectivos valores. Por fim, estes valores foram analisados e classificados quanto a qualidade espectral em: infravermelho (IV), visível (VIS) e ultravioleta (UV).

3.3 Material vegetal e beneficiamento das sementes

As sementes utilizadas neste experimento foram obtidas de frutos maduros de plantas de moringa cultivadas no semiárido do nordeste brasileiro, Petrolina-PE (latitude 09°09'S, longitude 40°22'W e altitude de 365,5 m).

Primeiramente, procedeu-se com a remoção do tegumento, pois foi observado em testes anteriores que a presença do mesmo pode ocasionar um atraso no processo de germinação, e confecção das sementes quanto a uniformidade de tamanho e ausência de dano físico aparente, realizado com o auxílio de lupa. Em seguida, as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio (NaOC, 2,5% v/v) por 3 minutos, seguida de tripla lavagem em água destilada. Por fim, foram dispostas em folhas de papel Germitest umedecidas com água destilada (2,5 vezes o peso do papel seco), e acondicionadas por 24h em B.O.D. a 25 ± 1 °C. Após este período as sementes foram alocadas nos vasos nos respectivos tratamentos.

3.5 Descrição dos tratamentos e cultivo

Os tratamentos foram compostos por diferentes ambientes de luminosidade, pleno sol (PS), malha preta (MP) do tipo Sombrite® e malhas do tipo ChromatiNet® nas cores azul (MA) e vermelho (MV) (com sombreamento de aproximadamente 30, 45 e 45%, respectivamente).

As sementes foram alocadas em vasos plásticos (7 L), contendo como substrato solo e areia fina (2:1). O manejo de irrigação foi manual, realizada diariamente com o auxílio de regadores, exceto em dias chuvosos.

A análise do solo apresentou o seguintes dados: pH 5.0, P: 1.26 mg/dm⁻³, K: 14.77 mg/dm⁻³, Ca: 1.52 cmol/dm⁻³, Mg: 0.33 cmol/dm⁻³, Al: 0,10 cmol/dm⁻³, H+Al: 2.93 cmol/dm⁻³, V: 39.29%, matéria orgânica: 1.23 dag kg⁻¹, argila: 70 dag kg⁻¹, silte: dag kg⁻¹; Areia: dag kg⁻¹.

Em todos os tratamentos foram realizados rodízios entre vasos com periodicidade de 12-15 dias a fim de minimizar possíveis interferências na quantidade de radiação, além de limpeza manual nos ambientes de cultivo e nos vaso a fim de controlar/evitar o crescimento de plantas daninhas.

3.6 Avaliações de crescimento

As avaliações de crescimento foram de caráter destrutivo, realizadas mensalmente ao longo da condução do experimento, por um período de cinco meses (dezembro/2016 a abril/2017). Este período foi contabilizado a partir da emergência das plântulas.

As análises de crescimento foram realizadas com auxílio de régua graduada com precisão de 1 mm, paquímetro digital com precisão de 0,01 mm, balança digital e estufa com circulação forçada, obtendo-se assim os valores para altura da parte aérea (ALT), comprimento da raiz (CR), diâmetro do colo (DC), a massa seca da parte aérea e da raiz (MSPA e MSR). Também foi calculada a razão parte aérea/raiz (PA/R).

3.7 Trocas gasosas

Para as avaliações de trocas gasosas foram selecionadas aleatoriamente quatro plantas por tratamento e três folhas completamente expandidas do folíolo central, localizadas no terço médio. As avaliações foram realizadas às 9h da manhã, na ausência de nebulosidade com um analisador portátil de gases por infra-vermelho (IRGA, LI-COR[®], LI-6400XT). O sistema com fonte artificial de radiação fotossinteticamente ativa foi substituído pelo uso da câmera Sun+sky para que não houvesse alteração entre a relação de luz da faixa do azul/vermelho. A concentração de CO₂ na câmera foi fixada em 380±4 μmol CO₂ mol⁻¹.

As variáveis analisadas foram: fotossíntese líquida (A), transpiração (E), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO₂ (Ci), déficit de pressão de vapor (DPV), temperatura foliar (TF). Além disso, foi calculada a relação de eficiência de carboxilação instantânea (A/Ci), e a relação da concentração de carbono interna/externa (Ci/Ca).

3.8 Avaliações bioquímicas

3.8.1 Teores de carboidratos

Folhas e raízes foram secas em estufa de circulação forçada a 68±1 °C e trituradas em moinhos de facas. Posteriormente, foram pesados 200 mg desse material e homogeneizado em 5 mL de tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 7,0), levados a banho-maria a 40 °C por 30 minutos e centrifugados a 10.000 g por 20 minutos. Os processos de homogeneização e centrifugação foram repetidos novamente e os sobrenadantes combinados e armazenados em freezer -20 °C em potes plásticos.

O sobrenadante foi utilizado para a determinação de açúcares solúveis totais (AST) pelo método de Antrona (Yemm & Willis, 1954), açúcares redutores pelo método do ácido

dinitrosalicílico (Miller, 1959), aminoácidos totais (AT) pelo método de ninhidrina (Yemm & Cocking, 1955), e proteínas totais (PT) pelo método de Bradford (1976). Adicionalmente, o teor de sacarose (Sac) foi estimado pela diferença entre o teor de AST e AR.

3.8.2 Metabolismo antioxidante

A coleta do material foi realizada entre as 9:50-10:20 da manhã, sendo selecionadas aleatoriamente três plantas de cada tratamento coletando-se o trifólio localizado no terço médio, na porção terminal cada planta.

O extrato enzimático foi obtido pela maceração em nitrogênio líquido de 200 mg de matéria fresca acrescido de polivinil polipirrolidona (PVPP, 50% da massa fresca). Posteriormente, seguiu-se o protocolo de extração de acordo com Biemelt et al. (1998), onde o tampão de extração foi composto por tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, EDTA 0,1 mM, ácido ascórbico 10 mM e água destilada. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a 4 °C. Os sobrenadantes foram coletados e utilizados nas análises da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidase do ascorbato (APX), e quantificação de proteínas totais (Bradford, 1976).

Para a determinação da atividade da SOD utilizou-se o método proposto por Giannopolitis & Ries (1977), com modificações. Foram utilizadas alíquotas de 10 µL do sobrenadante e 190 µL do tampão de incubação composto por: tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, água destilada, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM. Posteriormente, a microplaca foi iluminada com lâmpada fluorescente de 20 W por 7 minutos e a leitura foi realizada a 560 nm. A atividade da SOD foi avaliada por sua capacidade em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT).

A CAT teve sua atividade avaliada de acordo com a metodologia descrita por Havir & McHale (1987). Foram utilizadas alíquotas de 9 µL do sobrenadante e 162 µL do tampão de incubação composto por: tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, e água destilada, e 9 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 12,5 mM. A leitura foi realizada a 240 nm e a atividade dessa enzima foi determinada pelo consumo de H₂O₂ a cada 15 segundos, durante 3 minutos.

Para a determinação da atividade da APX utilizou-se a metodologia descrita por Nakano & Assada (1981), com modificações. Foram utilizadas alíquotas de 9 µL do sobrenadante e 162µL do meio de incubação composto por: tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5mM e água destilada. Feito isso, adicionou-se uma alíquota

de 9 μL de H_2O_2 4Mm e realizou-se a leitura a 290 nm. A atividade da APX foi determinada pela taxa de oxidação do ascorbato a cada 15 segundos, por um período de 3 minutos.

As alíquotas do sobrenadante e dos meios de reação foram pipetadas em microplacas de microtitulação de 96 poços e as leituras realizadas em leitora de microplacas. Os meios de incubação para APX e CAT foram incubados em banho-maria a 30 ± 1 °C, antes da quantificação da atividade enzimática.

3.8.3 Peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio

A quantificação da peroxidação lipídica foi realizada pelo método TBARS (ácido tiobarbitúrico), proposto por Buege & Aust (1978). O material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido, acrescido de PVPP e homogeneizados em 1500 μL de ácido tricloroacético (TCA 0,1%). Essas amostras foram centrifugadas a 12.000 g por 15 minutos a 4 °C. Alíquotas de 125 μL do sobrenadante foram transferidas para microtubos contendo 250 μL do meio de reação composto por TBA 0,5% e TCA 10%. Posteriormente, procedeu-se com a incubação das amostras em banho-maria a 95 °C por 30 minutos, paralisando-se a reação por resfriamento rápido em gelo. Posteriormente, alíquotas de 300 μL foram transferidas para microplacas de microtitulação de 96 poços e a leitura foi realizada a 535 e 600 nm.

O teor de H_2O_2 foi quantificado de acordo com a metodologia descrita por Velikova et al. (2000), sendo que os processos de maceração e homogeneização foram os mesmos descritos para a peroxidação lipídica. Alíquotas de 45 μL do sobrenadante foram transferidas para microplacas de microtitulação de 96 poços, em seguida, acrescentou-se 135 μL do meio de reação composto por: tampão fosfato de potássio 2,5 mM, pH 7,0, e iodeto de potássio 0,5 M. A leitura foi realizada a 390 nm. O teor de H_2O_2 foi obtido por meio de cálculos baseados na curva-padrão de H_2O_2 .

3.8.3 Teor de fenólicos e flavonóides totais

3.8.3.1 Preparo do extrato bruto

O doseamento do teor de fenóis e flavonóides totais foi feito à partir de um extrato bruto. Este, por sua vez, foi obtido com a massa seca das folhas (secas em estufa a 39 ± 1 °C) da seguinte forma: 1g de massa seca foi homogeneizada em 10 mL de etanol 70% (VONGSAK et al., 2013). Este material foi então levado para banho-maria a 45 °C por 15 minutos, e, em seguida, foi filtrado em papel filtro qualitativo. Este processo foi repetido por

mais duas vezes. Feito isso, o extrato foi levado para estufa a 49 ± 1 °C para total secagem. Posteriormente, o extrato bruto foi diluído em 5mL de etanol 70% para o doseamento.

3.8.3.2 Fenólicos totais e flavonóides totais

O doseamento dos teores de fenólicos e flavonóides totais foi feita de acordo com a metodologia proposta por Ainsworth & Gillespie, 2007 e Kosalec et al. (2005). O ácido gálico foi utilizado como padrão para os fenóis totais e a rutina para os flavonóides totais. Ambos metabólitos foram quantificados por espectrofotometria, com absorvância de 750 nm para fenóis totais e 425 nm para flavonóides totais. O teor dos mesmos foi calculado com base na curva-padrão e os resultados foram expressos em microgramas de equivalente de ácido gálico por miligrama de extrato bruto ($\mu\text{g EqAG mg}^{-1}$ EB) e microgramas de equivalente de rutina por miligrama de extrato bruto ($\mu\text{g EqR mg}^{-1}$ EB), respectivamente para fenóis e flavonóides totais.

3.9 Anatomia foliar

Para as análises anatômicas foram coletadas folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio na parte terminal em cinco plantas por tratamento, ao fim de 150 dias. Neste procedimento realizou-se o corte das folhas com o auxílio de tesouras, de forma que as folhas entrassem em contato direto com a solução de fixação.

As folhas foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol 70% (FAA 70%), durante 72 horas, e posteriormente foram conservadas frascos contendo etanol 70%. Para a obtenção das seções transversais foram retirados fragmentos de aproximadamente 1,5 cm de comprimento da região mediana das folhas contendo a nervura central. Os cortes transversais foram realizados com o auxílio de micrótomo de mesa e clarificados em hipoclorito de sódio (NaOCl 6%). Posteriormente, foram lavados por três vezes em água destilada e corados com solução de azul de Alcian e safranina (1/0,1%, na proporção de 7:3).

Os segmentos foliares foram montados em lâminas e lamínulas em glicerina 50% e foram avaliados quanto à espessura dos parênquimas paliçádico (PP) e lacunoso (PL), bem como a relação entre eles, espessura do mesofilo e limbo foliar.

3.10 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com oito repetições e quatro tratamentos. Para as análises de biomoléculas (carboidratos, proteínas e

aminoácidos) os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2x4 (órgão x ambiente de sombreamento) com 4 repetições. Os dados obtidos nos parâmetros de crescimento foram submetidos à análise de regressão e a escolha da equação foi baseada no maior coeficiente de determinação (R^2). Quando polinomial, após a derivação da equação determinou-se os pontos de inflexão das curvas. Para as análises bioquímicas, anatômicas e de trocas gasosa os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativos ($p < 0,05$) pelo teste “F” as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises foram realizadas utilizando o software estatístico Assistat versão 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016)

4. RESULTADOS

A precipitação pluviométrica mensal no período de novembro/2016 a abril/2017 foi de 190,2; 145; 157,9; 64,1; 158,6 e 108,3 milímetros, respectivamente.

Os valores médios registrados para temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (U.R. %) em cada ambiente de sombreamento, com base nos valores máximos e mínimos foram semelhantes entre si (Figuras 1-4, APÊNDICE A).

Os dados obtidos pelo espectrorradiômetro demonstram que as plantas cultivadas em pleno sol estiveram expostas a uma maior irradiância, respectivamente no IV, VIS e UV. Os valores de irradiância decresceram de acordo com o ambiente de sombreamento, apresentando maiores níveis em MV, seguido MA e MP. Além disso, foi observado que grande parte dessa irradiância, independentemente do horário de avaliação, concentrou-se na região do IV, precedida pela região do VIS e uma pequena fração na região UV. Verificou-se também que os contrastes de irradiância na faixa do VIS entre os tratamentos foram mais perceptíveis ao entardecer, e, dentre as malhas testadas, a vermelha foi a que exibiu maiores valores (em W m^{-2}) na região do IV (Tabela 1, APÊNDICE B).

A densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) foi de aproximadamente $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em PS, $843 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na MV, $659 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na MP e $633 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na MA.

4.1 Crescimento

Verificou-se um incremento em ALT, DC, MSPA e MSR (figuras 6-9) nas plantas de moringa durante todo o período experimental. Ao fim de 150 dias, verificou-se que a ALT das plantas cultivadas em PS foi inferior em aproximadamente 62; 74 e 70%, comparadas às plantas cultivadas sob MP, MA e MV, respectivamente (Figura 6).

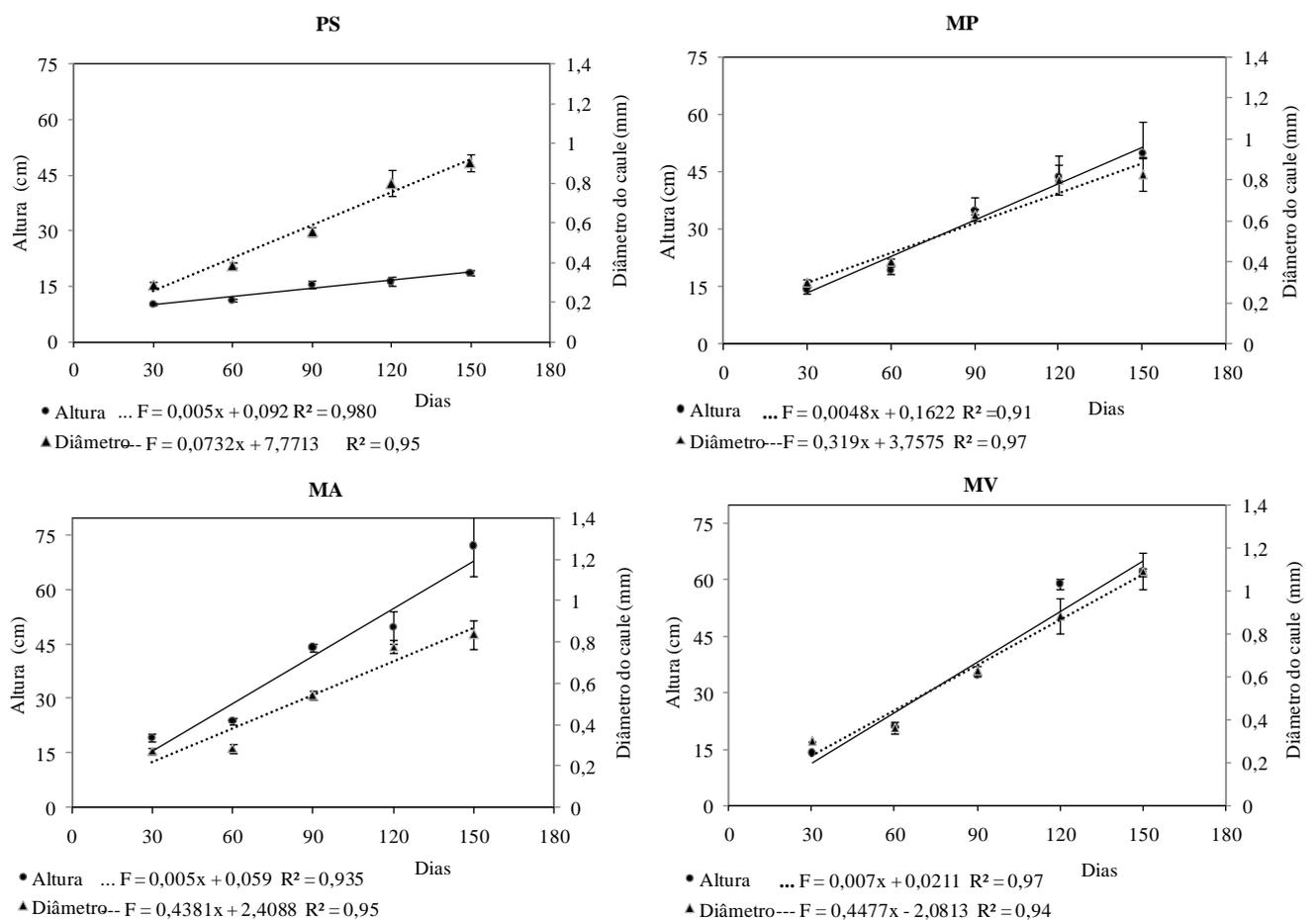


Figura 6 – Altura da parte aérea e diâmetro do colo de plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento: pleno sol, malhas preta, azul e vermelha (30% de sombreamento).

As plantas sob MV apresentaram o DC superior, seguidas de PS, MP e MA. Verificou-se ainda, que plantas cultivadas em PS apresentaram menor comprimento entrenós, comparado às plantas de ambiente sombreado (figura 7).



Figura 7 – Plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em PS, MP, MA, e MV, respectivamente, da esquerda para direita, ao fim de 150 dias após a emergência, demonstrando a distância de entrenós em cada tratamento.

O menor acúmulo de MSPA (Figura 8) foi registrado em plantas cultivadas em PS; para esta variável a diferença entre as plantas de PS e as cultivadas sob MP, MA e MV foi de aproximadamente 39; 63 e 67%, respectivamente.

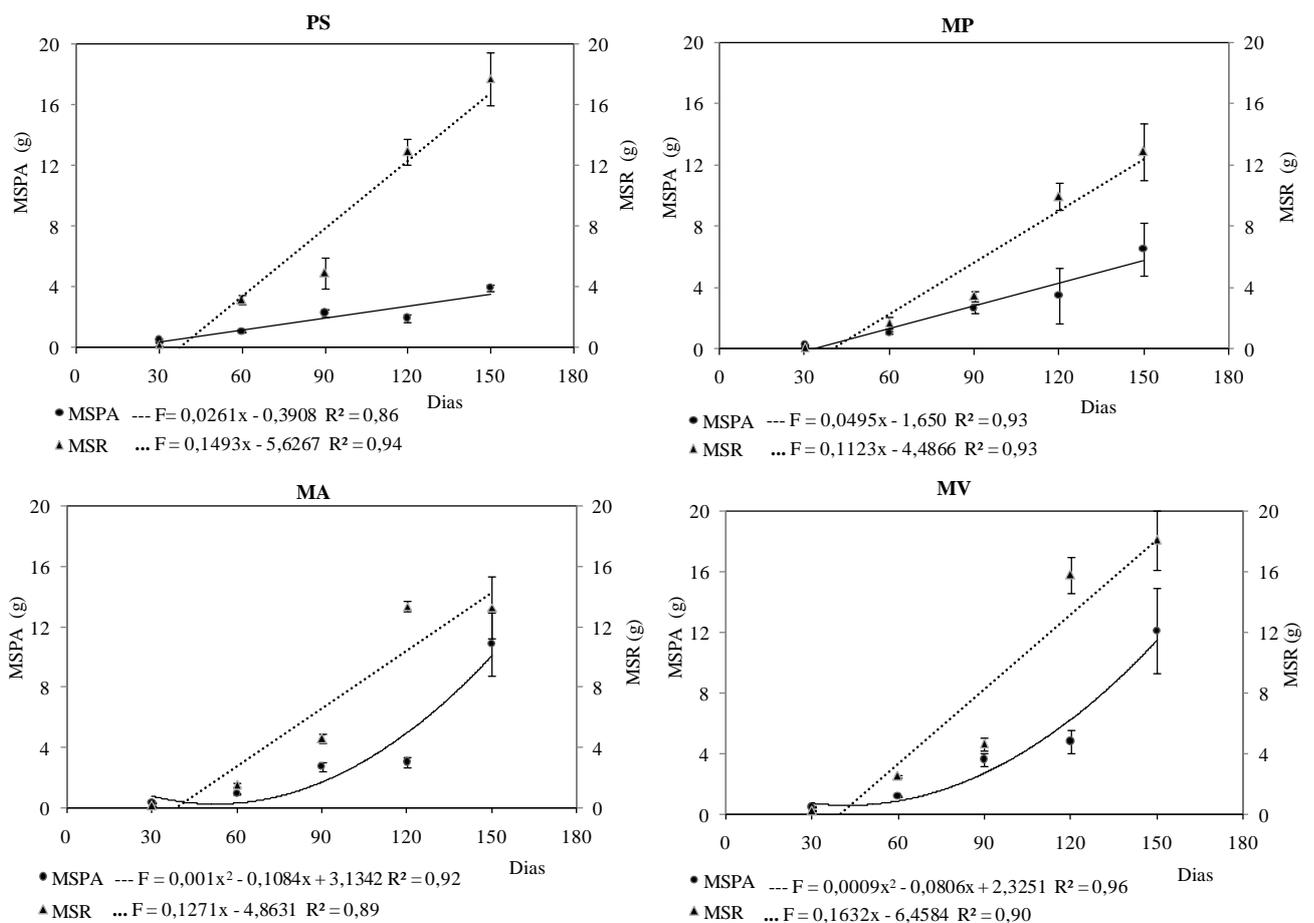


Figura 8 – Massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) de plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento: pleno sol, malhas preta, azul e vermelha.

Quanto a MSR houve acúmulo crescente e constante em todos os ambientes testados, no entanto, o maior acúmulo foi obtido em plantas cultivadas sob MV (18,058g), que representou uma diferença de aproximadamente 2; 26,4 e 28,76% em relação às plantas de PS, MA e MV (Figura 8).

O maior acúmulo de MST também foi registrado em plantas sob MV (30,128g), apresentando uma diferença de aproximadamente 27,8; 35,6 e 19,45% em relação às plantas de PS, MP e MA, respectivamente (Figura 9).

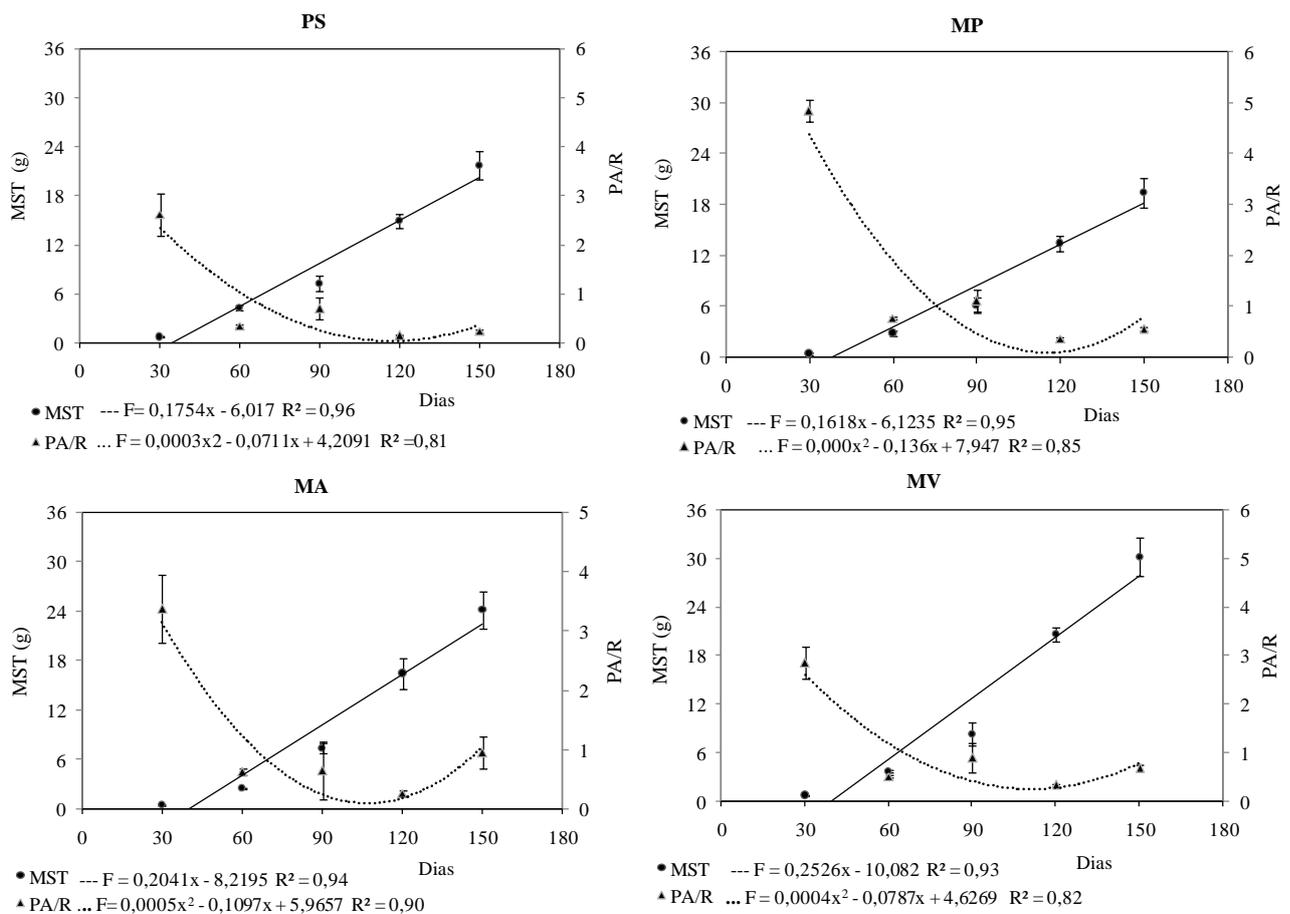


Figura 9 – Massa seca total (MST) e razão PA/R de plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento: pleno sol, malhas preta, azul e vermelha.

Com relação a razão PA/R houve decréscimo durante todo o período experimental. Foi observado ainda que plantas cultivadas em PS exibiram PA/R inferior aos demais tratamentos (figura 9).

4.2 Trocas gasosas

Quanto as trocas gasosas foram observadas diferenças significativas para as variáveis A , g_s , E , TF e A/C_i , sendo que as plantas cultivadas em pleno sol apresentaram maiores valores, com exceção da TF que foi semelhante entre plantas de PS e MV. As variáveis de C_i e DPV não apresentaram diferença entre os tratamentos (figura 10).

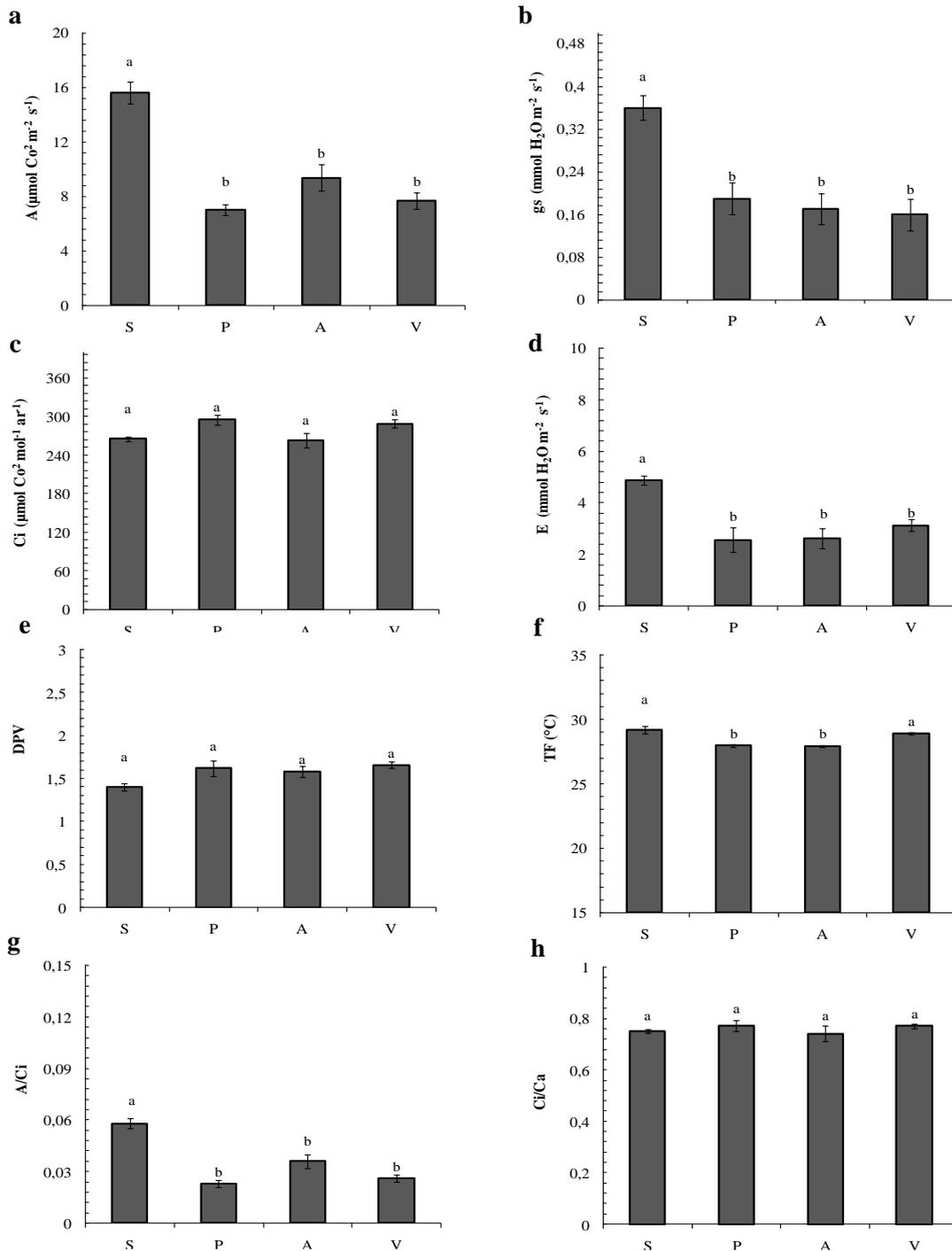


Figura 10 – Atividade fotossintética (a), condutância estomática ao vapor d'água (b), concentração intracelular de CO_2 (c), taxa de transpiração (d), déficit de pressão de vapor (e), temperatura foliar (f), relação entre a concentração intercelular/extracelular de CO_2 (C_i/C_a) (g) e eficiência de carboxilação

(A/Ci) (h) de plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes ambientes de radiação: pleno sol (S), malha preta 50% (P), malha azul 50% (A) e malha vermelha 50% (V). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.3 Teores de carboidratos

Verificou-se efeito na interação entre o fator órgão de acúmulo (folhas e raízes) e o ambiente de sombreamento apenas para o conteúdo de AR, havendo maior acúmulo em folhas sob condições de pleno sol (Figura 11b). Para o conteúdo de AST e Sac houve efeito isolado apenas para o fator ambiente de sombreamento, havendo menor acúmulo em folhas e raízes de plantas cultivadas em MA (Figura 11a-c). Quanto ao conteúdo de AT e PT observou-se diferença de maneira isolada apenas para o fator órgão de acúmulo, apresentando de maneira geral valores superiores em folhas (Figura 11d-e). Esse maior acúmulo nas folhas comparado a raiz, correspondeu a uma diferença de aproximadamente 68; 82; 78 e 75,5% para AT e 87; 85,7; 36,5 e 84% para PT em plantas cultivadas em PS, MP, MA e MV, respectivamente.

4.4 Metabolismo antioxidante

Quanto ao sistema enzimático antioxidante em folhas de moringa (SOD-CAT-APX), observou-se um padrão de comportamento semelhante em todos os ambientes testados. Assim, a atividade das enzimas SOD, CAT e APX foram superiores em plantas cultivadas sob MP seguida de PS, MV e MA (figura 12). Em contrapartida, os níveis de peroxidação lipídica, em plantas de PS apresentaram maior conteúdo de aldeído malônico (ADM) e peróxido de hidrogênio. Enquanto que plantas cultivadas sob malhas de sombreamento (MP, MA e MV) apresentaram menores conteúdo de ADM e peróxido de hidrogênio (figura 13).

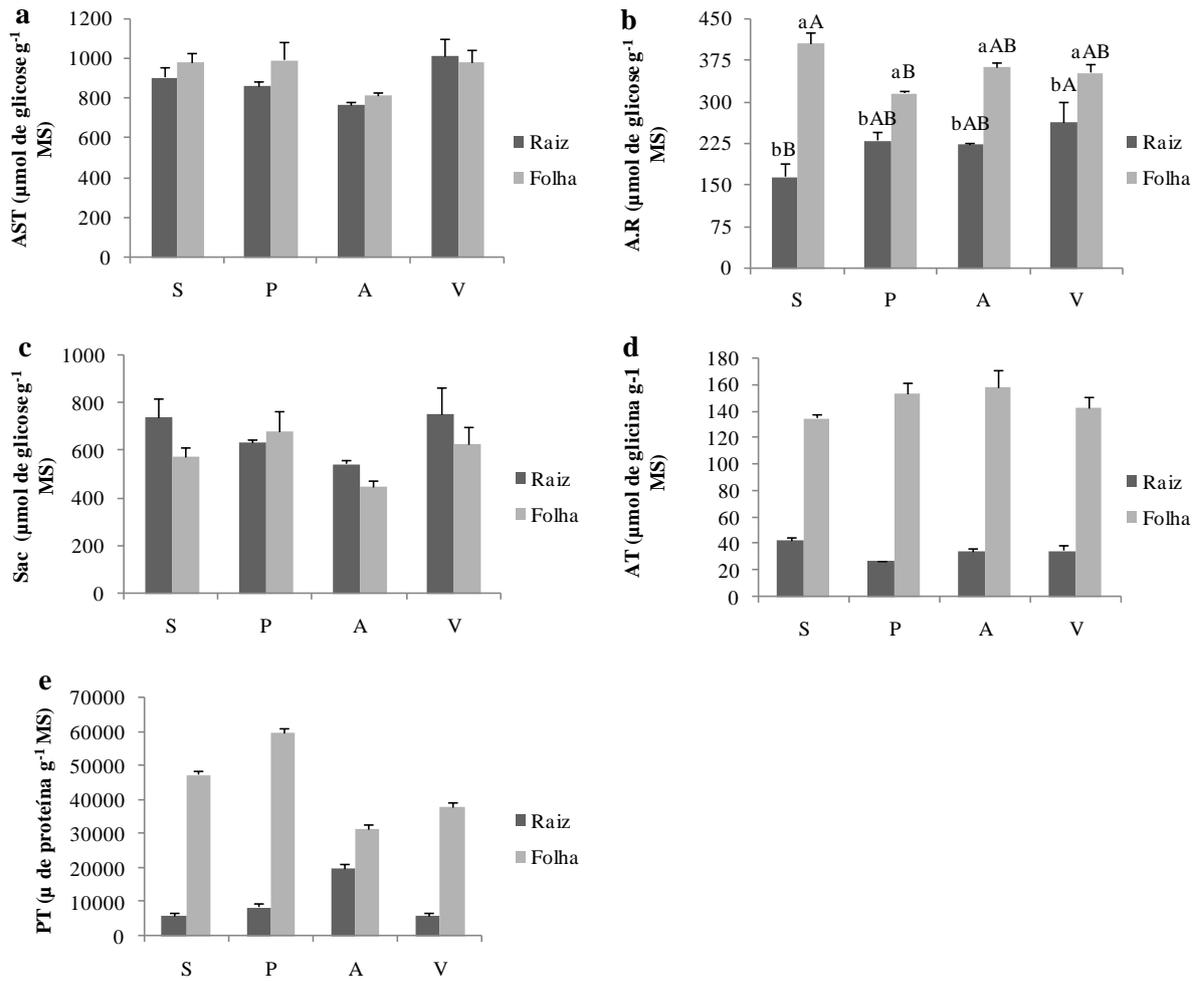


Figura 12 – (a) Teor de açúcares solúveis totais (AST); (b) açúcares redutores (AR); (c) sacarose (Sac); (d) aminoácidos totais (AT); e (e) proteínas totais em folhas e raízes de plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento. *Barras indicam (\pm) erro padrão da média; letras minúsculas comparam entre os órgãos e maiúsculas comparam entre níveis de sombreamento.

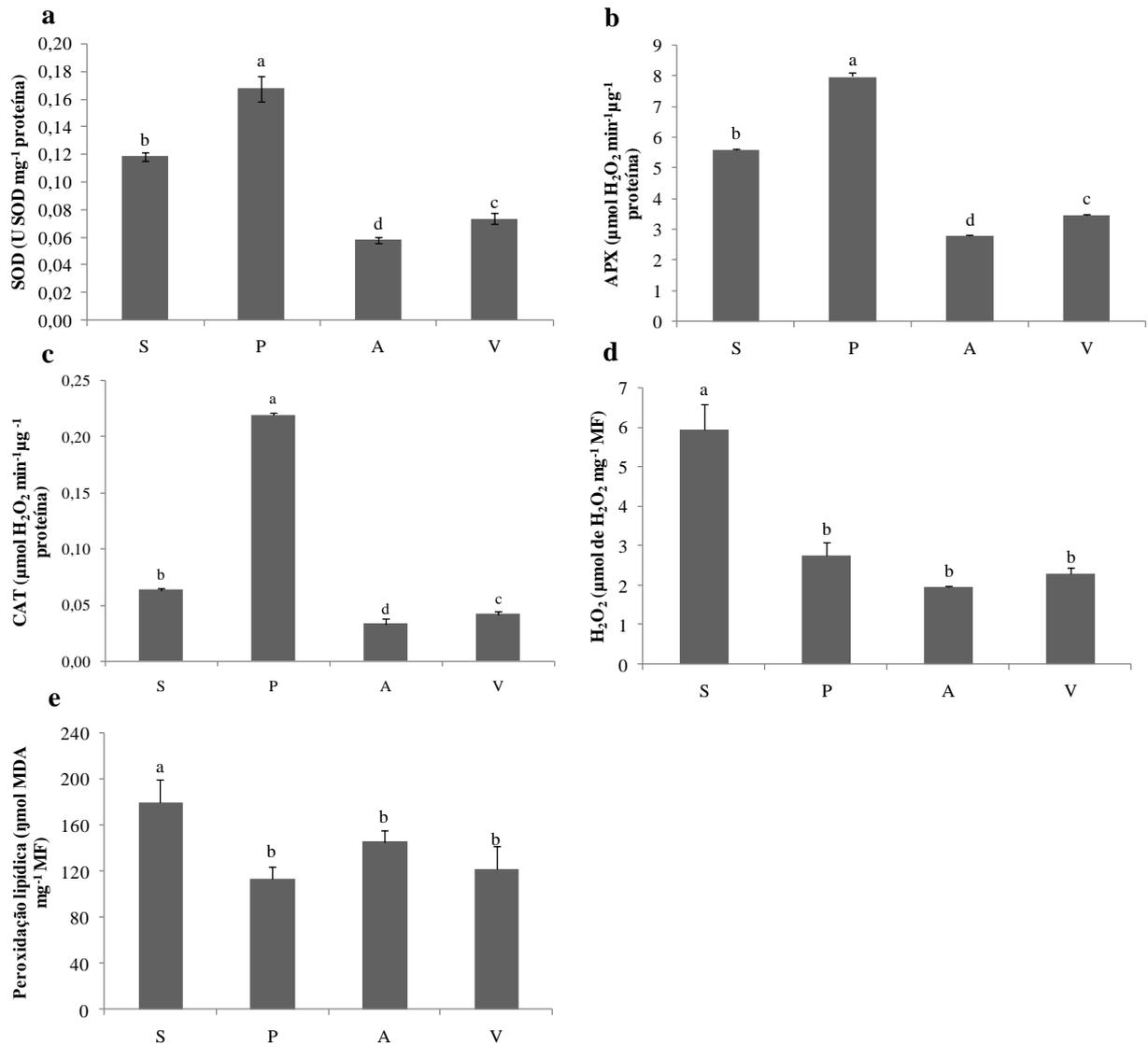


Figura 13 – (a) Atividade da dismutase do superóxido (U SOD mg⁻¹ proteína), (b) peroxidase do ascorbato (APX - μmol H₂O₂ min⁻¹ μg de proteína), (c) catalase (CAT - μmol H₂O₂ min⁻¹ μg⁻¹ de proteína), (d) conteúdo foliar peróxido de hidrogênio (μmol H₂O₂ min⁻¹ μg⁻¹ de proteína), e (e) de aldeído malônico (MDA) (ηmol MDA mg⁻¹ MF) em folhas de plantas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento.

*Barras indicam ± erro padrão da média. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

4.5 Teor de compostos fenólicos e flavonóides totais

Foram verificadas diferenças significativas quanto ao conteúdo de compostos fenólicos e flavonóides totais em todos os tratamentos. Foi observado que as folhas de plantas cultivadas sob MA e MV apresentaram, respectivamente, menor e maior teor de fenólicos totais; contudo, o teor de flavonóides totais em folhas sob MA foi superior aos demais níveis de sombreamento (tabela 2).

Tabela 2 – Teores de fenólicos ($\mu\text{g EqAG mg}^{-1}$ EB) e flavonóides totais ($\mu\text{g EqR mg}^{-1}$ EB) de folhas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento.

Ambiente	Fenólicos totais	Flavonóides totais
PS	190,150 c	57,294 c
MP	197,373 b	69,920 b
MA	175,994 d	82,375 a
MV	206,527 a	69,137 b

*PS: pleno sol; MP: malha preta; MA: malha azul; MV: malha vermelha.
Médias diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.6 Anatomia

Com relação às características anatômicas, foram observadas diferenças significativas em todas as variáveis analisadas (tabela 3).

Tabela 3 – Espessura do limbo (EL), Espessura do parênquima paliçádico (EPP), Espessura do parênquima lacunoso (EPL), Razão EPP/EPL e Espessura do mesofilo (EM) de folhas de *Moringa oleifera* cultivadas em diferentes níveis de sombreamento.

Ambiente	EL (μm)	EPP (μm)	EPL (μm)	EPP/EPL (μm)	EM (μm)
PS	10,86 a	5,93 a	5,18 a	1,56 b	10,8 a
MP	7,78 b	4,23 b	3,65 b	1,18 a	7,78 b
MA	7,05 c	3,27 d	3,86 b	0,90 c	7,05 c
MV	7,40 bc	3,89 c	3,72 b	1,05 b	7,40 c

*PS: pleno sol; MP: malha preta; MA: malha azul; MV: malha vermelha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As folhas das plantas cultivadas a pleno sol exibiram maior espessura nos PP e PL, limbo foliar e mesofilo, ao passo que folhas cultivadas sob malha azul apresentaram espaços mais curtos no PP, mesofilo e menor relação entre PP/PL. Além disso, foi verificado efeito significativo para a EL, espessura do PP e do mesofilo em folhas das plantas cultivadas sob condições de sombreamento, sendo que os menores valores registrados foram em folhas de plantas cultivadas sob MA (Figura 14).

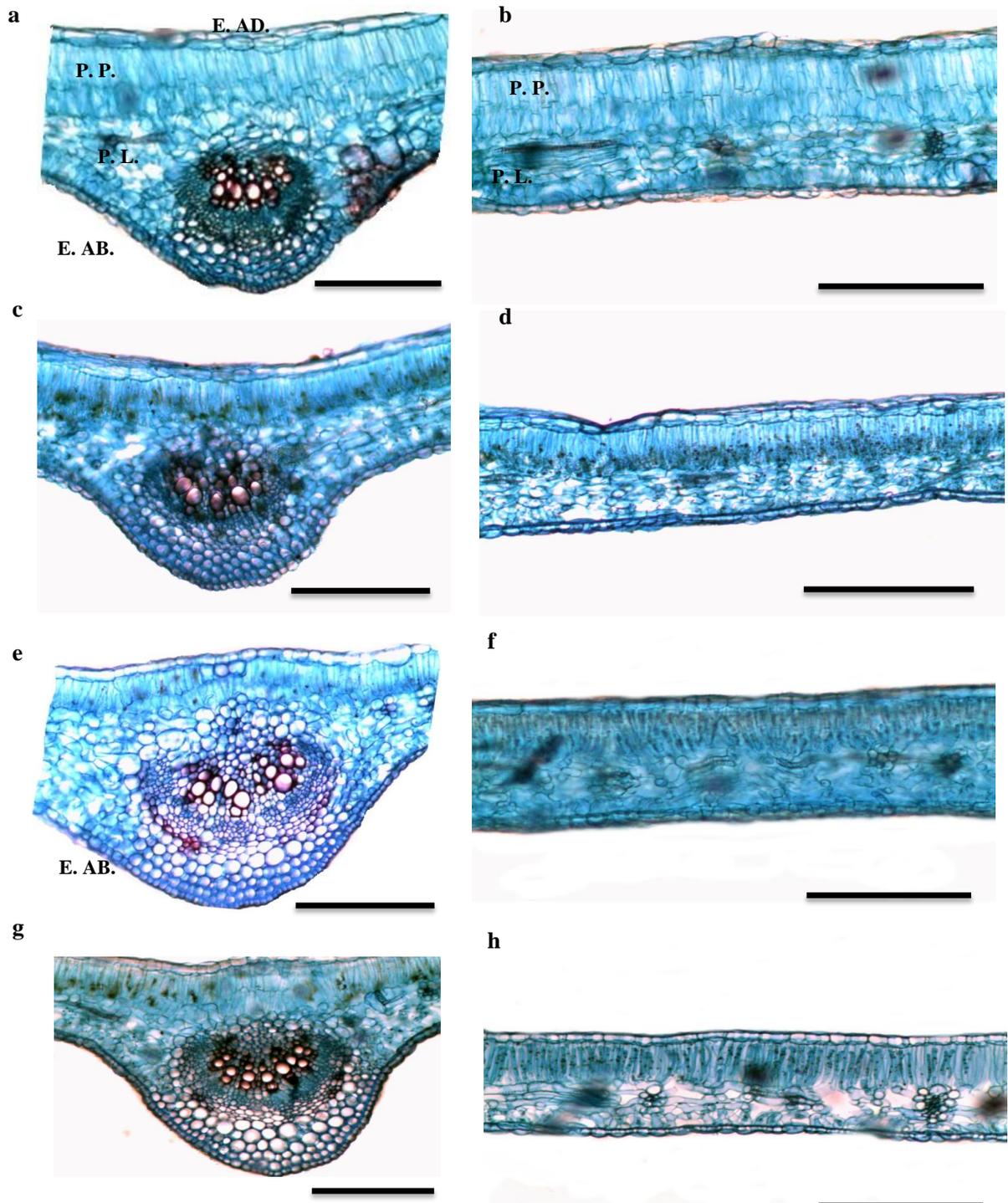


Figura 12 – Secções transversais da nervura e do limbo de folhas de *Moringa oleifera* cultivadas em pleno sol (a e b); malhas preta (c e d); azul (e e f) e vermelha (g e h) com 150 dias após a germinação visível. Barras= 10µm. P. P.: parênquima paliçádico; P. L.: parênquima lacunoso; E. AD.: epiderme adaxial; E. AB.: epiderme abaxial.

5. DISCUSSÃO

As plantas de moringa cultivadas em condições de PS apresentaram menor crescimento e acúmulo de biomassa na parte aérea. Esse resultado pode está relacionado a processos oxidativos, visto que os maiores níveis de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica foram observados nessas condições. Dessa forma, os danos oxidativos, provavelmente, ocorreram em decorrência dos altos NI existentes nestas condições (PS), induzindo as planta a um alto estado de redução e, conseqüentemente, a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs). Assim, o desequilíbrio entre a formação de EROs e o sistema de defesa antioxidante causam danos ao metabolismo celular, principalmente ao aparato fotoquímico (NOCTOR; MHAMDI; FOYER, 2014; SHAMAR et al., 2012; SCHMITT et al., 2014; TAKAHASHI et al., 2010).

Portanto, pode-se inferir que provavelmente parte dos fotoassimilados que deveriam ser destinados ao crescimento e acúmulo de biomassa, foram destinados ao reparo de danos oxidativos (CARRETO et al., 2015). Além disso, como a atividade das enzimas antioxidantes não foram tão expressivas (Figura 12) em plantas de pleno sol pode ter ocorrido um ajuste do sistema antioxidante de forma mais efetiva para agentes não enzimáticos como ascorbato, carotenóides, metabólitos secundário e o ciclo da violaxantina, anteraxantina e zeaxantina (FAVARETTO et al., 2011, GUIDI et al., 2008; JALEEL et al., 2009; SHAO et al., 2014; SCHMITT et al., 2014). Para tanto, o processo de síntese e acúmulo desses compostos apresenta alta demanda metabólica, o que compete diretamente com o processo de crescimento (CARRETO et al., 2015; SCHMITT et al., 2014).

Quanto às plantas cultivadas em condições de sombreamento notou-se maior crescimento e acúmulo de biomassa. O que pode estar relacionado à maior disponibilidade de área fotossintética refletida pelo aumento tanto em superfície como no número de folhas. Dessa forma, as plantas cultivadas em malhas de sombreamento compensam a produção de fotoassimilados pela expansão da sua área foliar (TERASHIMA et al., 2006). Enquanto plantas de PS reduzem esse parâmetro (CERQUEIRA et al., 2018; LI et al., 2014; PACHECO et al., 2014; ZIVCAK et al., 2014), porém, aumentam a espessura dos parênquima paliçádico e lacunoso e do mesófilo (figura 14), assimilando uma maior quantidade de carbono por área, o que refletiu em maiores taxas fotossintéticas (figura 10).

Folhas expostas a pleno sol e maiores NI possuem características responsivas específicas, quando comparadas a folhas sombreadas, tendendo a ser menor, mais espessas e com aumento de mesófilo por unidade de área. Estes ajustes estão associados à regulação da

difusão de luz e gases dentro da folha otimizando a eficiência fotossintética (TERASHIMA et al., 2006). Isto é condizente com os resultados obtidos para trocas gasosas, onde observou-se maior A e g_s em folhas de pleno sol, em comparação com as folhas de ambiente sombreado. Resultados semelhantes foram relatados por Gonçalves et al., 2013; Lima Júnior et al., 2005; Martins et al., 2014 e Rodrigues et al., 2015.

A quantidade de energia que circula no ambiente é bastante variável e vai de encontro à capacidade de aclimação de cada espécie ou órgão. Neste caso, à medida que a luz se torna um fator limitante, por seu excesso ou baixa densidade, há uma possibilidade de ocorrer maior ou menor crescimento, especialmente em altura, tendo em vista o fato de que a arquitetura da planta pode ser modificada a fim de se ajustar ao ambiente (CARRETO et al., 2015; KEARA et al., 2005; KRAHMER et al., 2018). Isto demonstra que os níveis de irradiância e, conseqüentemente, de energia disponível em cada ambiente foi um importante *driver* para esta variável e para todas as outras variáveis, observando-se um DFFFA era em média de 2000, 530, 620 e 800 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, nas plantas de PS, MP, MA e MV. Estudos realizados em condições geográficas semelhantes a deste experimento também demonstraram uma tendência de menor crescimento da parte aérea e DC em plantas cultivadas em PS, quando comparadas a plantas crescidas sob condições de sombreamento (ALVARENGA et al., 2003; LIMA JÚNIOR et al., 2005; PACHECO et al., 2014).

No início do desenvolvimento das plantas notou-se que o crescimento da parte aérea foi superior em relação a raiz, o que resultou em maiores valores na relação PA/R em todos os tratamentos (Figura 9). No entanto, ao longo do tempo houve uma tendência decrescente da relação PA/R como reflexo do crescimento superior da raiz. Portanto, todos os tratamentos apresentaram como padrão de particionamento o acúmulo de biomassa na raiz, e esta relação foi mais evidente em plantas de PS, que investiram aproximadamente 81,69% de sua massa seca total para este órgão. Nos demais tratamentos esta porcentagem foi de 66,25; 55,05 e 59,93%, respectivamente, para MP, MA e MV.

A raiz além de apresentar a função de fixação e absorção de água e nutrientes, pode em algumas espécies como a *M. oleifera* ser o principal órgão de reserva e também de propagação. Dessa forma, os resultados obtidos indicam que o particionamento de matéria seca destinado preferencialmente para raiz pode indicar uma estratégia de sobrevivência. Visto que, sob condições desfavoráveis as plantas tendem a destinar a produção de biomassa para órgãos de reserva que possuam funções reprodutivas ou propagativas (LEMOINE et al., 2013; ZIVCAK et al., 2014; ZWICKE et al., 2015; SUGIURA; KOJIMA; SAKAKIBARA, 2016;

FIORUCCI; FANKHAUSER, 2017; POORTER et al., 2011; SABOYA; BORGHETE, 2012).

O acúmulo de biomoléculas do metabolismo primário apresentou interação entre órgãos e ambiente apenas para o conteúdo de AR. Indicando que o conteúdo de AR em folhas e raízes foram dependentes do ambiente de sombreamento. Dessa forma, houve maior conteúdo desses açúcares em folhas comparado à raiz, especialmente em plantas de PS. Evidentemente, as folhas são órgãos fontes de açúcares e dependendo da demanda metabólica da planta, uma maior fração destes pode ser convertida a sacarose e transportada para órgãos dreno (OBATA; FERNIE, 2012; ROSA et al., 2009). Portanto, o maior conteúdo de AR em folhas de PS pode ser um reflexo da maior demanda metabólica nesses órgãos, que pode estar relacionado ao reparo de danos celulares decorrentes do estresse oxidativo, ou síntese de metabólitos destinados a ação de defesa antioxidante (KEUNEN et al., 2013; OBATA; FERNIE, 2012; SHAMAR et al., 2012).

O conteúdo de PT e AT foram superiores em folhas independentemente do sombreamento, e pode estar associado diretamente à assimilação de nitrogênio, que ocorre de maneira mais intensa neste órgão, além de apresentar maior demanda de proteínas necessárias para manter a maquinaria fotossintética (OBATA; FERNIE, 2012; WHITE et al., 2012).

Com relação ao teor de compostos fenólicos houve maior acúmulo em folhas de plantas cultivadas sob MV, ao passo que o menor acúmulo foi observada em folhas de plantas cultivadas sob MA. Apesar do menor acúmulo de compostos fenólicos em folhas sob MA notou-se um maior investimento no conteúdo de flavonóides totais, quando comparado aos demais tratamentos. Este resultado indica que o acúmulo de flavonóides foi favorecido pelo enriquecimento de onda na faixa do azul (CHEYNIER et al., 2013; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Enquanto que o acúmulo mais expressivo de fenólicos totais em folhas expostas às MV e MP comparadas às de PS podem estar relacionada a atividade mais efetiva das enzimas do metabolismo secundário como FAL (fenilalanina amônia liase) e CHS (chalcona sintase). No entanto, a compreensão desse mecanismo necessita de mais esclarecimentos (MORALES et al., 2010; PACHECO et al., 2014).

6. CONCLUSÕES

O uso de malhas, caracterizando níveis de sombreamento e com alteração espectral da luz por MA e MV, contribuiu para o maior crescimento de plantas de *M. oleifera*, possibilitando melhor partição de biomassa seca entre folhas e raízes, em comparação com as plantas cultivadas em pleno sol, além de auxiliar na minimização de danos fotooxidativos por meio do acúmulo de flavonóides totais. MV e MA proporcionaram maiores acúmulos para fenólicos e flavonóides totais, respectivamente.

Plantas de moringa em fase juvenil (150 dias) sob condições de PS alteram a relação de partição de biomassa para as raízes como uma possível estratégia de sobrevivência, tendo em vista que a planta produz raízes tuberosas.

A compreensão dos efeitos dos níveis de irradiância solar em plantas de moringa é bastante promissora e poderá fornecer suporte para futuras pesquisas sobre a otimização da produção de metabólitos secundários, especialmente de compostos fenólicos, aliado à produção e partição de biomassa.

REFERÊNCIAS

- AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v.22, p. 239-244, 2011.
- AINSWORTH, E.A.; GILLESPIE, K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidate substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.
- ALVARENGA, A. A. et al. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**, v. 27, n. 1, p. 53-57, 2003.
- AMBI, A. A. et al. Toxicity evaluation of *Moringa oleifera* leaves. **International Journal of Pharmaceutical Research and Innovation**, v. 4, p. 22-24, 2011.
- AMTHOR, J. S. From sunlight to phytomass: on the potential efficiency of converting solar radiation to phyto-energy. **New Phytologist**, v. 188, p. 939-959, 2010.
- ARAÚJO, C. S. et al. Characterization and use of *Moringa oleifera* seeds as biosorbent for removing metal ions from aqueous effluents. **Water Science & Technology**, v. 62, n. 9, p. 2198-2203, 2010.
- ARAÚJO, M. et al. Plasticity of young *Moringa oleifera* L. plants to face water deficit and UVB radiation challenges. **Journal of Photochemical and Photobiology B: Biology**, v. 162, p. 278-285, 2016.
- BARNABAS, J.; MURTHY, S. S.; JAGDEESH. Antimicrobial properties of endophytic fungi isolated from *Cynodon dactylon* and *Moringa oleifera*. **International Journal of Biological & Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 2, p. 98-104, 2013.
- CARRETO, S. et al. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 26378-26394, 2015.
- CERQUEIRA, A. F. et al. Photosynthetic plasticity of young plants of *Carpotroche brasilienses* (Raddi) A. Gray, Achariaceae. **Tree**, v. 32, n. 1, 2018.
- CHEYNIER, V. et al. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 1-20, 2013.
- CHODUR, G. M. et al. Wild domesticated *Moringa oleifera* differ in taste, glucosinolate composition, and antioxidant potential, but not myrosinase activity or protein content. **Scientific Reports**, v. 8, n. 7995, p. 1-10, 2018.
- COSTA, A. C. et al. The effect of irradiance and water restriction on photosynthesis in young jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigocarpa*) plants. **Photosynthetica**, v. 53, n. 1, p. 118-127, 2015.

CYSNE, J. R. B. **Propagação in vitro de *Moringa oleifera* L.** 2006, 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

FAHEY, J. W. *Moringa oleifera*: A review of the medicinal evidence for its nutritional therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. Trees for Life Journal: A Forum on Beneficial Trees and Plants, Maryland, USA: 2005.

FAVARETTO, V. et al. Defferential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical trees species grown under sun and shade condictions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 70, p. 20-28, 2011.

FIORUCCI, A.-S.; FANKHAUSER, C. Plant strategies for enhancing acess to sunlight. **Current Biology**, v. 27, p. 931-940, 2017.

FÖRSTER, N. et al. Ecotype variability in growth and secondary metabolite profile in *Moringa oleifera*: impact of sulfur and water availability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 2852-2861, 2015b.

FÖRSTER, N. et al. Development of a reliable extraction and quantification method for glucosinolates in *Moringa oleifera*. **Food Chemistry**, v. 166, p. 456-464, 2015a.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

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

GOPALAKRISHNAN, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D. S. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 2, p. 49-56, 2016.

GUIDI, L. et al. Interactions of water stress and solar irradiance oh the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare*. **Tree Physiology**, v. 28, p. 873-883, 2008.

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

HOLE, C. C.; DEARMAN, J. The effect of photon flux density on distribution of assimilate between shoot and storage root of carrot, red beet and radish. **Scientia Horticulturae**, v. 55, p. 213-225, 1993.

JALEEL, C. A. et al. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in high plants under abiotic constrains. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 3, p. 427-436, 2009.

JESUS; A. R. de. et al. **Cultivo da *Moringa oleifera***. Dossiê técnico. Instituto Euvaldo Lodi/BA, 23p, 2013

JONES, H. G. et al. Radiation measurement for plant ecophysiology. **Journal of Experimental of Botany**, v. 54, n. 384, p. 879-889, 2003.

KALOGO, Y. et al. Effect of water extract of *Moringa oleifera* seeds on the hydrolytic microbial species diversity of a UASB reactor treating domestic wastewater. **Letters in Applied Microbiology**, v. 31, n. 3, p. 259-264, 2000.

KANSAL, K. S.; KUMARI, A. Potential of *M. oleifera* for the treatment of water and wastewater. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 9, p. 4993-5010, 2014.

KARADI, R. V. et al. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. **Ethnopharmacological Communication**, v. 105, n.1-2, p. 306-311, 2006.

KEUNEN, E. et al. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, p. 1242-1255.

KOSALEC, I. et al. Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. **Acta Pharmaceutica**, v. 55, n. 4, p. 423-430, 2005.

KRAHMER, J. et al. Phytochrome, carbon sensing, metabolism and plant growth plasticity. **Plant Physiology**, v. 176, v. 2, p. 1039-1048, 2018.

KRAUSE, G. H. et al. High-light stress does not impair biomass accumulation of sun-acclimated tropical trees seedlings (*Calophyllum longifolium* Willd. And *Tectona grandis* L. f.). **Plant Biology**, v. 8, p. 31-41, 2006.

KSENZHEK, O. S.; VOLKOV, A. G. **Plant energetics**. San Diego, USA. Academic Press. 1998. 389 p.

LAISK, A. et al. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 375-388, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. 3ª Ed. São Carlos: Rima, 2000. 531p. (Trad. Carlos Henrique B. A. Prado).

LÉDO, A. S. et al. **Propagação in vitro de moringa (*Moringa oleifera* Lam.)**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 39, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 18 p. 2008.

LEMOINE, R. et al. Source-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, article 272, 2013.

LEONE, A. et al. *Moringa oleifera* seeds and oil: characteristics and uses for human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1-14, 2016.

LI, Q. et al. Morphological and photosynthetic response to high and low irradiance of *Aeschynanthus longicaulis*. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-8, 2014.

LIMA JUNIOR, E. de C. et al. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1092-1097, 2005.

MALDINI, M. et al. '*Moringa oleifera*: study of phenolics and glucosinolates by mass spectrometry'. **Journal Mass Spectrometry**, v. 49, n. 9, p. 900-910, 2014.

- MARCELIS, L. F. M.; HEUVELINK, E.; VAN DIJK, D. Pithiness and growth of radish tubers as affected by irradiance and plant density. **Annals of Botany**, v. 79, p. 397-402, 1997.
- MARTÍNEZ-ESTESO, M. J. et al. The role of proteomics in progressing insights into plant secondary metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 504, 2015.
- MARTINS, S. C. V. et al. Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. **Plos One**, v. 9, n. 4, e95571, 2014.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- MORALES, L. O. et al. Effects of solar UV-A and UV-B radiation on gene expression and phenolic accumulation in *Betula pendula* leaves. **Tree Physiology**, v. 30, p. 923-934, 2010.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and cell physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.
- NOCTOR, G.; MHAMDI, A.; FOYER, C. H. The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. **Plant Physiology**, v. 164, p. 1636-1648, 2014.
- OBATA, T.; FERNIE, A. R. The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 69, n. 19, 2012.
- OLSON, M. E. Combining data from DNA sequences and morphology for a phylogeny of Moringaceae (Brassicales). **Systematic Botany**, v. 27, n. 1, 2002.
- PACHECO, F. V. et al. Growth and production of secondary compounds in monkey-pepper (*Piper aduncum* L.) leaves cultivated under altered ambient light. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 15, p. 1510-1516, 2014.
- POORTER, H.; NIKLAS, K. J.; REICH, P. B.; OLEKSYN, J.; POOT, P.; MOMMER, L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. **New Phytologist**, v. 19, p. 35-50, 2011.
- QUIDEAU, S. et al. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, 50, p. 586-621, 2011.
- RAMOS, L. M. et al. Morfologia de frutos e sementes e morfofunção de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 156-160, 2010.
- REIS, S. M. et al. Desenvolvimento inicial e qualidade de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 11-20, 2016.
- RIVAS, R.; OLIVEIRA, M. T.; SANTOS, M. G. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 200-208, 2013.

- ROLIM, L. A. D. M. M. et al. Genotoxicity evaluation of *Moringa oleifera* seed extract and lectin. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 53-58, 2011.
- ROSA, M. et al. Soluble sugars – metabolism, sensing and abiotic stress. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n. 5, p. 388-393, 2009.
- SANTANA, C. R. et al. Caracterização físico química da moringa (*Moringa oleifera* Lam). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 55-60, 2010.
- SABOYA, P.; BORGHETE, F. Germination, initial growth, and biomass allocation in three native *Cerrado* species. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, v. 2, p. 129-135, 2012.
- SCHMITT, F. J. et al. Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring, and role in stress-signaling in phototropic organism. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1837, n. 6, p. 835-848, 2014.
- SCHULZE, ED.; BECK, E.; MÜLLER-HOHENSTEIN, K. **Plant ecology**. 2005. Berlin: Springer. 702 p.
- SHAO, Q. et al. Effects of shade treatments on photosynthetic characteristics, chloroplasts ultrastructure, and physiology of *Anoectochilus roxburghii*. **Plos One**, v. 9, n. 2, e85996, 2014.
- SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 26p, 2012.
- SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, setembro, 2016.
- SILVA, P. C. C. et al. Comportamento germinativo de sementes de *Moringa oleifera* L. em diferentes ambientes e tempos de armazenamento. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 8, n. 1, p. 1-6, 2012.
- STEPHENSON, K. K.; FAHEY, J. W. Development of tissue culture methods for the rescue and propagation of endangered *Moringa* spp. germplasm. **Economy Botany**, 58 (supplement), p. 116-124, 2004.
- SUGIURA, D.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H. Phytohormonal regulation of biomass allocation and morphological and physiological traits of leaves in responses to environmental changes in *Polygonum cuspidatum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, article 1189, 2016.
- TAKAHASHI, S.; MILWARD, S.; YAMORI, W.; EVANS, J. R.; HILLIER, W.; BADGER, R. The solar action spectrum of photosystem II damage. **Plant Physiology**, v. 153, p. 988-993, 2010.
- TORRES-CATILLO, J. A. et al. *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. **Phyton, International Journal of Experimental Botany**, v. 82, p. 193-202, 2013.

- OREN-SHAMIR, M. et al. Coloured shad nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 76, n. 3, 2001.
- OUZOUNIS, T. et al. Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 19, p. 1-14, 2015.
- URBAN, O. et al. Induction of photosynthesis and importance of limitations during the induction phase in sun and shade leaves of five ecologically contrasting tree species from the temperature zone. **Tree Physiology**, v. 27, p. 1207-1215.
- VONGSAK, B. et al. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 566-571, 2013.
- WHITE, A. C. et al. How can we make plant grow faster? A source-sink perspective on growth rate. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 31-45, 2016.
- WINK, M. **Biochemistry of plant secondary metabolism**. 2^a edition. Annual Plant Reviews, v. 40. 2010. 445 p.
- YANG, D. et al. Photoreceptor effects on plant biomass, resource allocation, and metabolic state. **Proceedings of the National Academy of Sciences on the United States of America**, v. 113, n. 27, p. 7667-7672, 2016.
- YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical journal**, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.
- ZHANG, Q.; LIU, M.; RUAN, J. Metabolomics analysis reveals the metabolic and functional roles of flavonoids in light-sensitive tea leaves. **BMC Plant Biology**, v. 17, n. 64, p. 1-10, 2017.
- ZORATTI, L. et al. Modification of sunlight radiation through colored photo-selective nets affects anthocyanin profile in *Vaccinium* spp. Berries. **Plos One**, v. 10, n. 8, e0135035, 2015.
- ZWICKE, M. et al. What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? **Annals of Botany**, v. 116, p. 1001-1015, 2015.

APÊNDICE A – Gráficos de temperatura e umidade relativa durante o período experimental

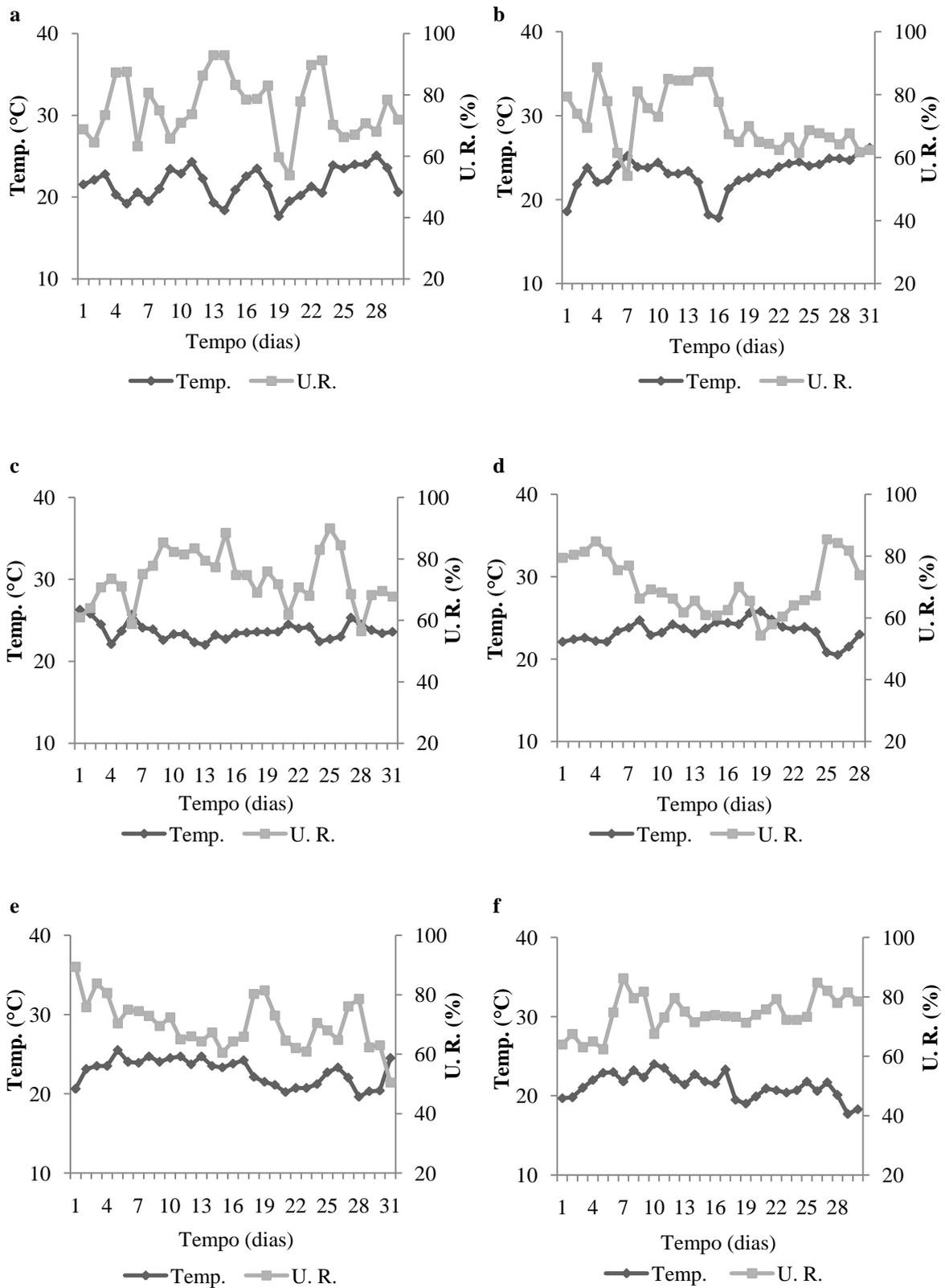


Figura 2 – Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) no ambiente de pleno sol durante a condução do experimento. a: 11/2016; b: 12/2016; c: 01/2017; d: 02/2017; e: 03/2017; f: 04/2017.

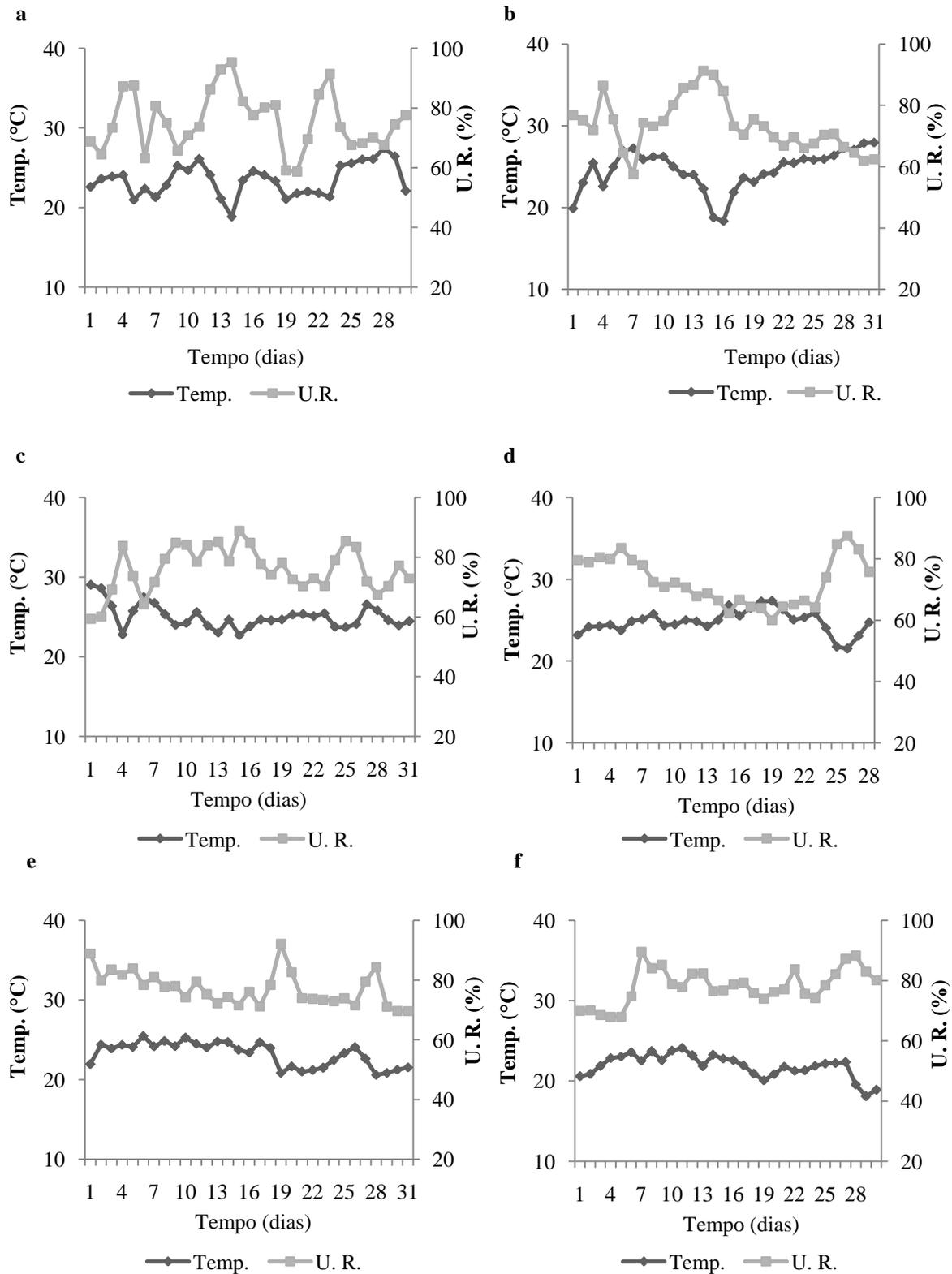


Figura 3 – Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) no ambiente com malha azul durante a condução do experimento. a: 11/2016; b: 12/2016; c: 01/2017; d: 02/2017; e: 03/2017; f: 04/2017.

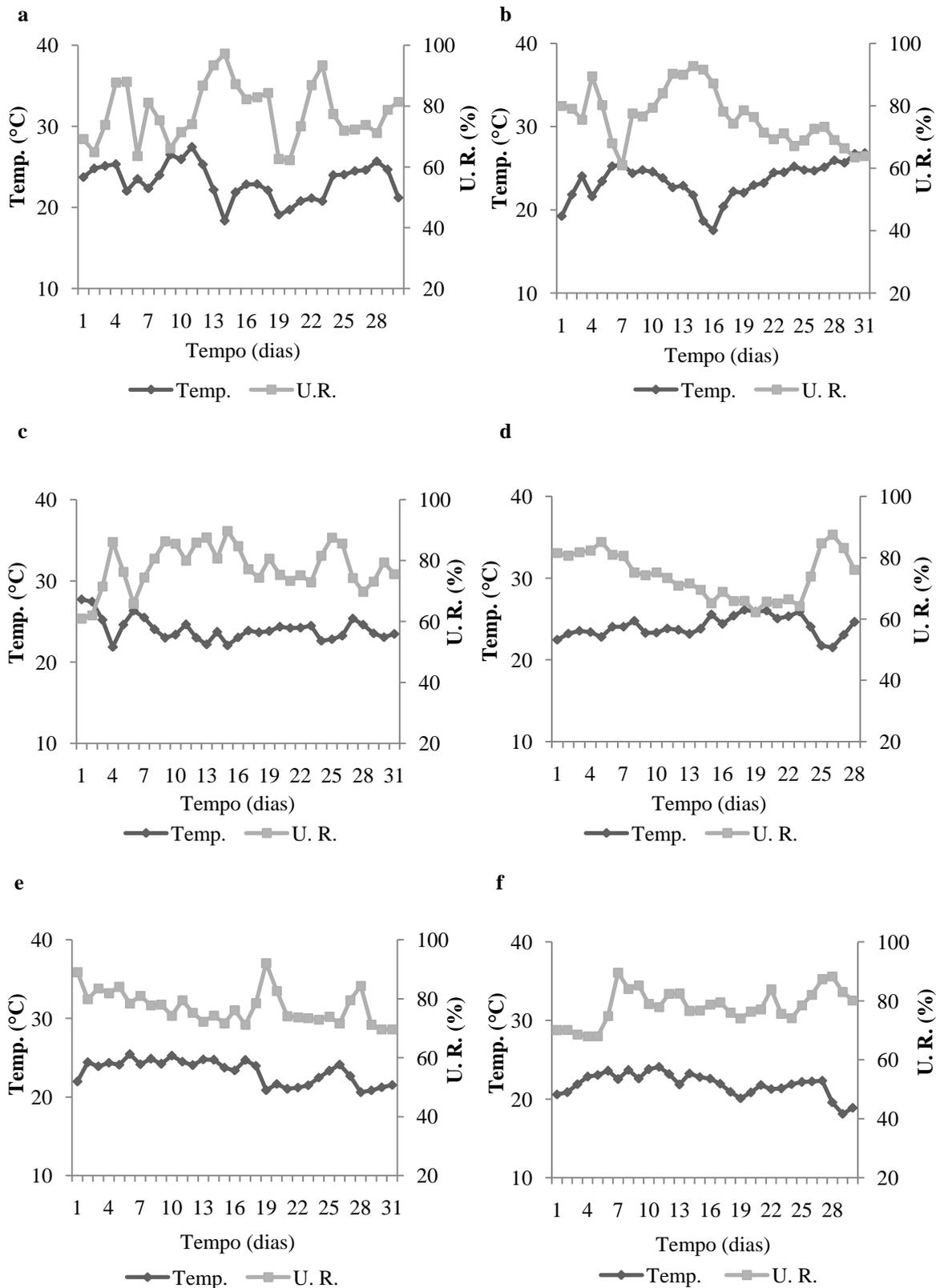


Figura 4 – Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) no ambiente com malha preta durante a condução do experimento. a: 11/2016; b: 12/2016; c: 01/2017; d: 02/2017; e: 03/2017; f: 04/2017.

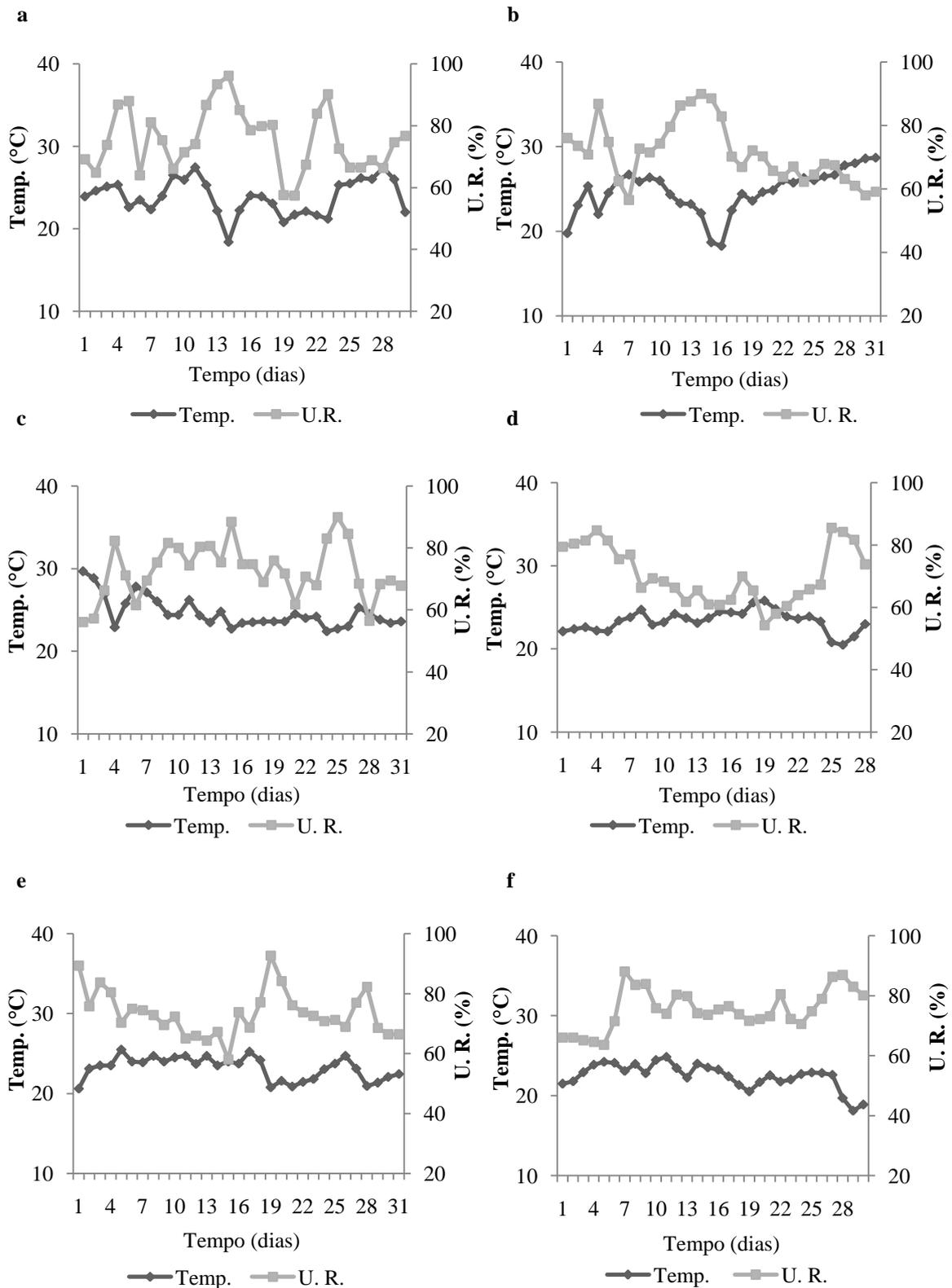


Figura 5 – Médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) no ambiente com malha vermelha durante a condução do experimento. a: 11/2016; b: 12/2016; c: 01/2017; d: 02/2017; e: 03/2017; f: 04/2017.

APÊNDICE B – Tabela com os valores médios e irradiância solar espectral durante o período experimental

Tabela 1 – Valores médios da irradiância solar espectral (banda integrada, $W m^{-2}$) entre 200-850 nm, referentes ao meses de dezembro de 2016-abril de 2017. Trat: tratamento; IV: infra-vermelho; VIS: visível; UV: ultra-violeta.

		9h				13h				17h					
	Trat	Total	IV	VIS	UV	Trat	Total	IV	VIS	UV	Trat	Total	IV	VIS	UV
dez/16	S	431,681	304,923	125,725	1,033	S	458,893	332,067	125,725	1,100	S	434,859	310,612	123,214	1,032
	P	304,402	183,442	120,353	0,607	P	328,242	206,083	121,467	0,692	P	131,659	90,535	40,797	0,327
	A	314,763	197,921	116,281	0,561	A	326,945	207,860	118,510	0,575	A	143,374	107,911	35,181	0,281
	V	334,619	210,609	123,412	0,597	V	354,293	229,155	124,488	0,650	V	269,486	184,636	84,503	0,347
jan/17	S	481,663	354,876	125,671	1,116	S	442,488	315,698	125,725	1,064	S	448,283	319,660	127,570	1,054
	P	353,235	227,935	124,523	0,777	P	358,243	233,304	124,143	0,796	P	159,262	89,557	69,404	0,301
	A	368,284	243,453	124,141	0,690	A	378,364	254,455	123,177	0,733	A	145,997	93,083	52,666	0,248
	V	387,934	261,501	125,671	0,762	V	392,289	266,092	125,395	0,802	V	280,622	180,887	99,399	0,336
fev/17	S	447,597	320,798	125,725	1,074	S	457,012	330,214	125,697	1,101	S	394,005	271,047	122,012	0,946
	P	369,189	243,076	125,309	0,804	P	390,886	264,312	125,687	0,888	P	163,070	89,396	73,382	0,292
	A	377,805	252,239	124,865	0,700	A	399,190	272,715	125,676	0,799	A	171,673	106,894	64,531	0,248
	V	394,594	268,074	125,725	0,795	V	399,432	272,922	125,672	0,838	V	215,689	131,213	84,166	0,310
mar/17	S	443,142	316,331	125,725	1,086	S	470,641	343,811	125,725	1,105	S	421,983	295,448	125,536	0,998
	P	335,199	209,290	125,170	0,739	P	361,894	235,953	125,128	0,814	P	192,174	103,302	88,591	0,281
	A	354,499	229,243	124,579	0,677	A	392,296	266,582	124,935	0,779	A	174,725	101,169	73,335	0,221
	V	361,570	235,129	125,725	0,716	V	397,715	271,146	125,725	0,844	V	260,211	160,596	99,285	0,330
abr/17	S	423,322	296,708	125,599	1,014	S	456,157	329,355	125,725	1,077	S	415,840	291,963	122,845	1,032
	P	330,249	207,757	121,830	0,663	P	323,933	200,431	122,837	0,665	P	140,257	88,444	51,504	0,308
	A	341,291	220,173	120,518	0,600	A	337,168	215,493	121,085	0,590	A	125,238	87,366	37,618	0,254

V	372,440	247,387	124,350	0,703	V	373,263	247,296	125,274	0,694	V	210,301	138,019	71,973	0,308
---	---------	---------	---------	-------	---	---------	---------	---------	-------	---	---------	---------	--------	-------

Fonte: Do autor, 2018.